الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Jijel

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de La vie

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

MB.03/10

جامعة جيجل

كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire De Fin D'études Pour L'obtention Du Diplôme Des Etudes Supérieures en Biologie

Option : Microbiologie

Intitulé

1/2

Activité antibactérienne de composés phénoliques de trois plantes médicinale « Lavandula stoechas, Helichrysum stoechas *et* Achillea odorata *» récoltées dans les régions de Bejaia et de Jijel respectivement.*

Membres de Jury :

Examinateur : Mme **BOUSDIRA F.**
Encadreur : Mlle **BEKKA F.**

جامعة محمد الصديق بن يحيى
مكتبة الكلية
كلية علوم الطبيعة والحياة

Présenté par :
HADJI Hayet
LEHLILI Faiza
MIMECHE Zahra

Année Universitaire : 2009- 2010

F. Bousdira

Remerciements

Au terme de ce travail,

- *Nous tenons à remercier tout d'abord*

Allah le tout puissant qui nous à donné la capacité nécessaire, la forte volonté et la patience à fin d'accomplir ce travail et qui nous a toujours guidé vers le bon chemin.

- *Puis nous tenons à cœurs à exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice Mlle BEKKA F.*

- *Nous tenons aussi à remercier Mme BOUSDIRA F. d'avoir accepter d'examiner notre travail.*

Dans le souci de n'oublier personne, que ceux qui nous ont aidé de prés où de loin, trouve dans ces lignes l'expression de notre gratitude.

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

A mes très chers parents qui m'ont toujours soutenu et encouragé tout au long de mon parcours d'études ; que dieu leur procure bonheur, santé et longue vie.

A ma très chère sœur Fahima qui est un exemple pour moi sans oublier ma très chère Zolikha.

A mes frères Otman, Abdellah et Fateh.

A toutes mes amies : Sabrina, Hayet, Fatima, Dalila, Mona, Samira et mes collègues surtout Zahra.

A toute la promotion Microbiologie 2009/2010

Hayet

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes chers parents pour tout l'amour qu'ils m'ont donné, que dieu les protège,

A mes frères et à mes sœurs,

A tous mes amies et mes camarades,

A tous les enseignants qui m'ont donné leurs connaissances et qui m'ont aidé dans les moments difficiles que dieu soit avec eux,

Et à tous ceux qui me sont chers.

LALILI Faiza

Dédicaces

Au terme de ce travail je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents pour leurs longues années de soutient, leurs aide et leurs amour,

A mes frères : Noureddine, Fadila, Bariza, Ghania, Mohamed, Hoda, surtout Amira et Fares et toute la famille,

A toutes mes amies : Meriem, Imane, Siham Mounia et ma collègue Hayet.

MIMECHE Zahra

Sommaire

Introduction 01

Partie bibliographique

Substances bioactives –polyphénols- : composition chimique et rôles biologiques

I - Substances bioactives –Les polyphénols- composition chimique 02
I-1- Définition 02
I-2- Classification des phénols et leur structure 02
I-2-1- Formes simples 02
I-2-1-1- Les acides phénoliques 02
- Acides hydroxybenzoïques 02
- Acides hydroxycinnamiques 03
I-2-1-2- Les flavonoïdes 03
I-2-2- Formes condensées 04
I-2-2-1- Tanins 04
- Tanins hydrolysables 04
- Tanins condensés 05
I-2-2-2- Lignines 05
I-2-2-3- Formes liées à des macrolécules non phénoliques 05

II- Substances bioactives- les polyphénols- rôles et propriétés des polyphénols 06
II-1- Rôles des polyphénols 06
I- 1- 1- Rôle physiologique 06
I -1-2- Rôle de défense 06
I -1-3- Rôle biologique 06
I-1-4- Rôle pharmaceutique 07
II- 1-Propriété des polyphénols 07
II-1-1- Propriétés réductrices 07
II-1-2- Propriétés complexantes 08

Les plantes médicinales étudiées

I-Caractéristiques du genre *Lavandula, Helichrysum, Achillée* ... 09

I-1- Genre *Lavandula* ... 09

Lavandula stoechas ... 09

I-2- Genre *Helichrysum* ... 10

Helichrysum stoechas ... 11

I-3- Genre *Achillée* ... 12

Achillea odorata ... 13

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I-Matériel végétal ... 15

I-1-Identification des plantes ... 15

I-2-Echantillonnage ... 15

I-3-Séchage ... 15

I-4- Broyage et tamisage ... 16

II-Extraction des polyphénols ... 16

III -Dosage de composés polyphénoliques ... 18.

V-Activité antibactérienne ... 19

V-1- Les souches bactériennes ... 19

V-2-Préparation la suspension bactérienne initiale ... 20.

V-3-Contrôle de la stérilité des polyphénols ... 20

V-4- Méthode de diffusion sur milieu solide ... 21

V-4-1-Détermination de l'effet du DMSO sur les six souches teste ... 21

V-4-2-Evaluation de l'activité antibactérienne de différentes concentrations de composés phénoliques ... 21

Résultats et discussion

I-Rendement des composés phénoliques après l'extraction ... 22

II- Dosage des composés phénoliques ... 23

II-l-La courbe d'étalonnage de l'acide gallique ... 23

II-2-Teneur en composés phénoliques ... 23

III-Activité antibactérienne ... 24

III-1-Evaluation de l'activité antibactérienne de composés phénoliques par la Méthode de puits 24

III-1-1-Effet du DMSO (Diméthylsulfoxyde) sur les souches testes 25

III-1-2-Effet de composés phénoliques de *Lavandula stoechas* sur les souches testes 26

III-1-3-Effet de composés phénoliques d' *Helichrysum stoechas* sur les souches testes 27

III-1-4-Effet de composés phénoliques d'*Achillea odorata* sur les souches testes ..29

III-1-5-Comparaison de l'activité antibactérienne de composés de trois plantes étudiées 30

Conclusion 32

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure 01 : Les structures chimiques des polyphénols .....**Annexe A**
Figure 02 : Les structures de l'acide hydroxbenzoique.....03
Figure 03 : Structure de l'acide hydroxycinamique.....03
Figure 04 : Squelette de base de flavonoides.....04
Figure 05 : Les structures chimiques de flavonoides .....**Annexe A**
Figure 06 : Monomères constitutifs de lignines. .....**Annexe A**
Figure 07 : Protocole d'extraction de composés phénoliques.....16
Figure 08 : Conservations de composés phénoliques récupérés … 17
Figure 09 : Protocole de dosage de composés phénoliques 18
Figure 10 : Teneurs en composés phénoliques de trois plantes étudiées 23
Figure 11 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique 24
Figure12: Photo montrant l'effet de DMSO sur les six souches bactériennes 27
Figure13: Photo montrant l'effet d'extrait de *Lavandula stoechas* sur les deux souches 27
Figure 14: Photo montrant l'effet de différentes concentrations de l'extrait de *Lavandula* sur *Bacillus subtilis* ..... *28.*
Figure15: Activité antibactérienne de composés phénoliques de *Lavandula stoechas* sur les souches testes.....28
Figure16: Photo montrant l'effet de l'extrait d' *Helichrysumstoechas* sur *Bacillus subtilis* (B) *et S.aureus* (Str') .....29.
Figure17: Photo montrant l'effet des dilutions d'extrait de d'*Helichrysum stoechas* sur *Bacillus subtilis* et *S. aureus* sensible.....29.
Figure18 : Histogramme de l'activité antibactérienne des composés phénolique d' *Helichrysum Stoechas* sur six souches étudiées.....29
Figure 19 : Photo montrant l'effet d'extrait d'*Achillea odorata* sur les deux souches...30
Figure 20 : Activité antibactérienne des composés phénoliques d' *Achillea odorata* sur les souches testes 30
Figure 21: Photo montrant l'effet de différentes concentrations de l'extrait d' *Achillea odorata* sur *Bacillus subtilis* 30
Figure 22: Photo montrant l'effet des extraits des trois plantes sur *Pseudomonas aeruginosa* (P), *Klebsiella pneumoniae* (K) *et Escherichia coli* 31
Figure 23 : Histogramme comparatif de l'activité antibactérienne de composés phénoliques de trois plantes sur les souches testes .....31.

Liste des tableaux

Tableau I : Contenu en flavonoides dans quelques aliments végétaux (poids à l'etat en mg/Kg).....**Annexe**

Tableau II : Sources alimentaires de flavonoides .....**Annexe B**

Tableau III : Quelques exemples d'intervention de composés phénoliques dans les relations entre les plantes et son environnement ..... **Annexe B**

Tableau IV: Activité biologiques des composés phénolique ..... **Annexe B**

Tableau V: Caractéristiques et origines de souches testes 19

Tableau VI: Caractéristiques et origines de souches testes.....19

Tableau VII : Teneur en composés phénoliques de trois plantes étudiées 24

Tableau VIII: Résultat de la coloration de Gram de souches testes 24

Tableau XI: Résultats de l'activité antibactérienne de molécules de composés phénoliques diffusibles sur milieu solide de trois plantes médicinales étudiées 31

Tableau X :Résultat des zones d'initions des extraits des trois plantes sur les six souches Etudiées.....**Annexe B**

Liste des abréviations

ADN:	Acide DesoxyriboNucliare
A.odorata	*Achillea odorata*
$AlCl_3$:	Tris Clorure de Aluminum
BLSE :	Souche productrice de ß-Lactamase à Spectre Elargie
DMSO:	Dimméthyl Sulfoxlde
GAE	Equivalante d'Acide Gallique
H.stoechas :	*Helichrysum stoechas*
L.stoechas :	*Lavandula stoechas*
Na_2CO_3 :	Carbonate de Sodium
nm :	Nanomètre
PS	Poudre seche
RE	Equivalante Resorcinol
SM :	Solution Mère
UV :	UltraViolets
γ_{max} :	La longueur d'onde maximum

Introduction

جامعة محمد الصديق بن يحيى
مكتبة الكلية
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Introduction

On appelle plante médicinale toute plante refermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Certaines plantes contenant toute une gamme de matières efficaces peuvent avoir des actions très différentes suivant leur préparation **(Paul et *al.*, 2005).**

L'utilisation des plantes médicinales est certainement aussi ancienne que l'humanité **(Florence, 2007).** Leur utilisation étaient en effet indispensable pour simple raison que le corps humain impérativement besoins de vitamine mais que, contrairement aux plantes il ne peut pas synthétiser lui-même ces substances et doit donc les intégrer dans sa nourriture. S'il en manque il connaitra tout d'abord des symptômes de carences pouvant entrainer par la suite de graves problèmes de santé, cependant, les plantes ne représentaient pas uniquement une source importante de vitamine. En effet, nos ancêtres savent déjà également apaiser leur faim avec les graines nutritives de certaines espèces ou encore étancher leur soif avec les fruits juteux **(Hans, 2007).** Ainsi peuvent être intégré dans l'industrie pharmaceutique. L'origine de nos médicaments actuels se confond avec l'origine de la connaissance des « plantes médicaments » c'est-à-dire avec l'origine de la phytothérapie. Cette thérapie par les plantes est basée, encore actuellement sur la connaissance empirique an centrale **(Loic ,2006)**

Parmi tous les constituants chimiques des plantes médicinales, les composés phénoliques, qui occupent une place quantitative modeste. Ils se retrouvent dans de nombreux secteurs, en particulier dans les industries agroalimentaires. En effet de nombreux composés phénoliques sont extraits industriellement à partir des plantes médicinales pour être utiliser comme compliment alimentaires **(Jean et *al.*, 2005).**

Plusieurs pays, dont l'Inde, Palestine, l'Afrique, Honduras, la Jordanie, Cuba et l'Italie, ont soutenu des programmes de recherche pour confirmer l'activité antimicrobienne des extraits de plantes expliquée par la médecine traditionnelle (Sartoratto *et al.,* 2004) et l'évaluation de leurs propriétés *in vivo* sont en cours d'exploitation (Ouraïni *et al.,* 2005), mais peu de travaux ont été effectués sur les plantes médicinales de la région d'Algérie.

Ce travail vis à étudier l'activité antibactérienne de composés phénoliques de trois plantes médicinales, à savoir : ***Lavandula stoechas***, ***Helichrysum stoechas*** et ***Achillea odorata,*** récoltées dans la région de Béjaia et de Jijel respectivement. Cette activité sera testées sur six souches bactériennes, trois Gram négatif (*Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*) et trois Gram positif (*Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline et *Bacillus subtilis*).

I - Substances bioactives –les polyphénols- composition chimique

I-1- Définition

Tous les végétaux contiennent des composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes et proanthocyandines) mais comme c'est le cas pour la plupart des substances qualitatives et quantitatives est inégal selon les espèces, les organes, les tissus et les stades physiologiques **(Pascal et *al.*, 2006).** Les polyphénoles possèdent plusieurs groupes phénoliques avec ou non d'autres fonctions (OH, alcoolique, carboxyle,...). Dans cette catégorie, on trouve de nombreuses substances : les noyaux simples en C6-C1 et C6-C3 et les noyaux dérivant de l'extension du phényle propane en C6-C3-C6 **(figure I, Annexe A) (Dubois et *al*., 1997).**

I-2 Classification des phénols et leur structure

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées), en suite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, de méthylation,..), enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autre métabolites secondaires pouvant être ou non de composés phénoliques **(Pascal et *al.*, 2006).**

I-2-1- formes simples

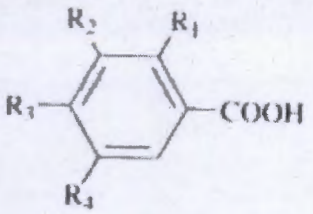
Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple phénol C6 (non présent naturellement chez les végétaux) aux flavonoïdes en C15 et à des molécules proches. Sauf exceptions, ces substances sont présentes sous forme soluble dans la vacuole.

I-2-1-1- Les acides phénoliques

Un acide-phénol (ou acide phénolique) composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. La pratique courante en phytochimie consiste à réserver ce terme aux dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique **(Pascal et *al.*, 2006).** Les acides phénoliques sont contenus dans un certains nombre de plantes agricoles et médicinales **(Psotova et *al.*, 2003)**

- Acides hydroxybenzoïque

Ils sont dérivés de la benzoïque et ont une formule de base de type C6-C1 (figure 2). Ils existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides et peuvent également être intégrés dans des structures complexes comme certains tannins **(Macheix et *al.*, 2006).**



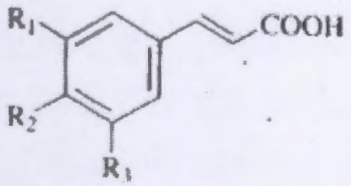
R1=R2=R3=R4=H : acide bènzoique
R1=R2=R4=H,R3=OH : acide *p*-hydroxybèzoique
R1=R4=H,,R2=OCH3,R3=OH : acide vanillique
R1=H,R2=R3=R4=OH : acide gallique

Figure 02 : La structure de l'acide hydroxybenzoique **(Claudine et *al.*, 2004).**

- Acides hydroxycinnamique

Ils représentent une classe très importante dont la structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de la série hydroxycinnamique sont l'acide - p- sumarique **(Figure 01)**, l'ensemble est souvent rapporté sous le mot commun de «phénylpropanoides », ces acides sont rarement présents à l'état libre et existent généralement sous forme d'ester (avec le glucose, l'acide quinique, l'acide tartrique..) ou glycosides **(Pascal et *al.*, 2006).**

Parmi les acides hydroxycinnamique, l'acide caféique qui a une répartition quasi universelle chez les végétaux ou il est souvent présent sous forme d'acide photogénique **(figure 03),** par exemple dans le pomme ou le café, et de ses isomères. On le retrouve également sous forme d'acide caféoyltartrique (acide caftarique) dans le voisin, d'acide caféoylsimique dans la vasin, d'acide caféoylshilsimique dans la datte.



R1=R2=R3=H : acide cinnamique
R1=R3=H,R2=OH : acide *p*-coumarique
R1=R2=OH,R3=H : acide cafeique

Figure 03 : Structure de l'acide hydroxycinnamique **(Pascal et *al.*, 2006)**

I-2-1-2- Les flavonoïdes

Les flavonoides ont un squelette de 15 carbones C_{15} (C_6-C_3-C_6) **(Augustin et *al.*, 2003)** constitué de deux anneaux benzéniques reliés par un anneau pyrane oxygéné **(Erlund, 2002).**

Les flavonoides sont distribués parmi plusieurs classes selon l'état d'oxydation de leur hétérocycle **(Augustin et *al.*, 2003)**. Il y a 6 classes de flavonoides, qui différent par leur structure chimique : flavonols, flavones, isoflavones, proanthocyanidins et anthocyanines **(figure 05, Annexe A) (Medic-Sarie et *al.*, 2004).**

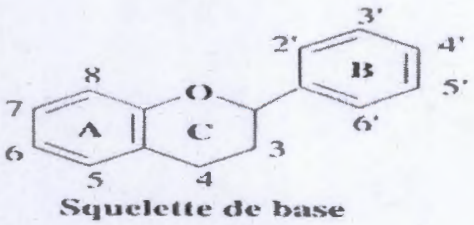


Figure 04 : Squelette de base de flavonoides **(Erlund, 2002).**

Le rôle des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont présents dans de très nombreuses espèces végétales, constituant de ce fait un écran protecteur contre les photos et thermodégradation. Beaucoup d'entre eux ont une bonne activité antioxydante, due principalement à de configuration catéchol du noyau B. ils sont aussi capables de protéger efficacement les lipoprotéines ou les leptosomes et inhiber quelques enzymes comme la lipoxygénase **(tableau I, II , Annexe B) (Pascal et *al.*, 2006).**

I-2-2- Formes condensées

I-2-2-1- Tanins

Les tannins sont des formes phénoliques condensées capable de se lier aux protéines en solution et de les précipiter .Il est classique de distinguer deux grandes groupes de tannins différent à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition : les tannins hydrolysables et les tannins condensés **(Macheix et *al* ., 2006)**

- Tanins hydrolysables

Ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse clinique (alcaline on acide) ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique soit un dimère de ce même acide, l'acide éllargique et une partie non phénolique. Les tanins hydrolysables sont abondants dans le bois de nombreux arbres et arbustes qui peuvent en être une source industrielle, tanins de chêne de châtaignier, tanin de chine ou de Turquie extraits respectivement d'un arbuste du genre *Rhus* ou de *Quercus tinctsria.*

- Tanins condensés

Les tanins condensés sont des oligomères ou des polymères de flavanes 3 ols et constituent la classe des tanins catéchique. Contrairement aux tanins hydrolysables, les formes dimères présentent déjà des propriétés tannants (capables de provoquer la précipitation des protecteurs) mais ce sont les molécules ayant une masse moléculaire plus importante qui sont plus actives.

Le rôle de tanins

Le terme de tanins de signe théoriquement les composés utilisés depuis l'antiquité par l'homme pour le traitement des peaux d'animaux.

Les tannins ont une importance économique et écologique considérable et sont responsable de l'astringence de nombreux fruit et légumes et des produit qui ont sont dérivés **(Jean et *al.*, 2005).**

I-2-2-2- Lignines

Les lignines, en se déposant au niveau des parois cellulaire secondaires, leur confèrent une haute résistance à la traction et la pression, grâce a leur propre élasticité, les lignines sont des mélanges de polymères amorphes de trois constituants fondamentaux, les alcools hydroxycinnamylique, coniférylique et sinapylique.

Les lignines ne sont pas des composés chimiques au sens classique du terme, car elles ne pressentent ni une structures ni une masse moléculaire relative déterminées **(Richter ,1993).**

Le rôle des lignines

Les lignine sont des substances qui se déposent à la fin de la formation des paroi primaires et secondaire, imprégnant principalement les micelles de cellulose de la lamelle moyenne et de la paroi primaire, cliniquement ce sont des polymères provenant de la co-

polymérisation d'alcools possédant une structure p-hydroxy-cinnamique **(figure 06, Annexe A).**

I-2-2-3- Formes liées à des macrolécules non phénoliques

Certain aides hydroxycinnamique peuvent être liés à des macromolécules non phénoliques. Dans ce cas, le caractère chimique relève principalement de la macromolécule concernée mais ces propriétés biologique peuvent être modifiées par la présence d'une petite proportion phénoliques ainsi que les acides p- romaïques et férulique peuvent être retrouvés :

-Lies à certains composants glucidiques de la paroi pectocellulasique comme les hémicelluloses ou les composés pectiques.

- lies à la cutine, revêtement superficiel des feuilles et des fruits à caractère particuliérement hydrophobe.

- liées à la subérine **(Richter ,1993).**

II- Substances bioactives- les polyphénols- rôles des poly phénols

II-1- Rôle physiologique

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement **(tableau III, Annexe B),** soit en jouant le rôle de signaux de reconnaissance vis-à-vis de certains micro-organismes, soit en lui permettant de résister à diverses agressions. Les composés phénoliques jouant un rôle régulateur dans le passage de stade végétative au stade floral, et ont souvent été impliqués dans la régulation de la germination des graines **(Jean et *al.*, 2005).**

II-1-1- Rôles de défense

La plupart des composés phénoliques absorbent des spectres solaires et riche en *UV-b* (250-315 nm), en étant présent dans les cellules les plus externes des feuilles, ils réduisent la pénétration des UV. Les flavonoïdes jouent un rôle de filtres d'UV et protègent les structures végétales sensibles : (ADN, pigments photosynthétique et les protéines des photosystèmes chloroplastique, lipides membranaire **(Jean et *al.*, 2005).**

On suppose que les plantes en les produisant, cherchent ç se prémunir contre les infections et les insectes phytophages **(Iserin, 2001).**

II-1-2- Rôle biologique

La prise diététique totale de polyphénols est approximativement 1g/jour, il est beaucoup plus haut que d'autre antioxydant, approximativement 10 fois plus haut que ceux des vitamine C et 100 fois plus haut que ceux de vitamine E et caroténoïdes **(Augustin et *al.*, 2003).**

Les polyphénols sont des composants communs de nourritures d'origines de la plante et antioxydants majeur dans notre alimentation, ils protègent des composants cellulaires contre les dommages oxydatifs et peut limites le risque de maladies dégénératives tel que maladies cardio-vasculaire au concert que alors que comparé à autre antioxydant. Aujourd'hui, beaucoup d'incidences ont basé sur les expériences de l'animal, les études chimiques, épidémiologique et mécanisme cardiovasculaire montrent travers une inhibition de thrombose et inhibition de la sténose de l'oxydative et protection de LDL. Par consequent, une consommation excessive de polyphénols n'est pas recommandée pour les personnes à risque d'anémie (**Augustin et *al.*, 2003 ; Nihal , 2006).**

II-1-3- Rôle pharmaceutique

Les composés phénoliques d'origine végétale peuvent être jouer un rôle dans la santé humain et utilisés comme des médicaments pour lutter contre certaines affections dans la médecine traditionnelle, et des anticancéreuses dans la pharmacologie moderne ; il existe une très grande variété de phénols, des composés simples comme l'acide salicylique, molécule donnant par synthèse l'aspirine, les phénols aussi sont des anti- inflammatoires et antiseptiques **(Jean et *al.*, 2005 ; Iserin ,2001).**

Les composés phénoliques jouissent des propriétés bactériostatiques au bactéricide marques grâce à leur fonction phénol par une inhibition des systèmes enzymatiques ou par un découplage des réactions énergétiques. Cela se traduit par une dénaturation à membrane cytoplasmique entrainant une fuite des conditions cellulaires.

Désinfectant autre fois extrêmement répandu et populaire. Le phénol est maintenant remplacé par des antiseptiques moins caustiques.

Les phénols sont irritants pour la peau et les muqueuses respiratoires et oculaires. Ils ont un effet allergisant et photosensiblisant. Bactéricides et fongicides, ils sont peu actifs sur les formes sporulées. Leur activités virucides sont discutés.

L'action favorisé en présence de sels de sodium ou de potassium, est inhibée en présence de saude et considérablement atténuée par les matières organiques **(Meyer et *al*., 2000)** (tableau IV).

II-2- Propriétés des poly phénols

Les polyphénols ont en commun les deux propriétés fondamentales suivante :

II-2-1-propriététés réductrices

Elles sont à la base de la capacité des poly phénols à piéger les espèces oxygénées réactives (activité antioxydant) et de leur capacité à s'oxyder. L'oxydation enzymatique des poly phénols est un phénomène important susceptible d'affecter la composition poly phénolique des aliments transformés et, par là même,leurs propriétés organoleptiques. L'autoxydation des polyphénols , génératrice d'espèce oxygénées réactives ,est une source potentielle de toxicité (effet pro oxydant)

II-2-2- Propriétés complexantes

La complexantion métallique des polyphénols est susceptible de limiter l'absorption intestinale des ions métalliques d'importance biologique, en particulier ceux du fer (effet antinutritionnel).c' est en revanche un mécanisme possible d'action antioxydant. la grande capacité des polyphénols à développer des interactions non covalentes (interaction de *Van Der Waals* et liaisons hydrogènes) leur confère une affinité minérale pour la plupart des protéines testées in vitro **(Bibet et *al.*, 2008).**

Les plantes médicinales étudiées

I-Genre *Lavandula*

Le genre *Lavandula* se comprent d'environ 28 espèces, qui sont dans la plupart d'origine méditerrané(**Magnaga, 2004)** .*Lavandula* est un sous abris, seau à tige et feuilles persistante,qui peut atteidre 1mètre de la longueur ,étroit vert pale, peuvent s'étendre du gris bleuâtre profond au vert à brun pale, fleurs de couleur violet , d'autre variétés sont à fleurs blanche et rose **(Allaby, 1992 ; Chu et *al.*, 2001).**

Lavandula stoechas

La nomenclature de cette espèce :

- **Nom commun :** ***Lavandula stoechas***
- **Nom vernaculaire :** halhap, halhap el_djebal, maharga, astakhouds, amezzir, imcir **(Dellile, 2007).**

Présentation et description

Sous arbrisseau commun dans tout le tell Algérien, se présentant en souches ou touffes ligneuses. L'inflorescence en forme d'épis, brièvement pédonculée et surmontée de grandes bractées stériles membraneuses décoloration bleus vedette.

Les fleurs placées à l'aisselle de bractées larges rhomboïdales de coloration vedette propre. La correlle est pourpre noirâtre **(Dellile, 2007).**

Classification systématique

Règne : Plantes
Sous règne : Plantes Vasculaires
Embranchement : Spermaphytes
Embranchement : Angiospermes
Classe : Dicotyledones
Sous classes : Dialypétales
Ordre : Lamiales (labiales)

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Lavandula*

Espèce : *Lavandula sotechas* **(Quezel et *al.*, 1963).**

Les principales constituants de *Lavandula* est l'acétate de Linalyle avec une proportion de 30% des huiles volatiles, saponine, l'hétéroside, riche en acide et les tanins, flavonoïdes, du phytosterol et des comarines **(Mouhamed, 1993 ; Dellile, 2007; Florence, 2007).**

Utilisation de *Lavandula stoechas*

La lavande (Lavandula L) très riche en camphre, actuellement inusitée, sera toute réservée à l'usage externe, comme stimulante et vulnéraire **(Pierre ,1996).**

♦Usage interne

Infusion de fleurs

Antispasmodique, antiseptique, bactéricide diurétique, sudorifique, maladies infectieuses des voies respiratoires, de rhumatisme, de migraines, de vertiges, de pertes blanches.

♦Usage externe

- **En fumigation** , comme désinfectant des voies respiratoires.
- **En lotion,** et compresse, cicatrisant, antiseptique pour les contusions bruleuses, piqures d'insectes, gale, pelade, coupures.
- **En bain**, fortifiant pour les enfants.
- **En teinture**, contre les insomnies ½ cuillère à café de teinture dans l'eau.
- **Huile essentielle pure** appliquer sur les piqures d'insectes, en massage sur les temps en cas de migraine **(Dellile, 2007).**

II- Genre *Helichrysum*

Les membres du genre *Helichrysum* (*Asteraceae*) sont généralement aromatiques, arbustes, vivaces, à denses avec des êtres des fleurs rustiques qui sont distribués dans le bassin méditerranéen **(Sobhy et *al.*, 2007).**

petites, atteignant rarement 2 cm. 1 /2 de longueur, pennatisétiséquées, à segments entiers ou incisés, ceux –ci ou nombre de 8-12 de longueur, de chaque cotes, presque égaux, rapprochés, linéaires, à lobes muronulés ; involucre ovoïde, poilu, ou un folioles offrant une marge brunâtre ; capitules petite, en corymbe subglobuleux, compact ; fleurs d'un blanc sale ou un peu jaunâtre, à ligules courtes.

♦Nom commun

FR : Achillée odorante

GB : Cream flowered sneezeewort

♦Classification systématique

Règne : *plante.*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Asterales*

Famille : *Asteraceae*

Genre : *Achillea*

Espèce : *Achillea odorata L.*

Les constituants chimiques et ses utilisations

L'Achillée renferme plus d'une centaine de produit chimique connus. les plus intéressants sont les lactones qui sont présent dans une huile volatile . On a long temps pensé que l'azulène , un dérivé métabolique des lactones, était le principal constituant auquel on devait les propriétés anti- inflammatoire et anti-prurigineuses ses de l'Achillée, mais sa valeur médicinale pourrait être due ou chamazuléne, aux lactones sesquiterpénique ou à d'autres constituants comme les tanins le menthol, le camphre, les stérols et les triterpenes.

L'activité antispasmodique de l'Achillée pourrait être attribuée à ses flavonoides, l'Achilléine, un alcaloïde qui est un agent hémostatique actif, ce qui pourrait expliquer pourquoi cette plante était utilisée autrefois pour endiguer l'écoulement de sang des plaies et des blessures .Certains auteurs ont avancée l'hypothèse que les drivés de l'acide salicylique

.l'eugénol et le menthol, ou des composés semblables peuvent produire une analgésie locale et réduire la fièvre. la présence de thujone, une substance abortive connue est probablement la raison pour laquelle l'Achillée était employée pour soigner certains problèmes gynécologiques (il faut toutefois notre que le thujone n'est présent qu' en petit quantité) il y aurait certaine différences dans la concentration de ces produit chimique selon l'espèce et la région géographique. mais celle –ci ont été male documentées et il y aurait lieu de réaliser des études plus poussées sur cette question .le chamazulene ,un constituant important de la plante, ne serait présent que dans les plants tétraploïdes. Certaine présent que dans du point du vue médicinale **(Ernest, 2000)**

Partie expérimentale

Matériels et Méthodes

Materiels

Milieux de culture :

On a utilisé de nombreux milieux

- Gelose nuritif
- Gelose Muller-Hinton
- Eau physiologique
- Bouillon nuritif

Autres matériels

- Boites de petri
- Pipettes posteur
- Anse steril
- Tubes essai steriles
- Bec Benzen
- Pipettes graduées
- Lames

Appareils utilisés

- L'etuve
- Bain marie
- Agitateur
- Micròscope optique
- Refrigerateur
- Balance
- rotavapore

I- Matériel végétal

Notre étude a porté sur trois plantes médicinales de la région de Bejaia et de Jijel, qui sont : l'espèce *Lavandula stoechas, Helichrysum stoechas* et l'espèce *Achillea odorata respectivement.*

I-1- Identification des plantes

L'identification des plantes a été faite en se référant à la Flore d'Algérie **(Quezel et Santa, 1963)** au Laboratoire de Physiologie Végétale et d'Ecologie à l'Université de Bejaia et de Jijel.

I-2- Echantillonnage

Les parties aériennes de trois plantes médicinales sont cueillies en mois Décembre pour *Helichrysum stoechas*, en mois de Mars pour *Lavandula stoechas* et en mois de Mai 2010 pour *Achillea odorta,* l'échantillonnage est effectué dans la région de Barbacha (Wilaya de Béjaia) et de Taksana (Wilaya de Jijel).

La cueillette est effectuée par temps sec et non orageux, après le lever du soleil et la disparition de la rosée (9h00-12h00) à l'aide d'un sécateur.

I-3- Séchage

Après cueillette, les parties aériennes, débarrassées de la poussière et d'éventuelles impuretés ont été utilisées.

Les parties aériennes (feuilles, tiges et fleurs) de trois plantes, sont séchées soit en les étalant de façon homogène, c'es le cas pour *Lavandula stoechas, Achillea odorata*, soit par suspension, *Helichrysum stoechas.*

Le séchage est effectué à la température ambiante et durant toute la période de séchage, les parties aériennes sont retournées régulièrement et ce afin d'avoir un séchage homogène.

I-4- Broyage tamisage

Toutes les plantes ont été découpées et broyées à l'aide d'un broyeur électrique. Le broyat est tamisé avec des tamiseurs de porosité de 100µm, 250µm et de 450µm. Cette étape nous a permis d'obtenir les poids suivant : 16 g pour l'espèce *Lavandula stoechas,* 20g pour *Helichrysum stoechas* et 17 g pour *Achillea odorata.*

II-Extraction de composés phénoliques

Le but de ce travail consiste à l'étude de l'activité antibactérienne de composés phénoliques, pour cela nous avons procèdé à l'extraction de ces dernier comme suit :

Le solvant utilisé est le méthanol. Une quantité de poudre de la plante à étudier est additionnée de dix volumes de solvant de son poids (pour 1g de poudre nous ajoutons 10 ml de solvant) **(Boulkours, 2004)**. L'extraction se fait par la maceration**(Boulkour, 2004).**

Les étapes de l'extracion sont détaillées dans la figure 8

Conservation

Les composés phénoliques reconstitués dans du DMSO, sont conservés à 4°C dans des fioles teintées scellées hermétiquement jusqu'à utilisation (figure 07).

Figure 07 : Conservation de composés phénoliques recupérés

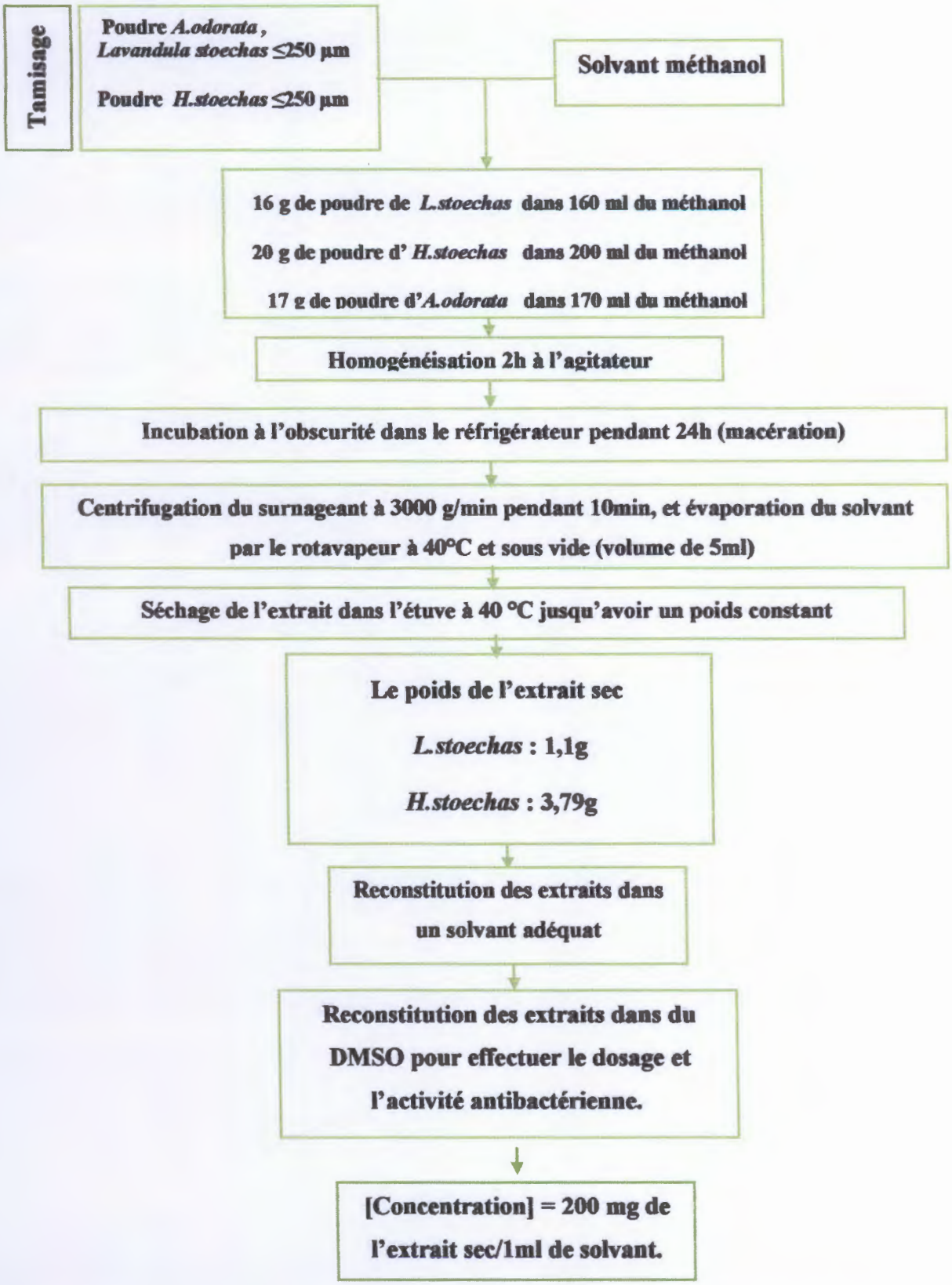


Figure 08 : Protocole d'extraction de composés phénoliques selon la méthode de KSOURI

III- Dosage de composés phénoliques

Une courbe d'étalonnage à été préalablement préparée, dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant l'acide gallique (0.5mg/ml) comme standard. Le protocole de dosage de composés phénolique est détaillé dans la figure 09. Les composés phénoliques ont été déterminés par spectrophotomètre, en s'inspirant de la méthode Folin-Ciocalteu décrite par **Nihal et *al.* (2006).**

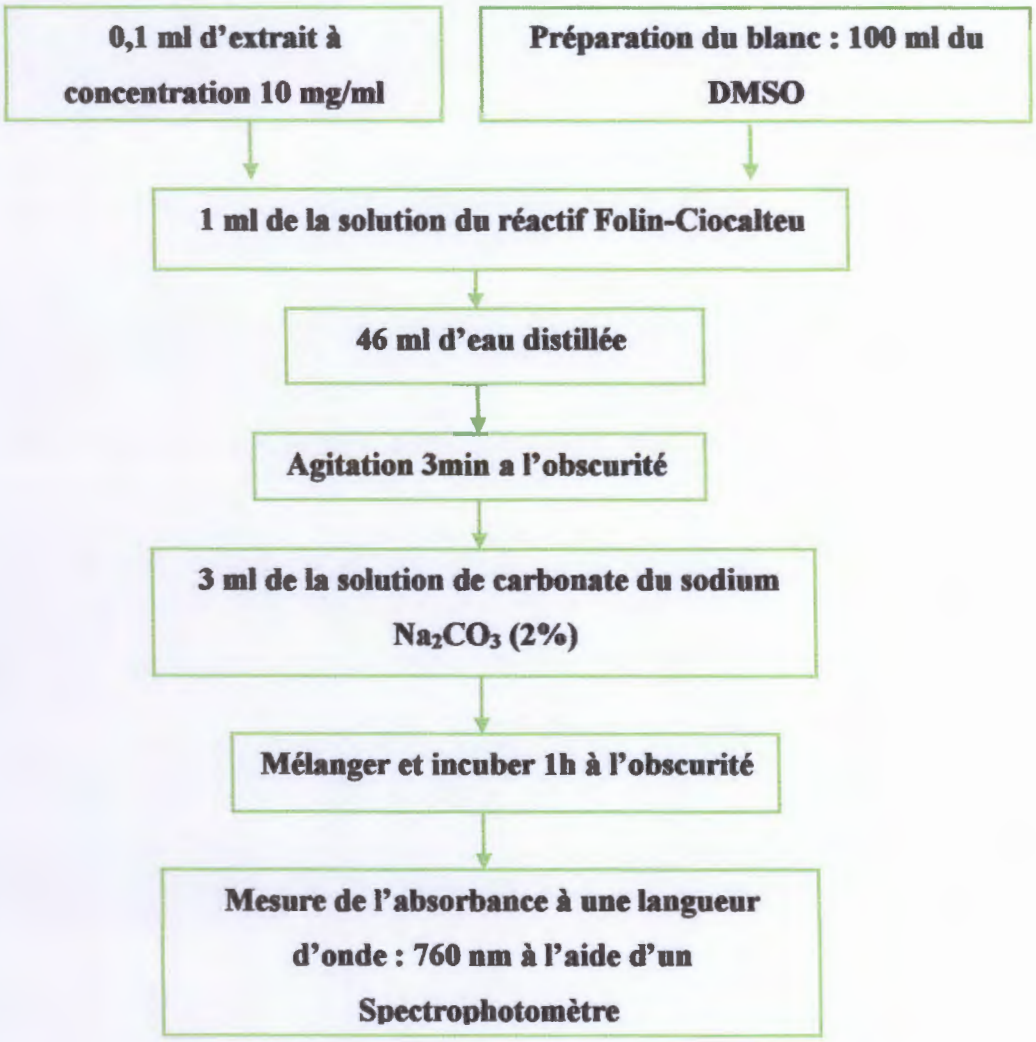


Figure 09 : Protocole de dosage de composés phénoliques

V-Activité antibactériennes

V-1-Les souches bactériennes

Six souches bactériennes : trois Gram positif (*Staphylococcus aureus sensible à la meticilline (Sa), Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (Str'), Bacillus subtilis)* et trois Gram négatif (*Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae,* et *Pseudomonas aeruginosa*) ont été choisies pour leur pathogénicité. La plupart d'entre elles ont été choisies parmi les plus résistantes et qui sont souvent incriminées dans les infections nosocomiales.

Les souches bactériennes appartiennent à la collection du Laboratoire de Biochimie microbienne, Université de Bejaia. Les caractéristiques et l'origine de chaque souche sont reportées sur les tableaux V.

Tableau V : Caractéristiques et origines des souches testes

Souches	Origine	Résistance aux antibiotiques
***Staphylococcus aureus* (Sa)**	Souche de référence (ATCC)	Souche sensible
***Staphylococcus aureus* (Str')**	Souche de référence (ATCC)	Souche résistante à la méticilline
Bacillus subtilis	Souche de référence (ATCC)	Souche sensible
Escherichia coli	Souche de référence (ATCC)	Souche sensible
Klebsiella pneumoniae	Hôpital (urine)	Souche productrice de β-lactamase à spectre élargie (BLSE)
Pseudomonas aeruginosa	Souche de référence (ATCC)	Souche sensible

V- 2- Préparation de la suspension bactérienne (inoculum)

L'inoculum (suspension bactérienne initiale) préparé durant tout le travail est standardisé à 10^8UFC/ml.

Une longueur d'onde maximale de 580 nm (Rasooli et Mirmostafa, 2003) pour la souche à tester est introduite dans le spectrophotomètre et une suspension bactérienne initiale correspondant à une absorbance de 0,6 est préparée.

A partir de la suspension bactérienne initiale une série de dilutions décimales est effectuée. 0,1 ml de chaque dilution ainsi que la suspension bactérienne initiale servent ensuite pour l'ensemencement de la gélose Nutritive à l'aide d'un râteau étaleur. Un dénombrement est alors effectué après incubation à 37°C pendant 24 heures (tableau VI).

Tableau VI : Les résultats de dénombrement en UFC/ml de chaque suspension bactérienne initiale de souches testes.

Souches	Nombre d'UFC/ml de la SM
S. aureus (Sa)	9.10^7~ 10^8
S. aureus (Str')	172.10^8
Bacillus subtilis	4.10^9
E.coli	10^8
K. pneumoniae	33.10^8
P. aeruginosa	4.10^7~10^8

V-3-Contrôle de la stérilité de composés phénoliques

La stérilité de nos polyphénols a été confirmée comme suit :

Des puits de 6 mm de diamètre ont été creusés dans la gélose de *Mueller Hinton* stérile sont remplis avec 60µl de chaque extraits. Après 24 heures d'incubation à 37°C, les boites ne montrant aucun contaminant, les polyphénols sont stériles.

V-4- Méthode de diffusion sur milieu solide (méthode de puits)

Pour la mise en place de diffusion sur milieu solide nous somme inspirés de protocole suivi par **Vardar-Ünlü" et *al.* (2003)**

V-4-1-Détermination de l'effet du DMSO sur six les souches testes

Nous avons choisi le DMSO comme solvant des polyphénols et nous avons par ailleurs montré son innocuité sur les souches comme suit :

Un écouvillon stérile trempé dans une suspension bactérienne à 10^8UFC/ml **(Rasooli et *al*, 2003)** sert à ensemencer des géloses Mueller-Hinton coulées dans des boites de Pétri de 90 mm de diamètre avec une épaisseur d'au moins de 4mm **(Belaiche, 1979).**

Des puits creusés dans de la gélose Mueller Hinton préalablement ensemencées, sont remplis de 60µl de diméthylsulfoxyde (DMSO) stérile. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, le DMSO ne présente aucune activité antibactérienne.

V-4-2-Evaluation de l'activité antibactérienne de différentes concentrations de composés phénoliques

- Des puits (06 mm) sont creusés à égale distance les uns des autres (6 puits par boites) et de telle façon à éviter le chevauchement des zones d'inhibition sur la gélose préalablement ensemencée par écouvillonnage avec la souche test.
- Avec une micropipette réglable de 10 à 100 µl, nous déposons aseptiquement dans chaque puits 60 µl des différentes concentrations de chaque extrait de polyphénol préparées dans du DMSO (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32) ainsi que l'extrait brut,
- 60 µl du solvant de dilution (DMSO) sont mis dans les puits creusés dans la gélose des boites témoins,
- Les boites laissées à 4°C pendant 2 h sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Les diamètres de zones d'inhibition entourant le puit sont mesurés en millimètre. Les essais sont faits en double, le résultat étant la moyenne des deux.

- Afin de déterminer si l'extrait de polyphénol possède une activité bactéricide ou bactériostatique, un prélèvement de la zone d'inhibition est transféré dans un tube contenant un bouillon Cœur Cerveau qui, par la suite incubé à 37°C pendant 18 heures, est examiné à l'œil nu. Un milieu trouble indique un pouvoir bactériostatique, tandis qu'un milieu clair indique un pouvoir bactéricide de l'huile testée **(Laouer *et al.*, 2003).**

Résultat et discussion

I- Rendement de composés phénoliques

Le rendement est défini comme étant le rapport de la quantité de la poudre obtenue après macération et évaporation du solvant d'extraction (méthanol) sur la masse de la poudre de la matière végétale sèche :

$$R\% = \frac{m_{cph}}{m_{M.V.S}}$$

M_{cph} (g) : masse de composés phénoliques

$m_{M.V.S}$ (g) : masse de la poudre de la matière végétale sèche

R% : rendement en composés phénoliques

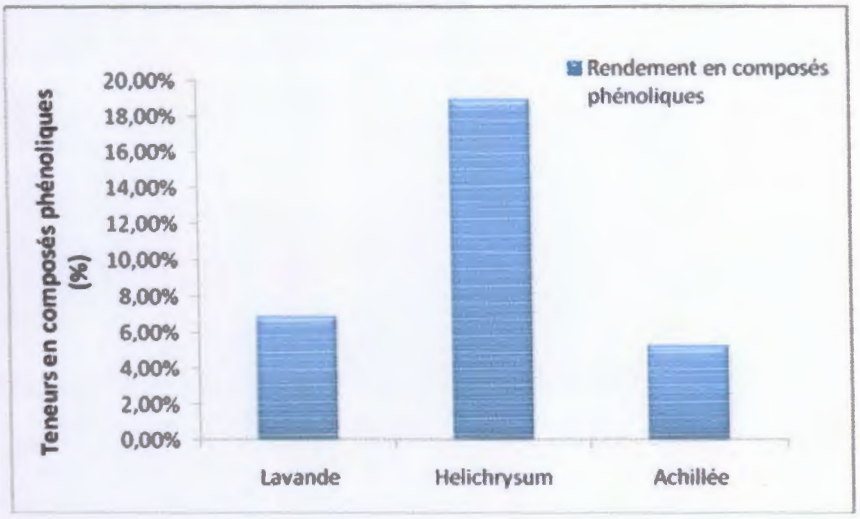


Figure 10 : Teneurs en composés phénoliques de trois plantes étudiées

Les teneurs en composés phénoliques ont été calculées par rapport à la matière végétale sèche. L'échantillon d'*Helichrysum stoechas* a fourni une teneur très élevée en composé phénolique 18,95 %, parraport au deux autres échantillons (figure10) qui sont alors de 6,875% pour la Lavande et de 5,23 % pour Achillée.

D'après **Albayrak et *al.* (2010),** dans l'étude faite sur toutes les espèces d'*Helichrysum stoechas* rapportent que le pourcentage des polyphénols dans *Helichrysum stoechas* est de 16.87% ce rendement est très proche de notre résultat.

II - Dosage de composés phénoliques

II-1- Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Le dosage de composés phénoliques est une méthode indirect, elle nécéssite l'établissement d'une courbe d'étalonnage. La courbe obtenue est illustrée dans la figure 11.

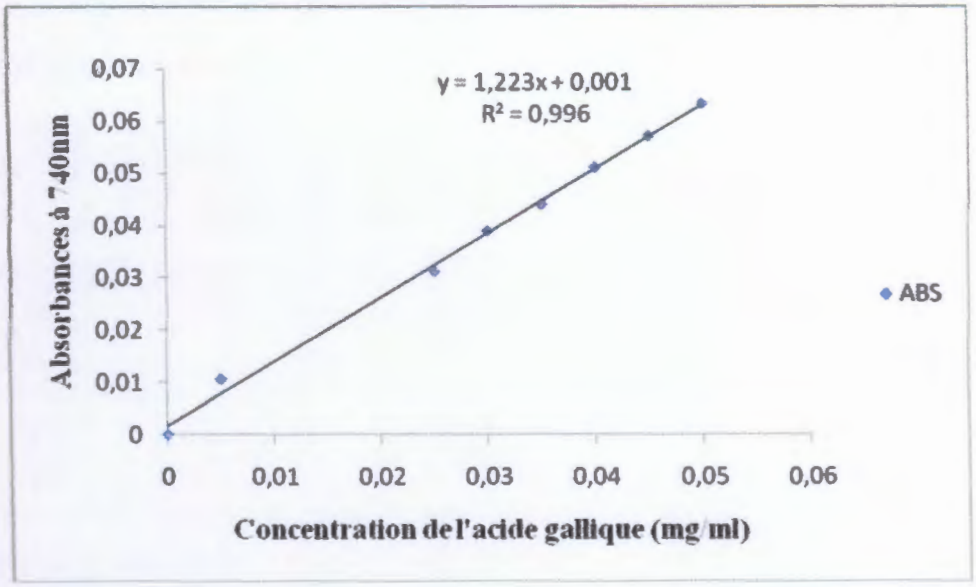


Figure 11: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

II-2-Teneur en composés phénoliques

Les teneurs en composés phénoliques obtenues, exprimées en mg GAE /g PS sont présentées dans le tableau VII.

Les teneurs en composés phénoliques des extraits de *Lavandula stoechas* et d'*Achillea odorata* sont plus importantes par rapport à celle obtenu avec l'extrait d' *Helichrysum stoechas.*

Albayrak et *al.* (2010), ont déterminé la teneur en composés phénoliques totaux d'*Helichrysum stoechas* (94,16±0,5mg GAE/g PS).

Mohammedi (2006), dans une étude faite sur certaines espèces de plantes médicinales Algériennes, a rapporté que la teneur en polyphénols totaux de *Lavandula stoechas* 0,69g RAE/100g PS.

Tableau VII : Teneur en composés phénoliques des trois plantes étudiées

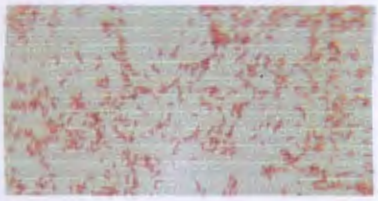
Teneur	**Plante**	**Absorbance**	**mg GAE/100g PS**
En composés phénoliques	*Helichrysum stoechas*	0,13655	**2,9 mg GAE/100g PS**
	Lavandula stoechas	0,20955	**15,43 mg GAE/100g PS**
	Achiliea odorata	0,20675	**17,96 mg GAE/100g PS**

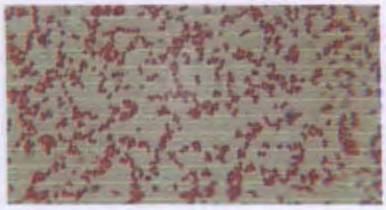
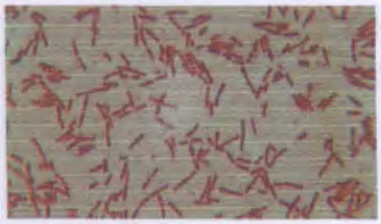
III- Activité antibactérienne

III-1-Evaluation de l'activité antibactérienne de composés phénoliques par la Méthode de puits

Les résultats de la coloration de Gram sont représentés sur le tableau suivant :

Tableau VIII: Résultats de la coloration de Gram des six souches testes

Observation microscopique	**Résultats de la coloration de Gram**	**Souches**
	Gram négatif, bacilles courts et larges à extrémités arrondies (coccobacilles).	***Klebsiella pneumoniae***
	**Gram négatif**, bacilles avec extrémités arrondies (coccobacilles).	***Pseudomonas aeruginosa***

	Gram négatif, bacilles avec extrémités arrondies (coccobacilles).	***Escherichia coli***
	Gram positif, cocci arrondies isolées en diplocoques ou en grappe de raisin.	***Staphylococcus aureus*** **(Sa)**
	**Gram positif**, cocci arrondies isolées en diplocoques ou en grappe de raisin.	***Staphylococcus aureus*** **(Str')**
	**Gram positif**, bâtonnet très grand.	***Bacillus subtilis***

III-1-1-Effet du DMSO (Diméthylsulfoxyde) sur les souches bactériennes testes

Après 24 heures d'incubation à 37°C, le DMSO ne présente aucune activité antibactérienne (figure 13). Par conséquent, il est choisi comme diluant de composés phénoliques.

Si les extraits doivent être soumis aux essais biologique la toxicité du solvant peut également être critiquée car même en trace ; le solvant ne devrait pas empêche le procède biologique .L'attention devrait également être prêtée aux interactions possibles entre le solvant et les corps dissous pendant que le solvant peut réagir avec certains composés pour produire des complexes ou pour causer la décomposition, la desydratation ou l'isomération de ces composés (**Yrjonen, 2004).**

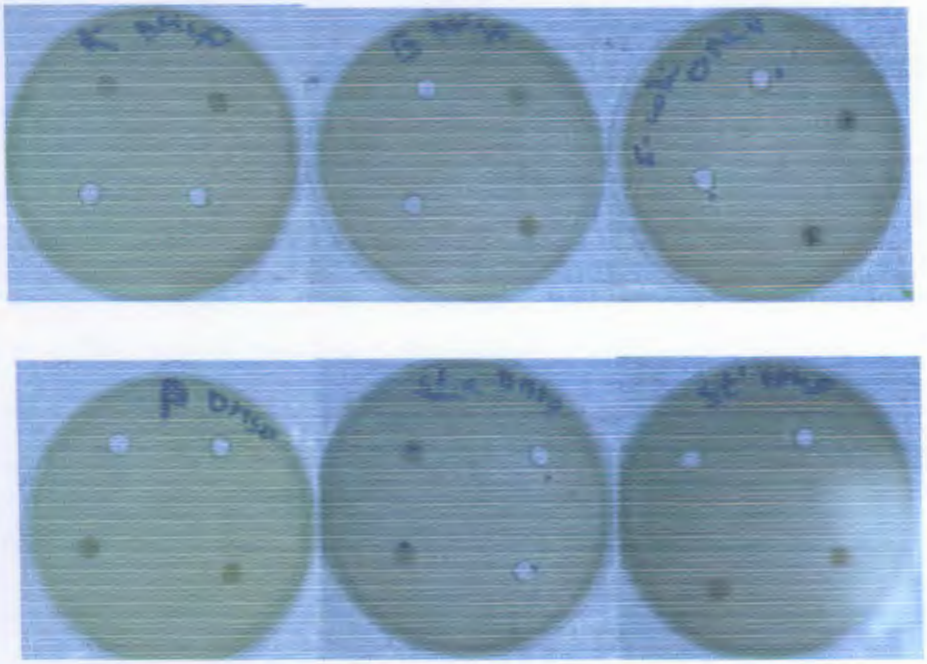


Figure12:Photo montrant l'effet de DMSO sur les six souches bactériennes

III-1-2-Effet de composés phénoliques de *Lavandula stoechas* sur les souches testes

L'extrait brut de polyphnols possédant le pouvoir antibactérien le plus important contre *Escherichia coli, Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline avec des zone d'inhibition de 16mm, 60mm et 11mm respectivement, ainsi que on remarque une diminution de l'activité antibactérienne selon les dilutions (**figures 13, 14, 15, 22, Tableau IX,X, Annexe B**).

Figure13: Photo montrant l'effet d'extrait de *Lavandula stoechas* sur les deux souches.

Les composées phénoliques causent des dommages au niveau de la membrane externe des bactéries .Ce qui entraine une augmentation de la perméabilité membranaire aux protons et aux ions potassiums, une réduction des réserves de l'ATP intracellulaire, une perturbation

de la force proton motrice et une dénaturation des protéines intracellulaires (**Amarti et *al.*, 2008**)

Les résultats obtenus, en ce qui concerne l'activité inhibition des composés phénoliques de *Lavandula stoechas* sont en accord avec ceux obtenus par **Mohammedi, (2006)** sur *E.cloeceae* .En rerevenche, il a enregistré une résistance vis-à-vis des *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats obtenus sont présents sur tableau X.

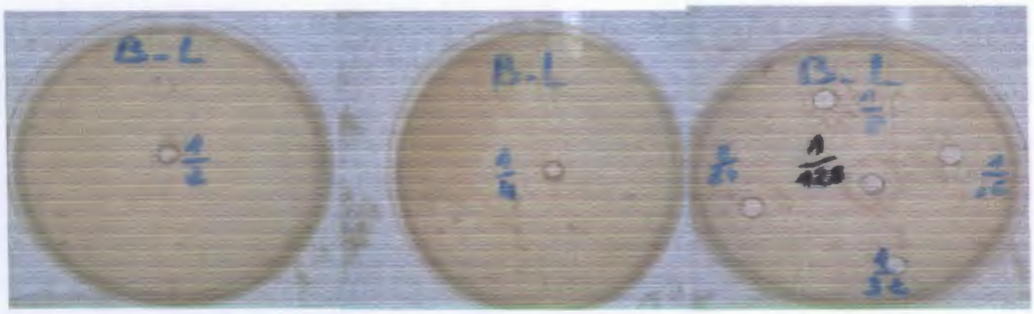


Figure 14: Photo montrant l'effet de différentes concentrations de l'extrait de *Lavandula stoechas* sur *Bacillus subtilis*.

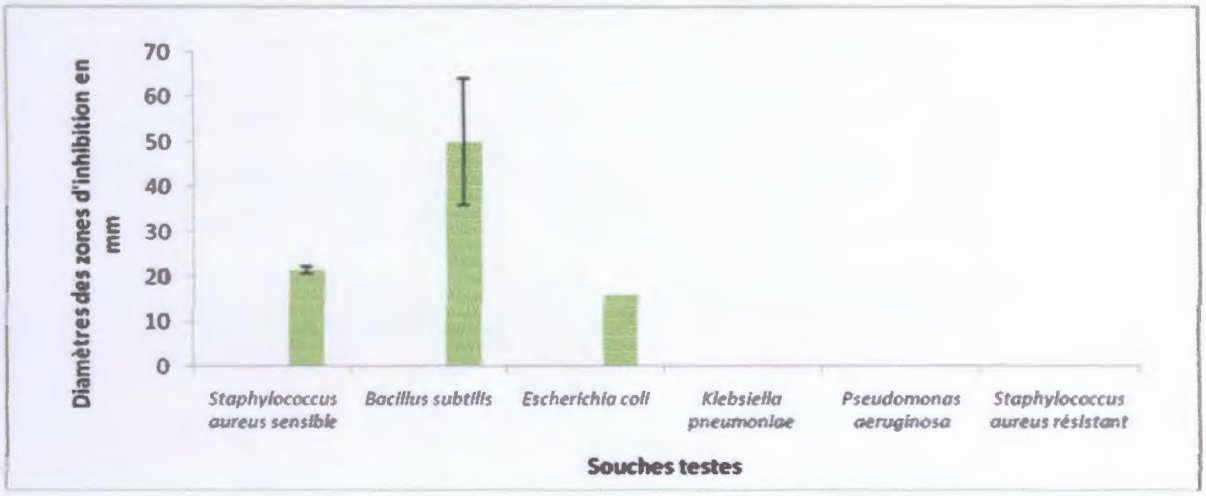


Figure15: Activité antibactérienne de composés phénoliques de *Lavandula stoechas* sur les souches testes.

III-1-3-Effet de composés phénoliques d' *Helichrysum stoechas* sur souches testes

L'extrait de composés phénoliques d'*Helichrysum stoechas* agit de façon très active sur les souches de *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* sensible parmi les souches testées,

mais, pour *Staphylococcus aureus* résistant, *Pseudomonas aeruginosa Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* se sont des souches très résistants aux extraits avec des zones d'inhibition (00mm) (figure 16,18, 17, 22).

Diamètres des Les zones d'inhibition en fonction de différentes dilution sont présentés sur la figure20.

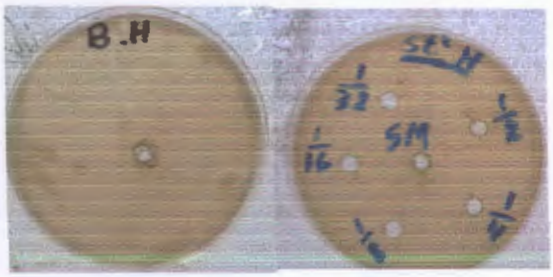


Figure16: Photo montrant l'effet de l'extrait d' *Helichrysum stoechas* sur *Bacillus subtilis* (B) *et S.aureus* (Str').

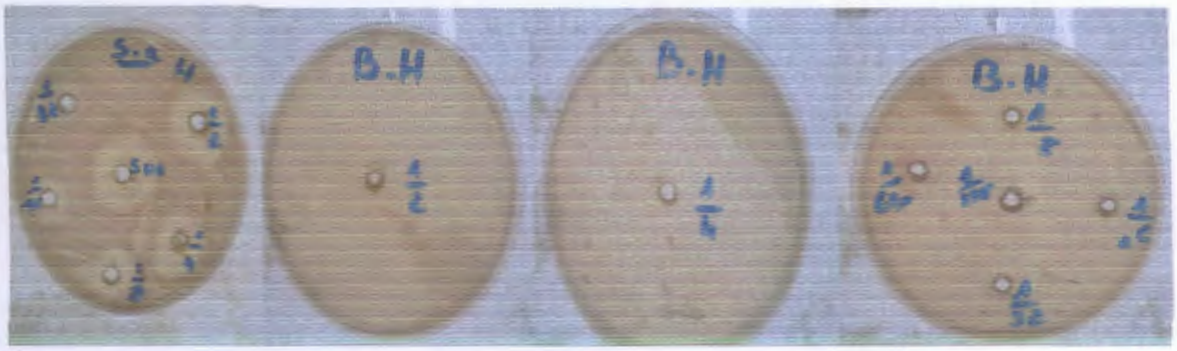


Figure17: Photo montrant l'effet des dilutions d'extrait de d'*Helichrysum stoechas* sur *Bacillus subtilis* et *S. aureus* sensible.

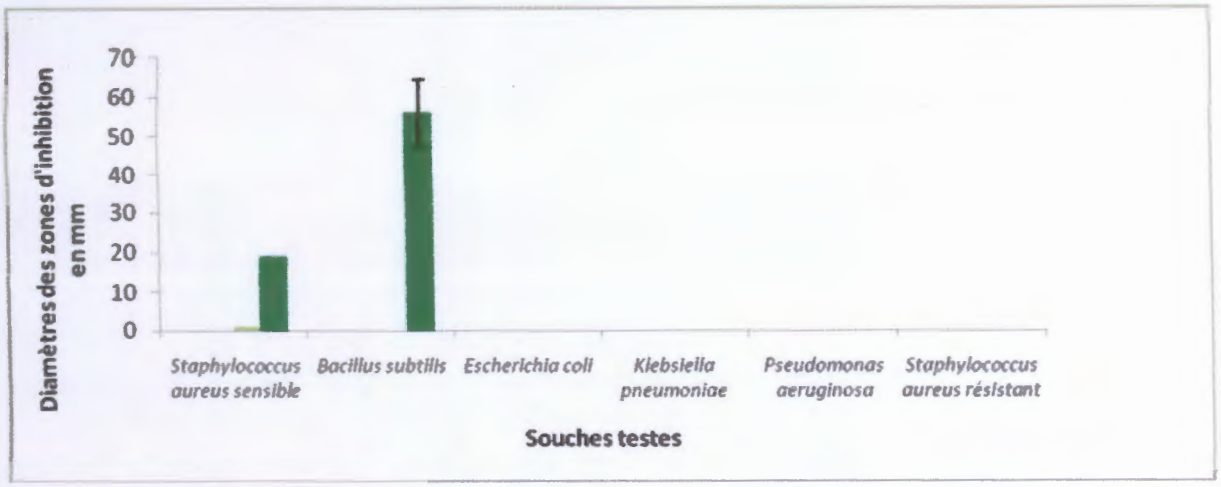


Figure18 : Histogramme de l'activité antibactérienne des composés phénoliques d'*Helichrysum stoechas* sur six souches étudiées.

III-1-4-Effet de composés phénoliques d'*Achillea odorata* sur six souches testée

Les compose phénolique d *Achillea odorata* se sont avérées très actives contre ' *Bacillus subtilis.* Elles sont en revanche, pas actives contre les autres souches. (Fig : 22 ; 23 ; 24).

Bacillus subtilis montre des zones d'inhibition de 75mm pour l'extrait non diluée et de 73mm, 12mm pour la dilution 1/2 et 1/4 respectivement (figure24).

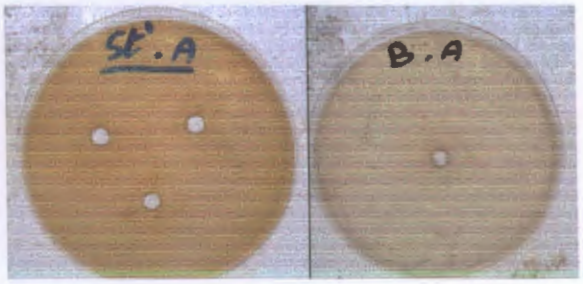


Figure 19 : Photo montrant l'effet d'extrait d'*Achillea odorata* sur les deux souches.

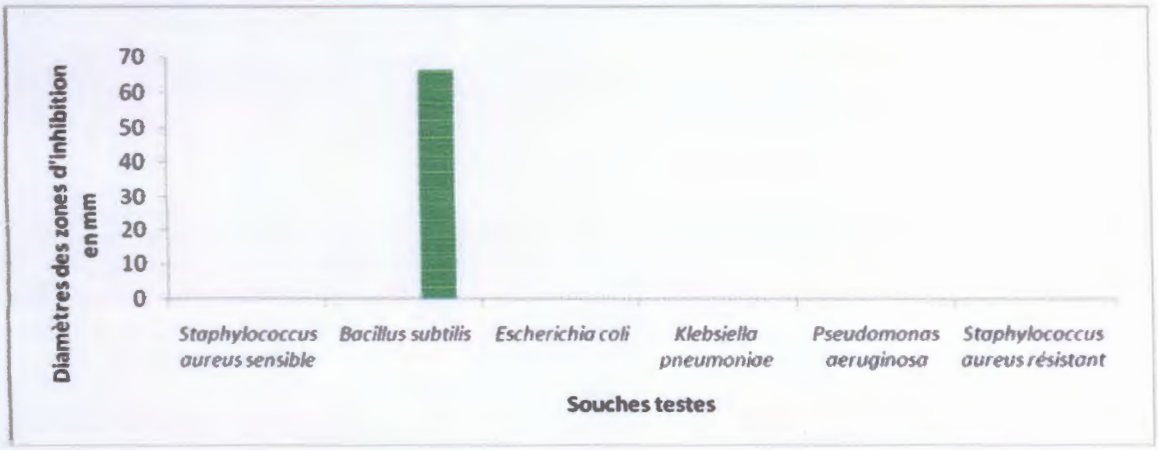


Figure 20 : Activité antibactérienne des composés phénoliques d'*Achillea odorata* sur les souches testes.

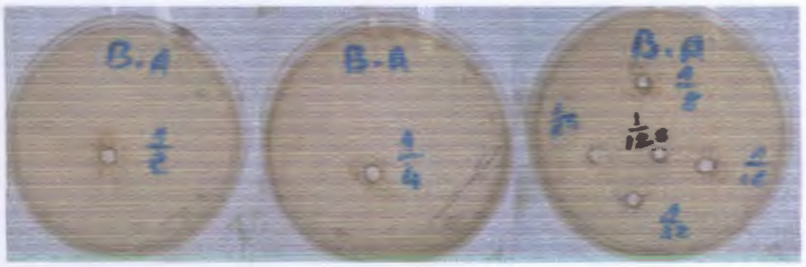


Figure 21: Photo montrant l'effet de différentes concentrations de l'extrait d' *Achillea odorata* sur *Bacillus subtilis* .

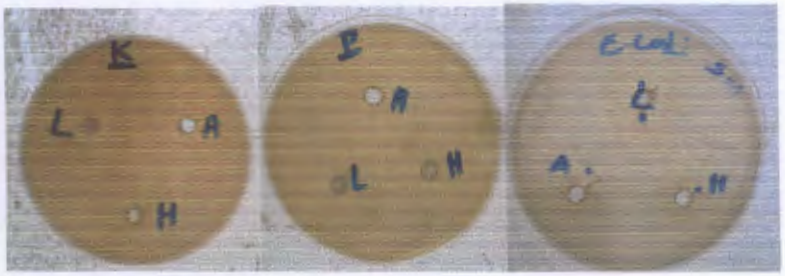


Figure 22: Photo montrant l'effet des extraits des trois plantes sur *Pseudomonas aeruginosa* (P), *Klebsiella pneumoniae* (K) *et Escherichia coli*.

III-1-5-Comparaison de l'activité antibactérienne de composés phénoliques de trois plantes étudiées :

Les extraits des polyphénols des trois plantes contiennent une activité très efficace contre la souche *Bacillus subtilis* mais, *pour* les autres souches l'activité antibactérienne est variée Selon l'extrait de plante (figure 23).

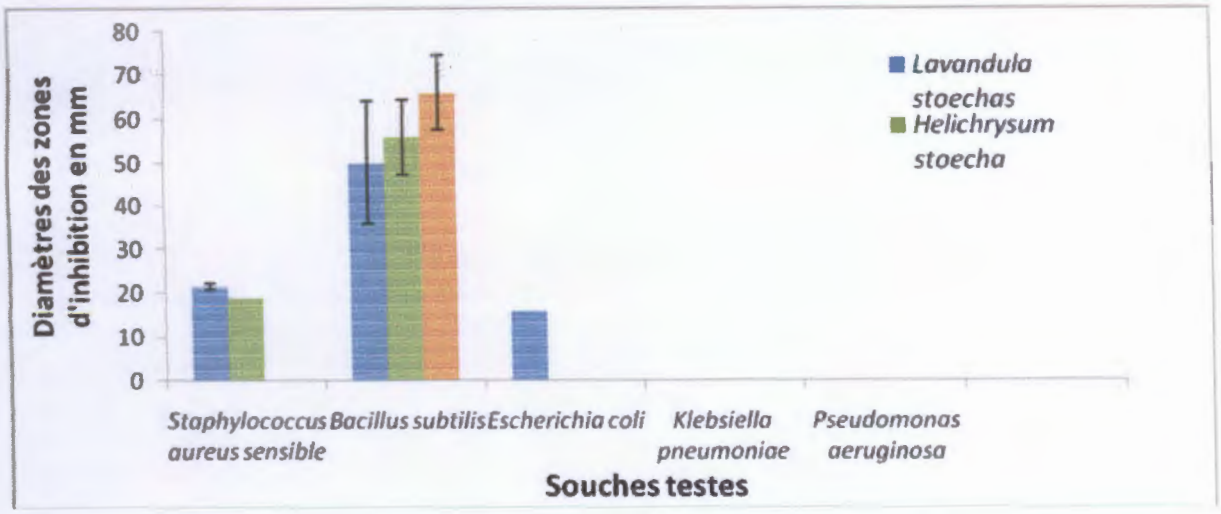


Figure 23 : Histogramme comparatif de l'activité antibactérienne de composés phénoliques de trois plantes sur les souches testes.

Tableau IX : Résultats récapitulatif de l'activité antibactérienne de trois plantes médicinales étudiées sur les souches testes

Les souches	*Lavandula stoechas*	*Helichrysum stoechas*	*Achillea odorata*
E. coli	(-)	(+)	(+)
Klebsiella pneumoniae	(+)	(+)	(+)
Pseudomonas aeruginosa	(+)	(+)	(+)
Bacillus subtilis	(-)	(-)	(-)
S. aureus (S)	(-)	(-)	(+)
S. aureus (Str)	(+)	(+)	(+)

(-) sensible

(+) résistant

L'absence de trouble dans le bouillon ensemencé à partir de la zone d'inhibition signifie que l'effet de composés phénoliques est bactéricide, par contre la présence de trouble indique un effet bactériostatique. Les résultats obtenus sont tous positifs, cela veut dire que les prélèvements effectués à partir des zones d'inhibition montrent tous une activité bactériostatique.

Conclusion

Conclusion

Le présent travail, nous a permis d'étudier quelques plantes médicinales locales qui représentent une source de substance naturelle bioactive.

L'évaluation d'effet antibactérien de composés phénolique montre une activité antibactérienne variée selon les extraits des plantes et les souches bactériennes testées

L extrait de *Lavandula stoechas* de concentration 10mg/ml possède une activité antibactérienne et exerce une action inhibitrice pour les souches *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* sensible avec des zones d'inhibition : 16mm, 60mm ,11mm respectivement

L'extrait d'*Helichrysum Stoechas* utilise aux mêmes concentration que celles pour l'extrait de *Lavandula stoechas* 10mg/ml montre une activité plus élevé et une action inhibitrice sur les deux souche bactériennes : *Bacillus subtilis* et et *Staphylococcus aureus* sensible

L extrait d'*Achillea odorata* utilisée à la même concentration que les autres plantes, montre une activité antibactérienne pour la souche *Bacillus subtilis*. Également après les études de l'activité antibactérienne, on fait le test de bactéricide et bactériostatique sur les souches sensible pour les extraits, le test montre que touts les extraits sont bactériostatiques.

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substance de source naturelle biologique active.

Des essais complémentaire seront nécessaire, afin d'approfondir nos connaissance en ce domaine.

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Albayrak, S., Ahmet, A, Osman, S. et Ergin, H. (2010). Composition antioxidant and antimicrobial activities of Helichrysum(Asteraceae) species collected from turkey.*Food chemistry, 119*, 114-22.

Amarti, F., Sarani, B., Aafi, A., Ghanmi, F.A., Aberchane, M., El Ajjouri, M., El Antry, S., Chouch, A.(2008). Composition chimique et activité antimicrobienne des huile essentielle de *Thymus capitatus* et de *Thymus* bleicherianus du Maro . *Phytothérapie,6,* 342-347.

B

Bahorun, T., Trotin, F., Pommiri, J., Vassur, J. et Pinkas, M. (1994). Antioxidant activities of *Crataegus monogyna* extracts. *Planta Med, 60,* 323 – 328.

Belaiche, P. (1979). Traité de phytothérapie et d'aromathérapie : l'aromatogramme. Paris : Maloine .204p.

Bibet, A. et Naili, F. (2008). Le mtabolisme praimaire et secondaire des Angiospermes. Mémoire d'Ingerieur en Ecologie. Université de Jijel. 54 pp.

Boulkour S. (2004). Étude du rôle de flavonoides dans la prévention de la toxicité hematologique, hepatique et rénale de la vinblasine l'isomiacide et du paracétamol. Thèse de Magistère en Biochimie .Faculté des sciences. Université de Jijel. 146 pp.

C

Chu, C.J. et Kemper, K.J. (2001). Lavender (*lavandula Spp*). Longwood Herbal Tast Force. 32 pp.

Clandine, M., Augustin, S., Christian, R. et Liliana, J. (2004). Polyphérils. Food sources and boavallablity. *Am Jclin Nutr,79,* 727-747.

D

Dellile L, (2007). Les plantes médicinales d'Algérie .Alger : Berti. 240 pp.

Dubois, G.E, Grosby, G.A. et Saffron P. (1977). Taste structure relationships with for some neme simple science, *195,* 397-399.

E

Erlund I. (2002). Chemincal analyses and pharmaskinetic of flavonoïdes quercitrin, hespertin and maringenin in humans. University of Helsinlsi (Finlande). P : 1-92.

Ernest, S., et Paul, M., (2000). Cultures médicinales Canadiennes. Conseil National de la recherche de Canada. 222 pp.

F

Florence L. (2007). Plantes médicinales de A à Z. In : guide des plantes médicinales. Ed : Elcy. P : 16-28.

G

Gautier, R. et Mauric, N. (2000). *Helichrysum stoechas*. Société des Gens de lettre. (http://www.plante_cyclo.com).

I

Iserin, P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales: identification, préparations, soins Paris: Larousse. 335 pp.

Hans, W.K. (2007). 1000 plantes aromatique et médicinales. Ed: Terres. 328 pp.

K

Ksouri, R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Smaoui, A. et Abdelly, C. .(2008). Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Elsevier,331 (*11), 865-873.

J

Jean, J., Macherise, A., Fleuri et Christian Jay A. (2005). Les composés phénolique des végétaux ed: Presses polytochriques et Universitaires romandes.

L

Laouer, H., Zerroug, M.M., Sahli, F., Cker, A.N., Valentini, G., Ferretti, G., Grande, M., et Anaya, J. (2003). Composition and Antibacterial Activity of *Ammoïdes pusilla* (Brot) Breistr.Essential Oil. *Journal of Essential Research, 15,* 135-138.

Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K., et Birol. (2003). The role of antioxydant phytonutients in the prevention of disiases. *Acta Biologica Szegediensis.47,* 119-125.

Loic, G. (2006). L'origine naturelle de leur médical (I). In : les plantes et les médicaments, ed: La chan et niestlété. pp11-24.

M

Macheix, J.J, Fieurit, A. et Asarni-Manchdo, P. (2006).Composés phénoliques dans la plante- Structure, biosynthèse, répartition et rôles . In : Les polyphénols agroalimentaires. Ed : Tec&Toc. P:1-26.

Maganga, A.(2004). Influence of Variety and Organic Cyltural Partices on Yield and Essential Oil Content of Lavander and Rosemary in Intorior B C (STOPA). *Kaloops*.BC. 23 pp.

Marfak A. (2003). Radioplyse Gamma des flavonoides. Etude de leur Réactivité avec les Radicaux Issus des Alcools. Thèse de Doctorat. Université de Limoges. Spécialité Biophysique.187 pp.

Meyer A., Deina, J. et Bernard, A. (2000) .Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. 2ème. Ed. Doin éditeur. 236 pp.

Mohammedi, Z. (2006). Étude de pouvoir antibactérienne et antioxydant des huiles et flavonoides de quelques plantes de la région de Tlemcen .Thèse Magistère .Université Abou Bakr Belkaid. 140 pp.

Mahmoudi, Y. (SD). La thérapeutique par les plantes communes en Algerie. Ed : Plais du livre Blida. 128 pp.

Max W, Robert A.(1999). Plantes thérapeutique. Ed: Tec & doc. P: 260-259.

Medic-Saric, M., Jasprica, I., Smolcic, B.1. et Mornar, A. (2004). Optimization of chromatographic consistions in thin layer chromatographie of flavonrides and phenolic Acids. *Goatica chimica Acta, 77,* 361-366.

N

Nihal T, Ferda, S, Segat, V.(2006) affects of extraction solvant on concentration and antioxydant polyphanols determined by ferrous tartrate an folin ciocalten mettods. *Food Chemistry, 990,* 835-841.

P

Pascal, S. et Manchando, V. (2006). Les polyplérols en agroalimentaire. Ed: Tec & Doc. 398 pp.

Paul, S. (2005). Guide des plantes médicinales .In : analyse description de 400 plantes.. Ed: la maison de la chausse et Nestlé. 361 pp.

Pierre, L. (1996). Le livre des bonnes herbes . 3ème edition. 1313. pp.

Psotova J, Larsovshy et Vicar J.(2003).Metal- chelating Properties, Electrochemical Behavoir, scavenging and cytoprotoctive Activities of sise Natural phenolics. Bioruadical Paoers. 147 :147-153.

Q

Quezel, P., et Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris : Centre National de la Recherche Scientifique Tome II. P : 571-1170.

R

Rasooli, I., et Mirmostafa, S. A. (2003). Bacterial Susceptibility to and Chemical Composition of Essential Oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51*:2200-2205.

Richer,G.(1993).Metabolisme des végétaux.In :Metabolisme des végétaux . ed: Presses polytechniques et universitaires romandes. P : 317-339.

S

Sartoratto, A., Machado, A.L.M., Delarmelina, C., Figueira, G.M., Duarte, M.C.T., Rehder, V.L.G. (2004). Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils From Aromatic Plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology, 35*, 275-280.

Sobhy, EA. et EL- Feky SS. (2007).Constituauts chimiques et l'activité autibactrieme d'helichrysum stochas, sciasie F. P : 1-5.

V

Vasinauskiene M Radusiene J.,Zitikaite I.,Surviliene E.(2006).Antibacterial activities of essential oils from aromatic and medicinal plants against growth of phytopathogenic bacteria.Agronomy Research (special issue). P: 437-440.

Y

Yrjonen T. (2004). extraction and Planar Chromatographic separation Techniques in the Analysis of natural Products .Conference Room 513 at Viiki inferencentre (viikinkaari 11) faculty of pharmacy of the university of Helsinki. 64 pp.

Z

Zaid N.(1998). Lesvertus des plantes dans larie quotidienne. Ed :ELLEBONE. 138 pp.

Glossaire

Glossaire

Akènes : en botanique tout fruit sec graine unique comme noisette.

Amorphe : molle et inactive en chimique qui n'est pas cristallisé.

Angiospermes : plantes qui fleurie et produit des graine enfermée un ovaire.

Antiseptique : en pharmacie qui détruit les microbes par désinfection.

Antispasmodique : en pharmacie qui calme les spasmes musculaire.

Astringence : est une propriété de certaine substance de produire une crispation des muqueuses

Cardiovasculaire : de coeur et de vaisseau sanguins. Une maladie cardiovasculaire.

Chloroplaste : organite de la cellule végétale contenant la chlorophylle et siège des photosynthèses.

Fumigation : en phytothérapie et aromathérapie production de vapeur médicamenteuse destinée à être inhalée.

Fougère : plantes terrestres de la famille des ptéridophytes.

Hermétiquement : d'une manière totalement étanche.

Insectes phytopathologies : qui ont causées des maladies sur les plantes.

Ligneuses : la ligne de partage.

Macération : trempage prolongé dans un liquide froid, généralement pour aromatisation les plantes.

Migraines : maux à la tête qui touche le plus souvent une seule cotée de la tête.

Organoleptique : il s'agie pour les caractères sensorialités.

Plaies : douleurs morales profondes et durables.

Sudorifique : qui provoque au augmente la transpiration (excrétion de sueur).

Thermbose : coagulation de sang dans un vaisseau ou dans une cavité cardiaque.

Thermodégradation : dégradation par la chaleur.

Vertige : crainte anticipée de vide pouvant entraîner une perte d'équilibre.

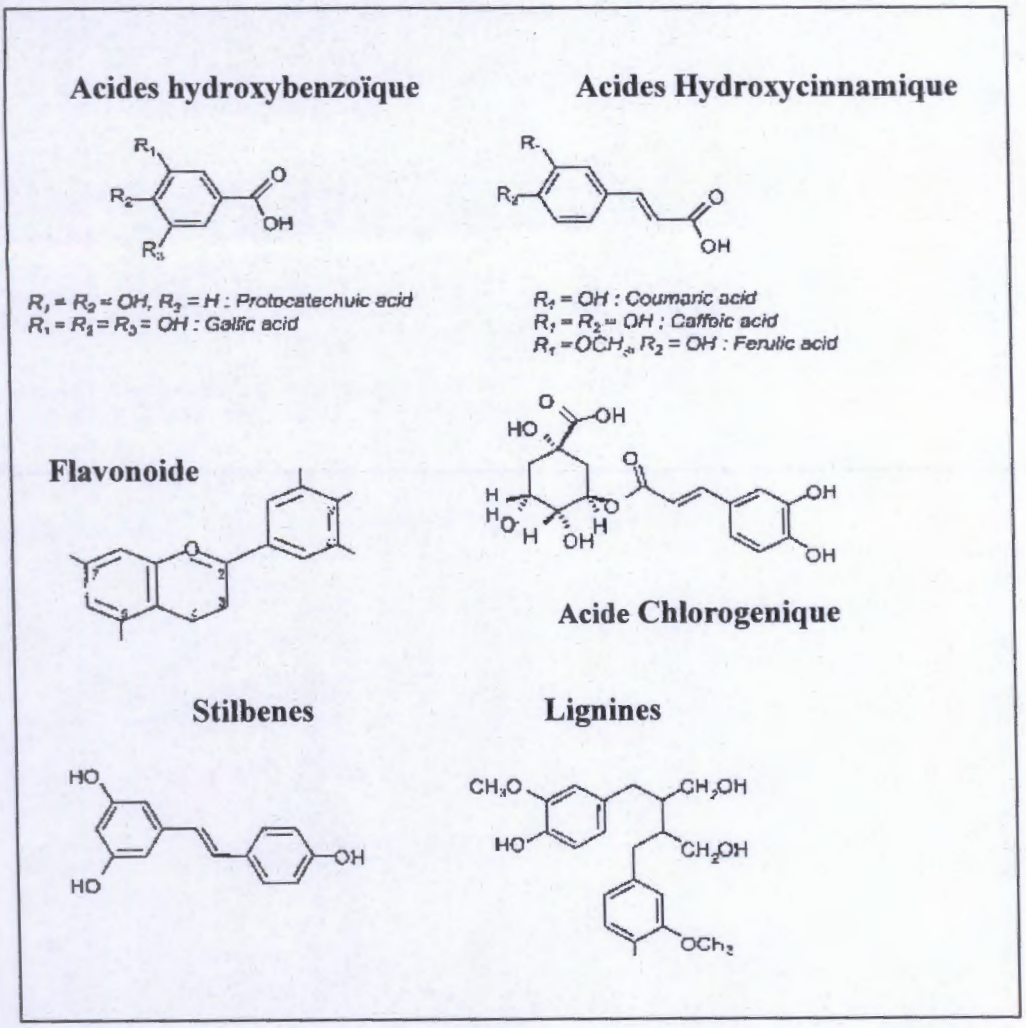


Figure 01 : Les structures chimiques de polyphénols **(Claudine et *al.*, 2004).**

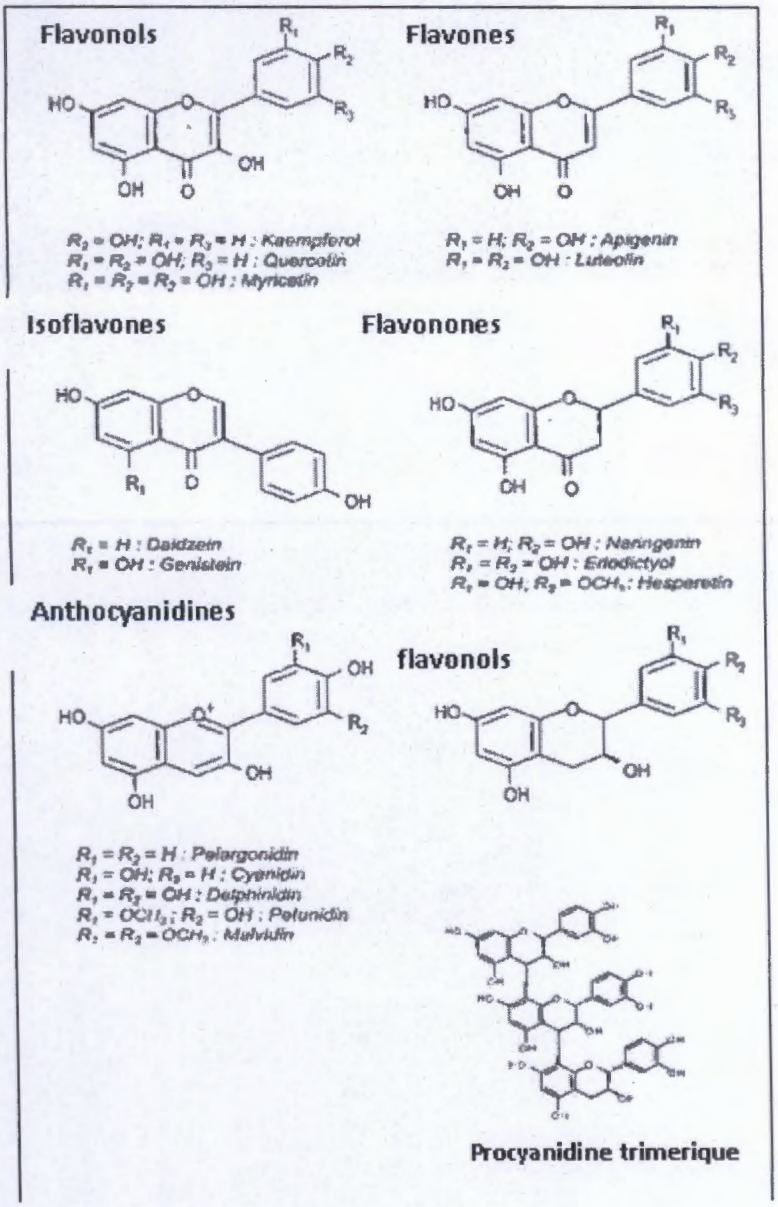


Figure05 : Les structures chimiques de flavonoïdes **(Claudine et *al.*, 2004).**

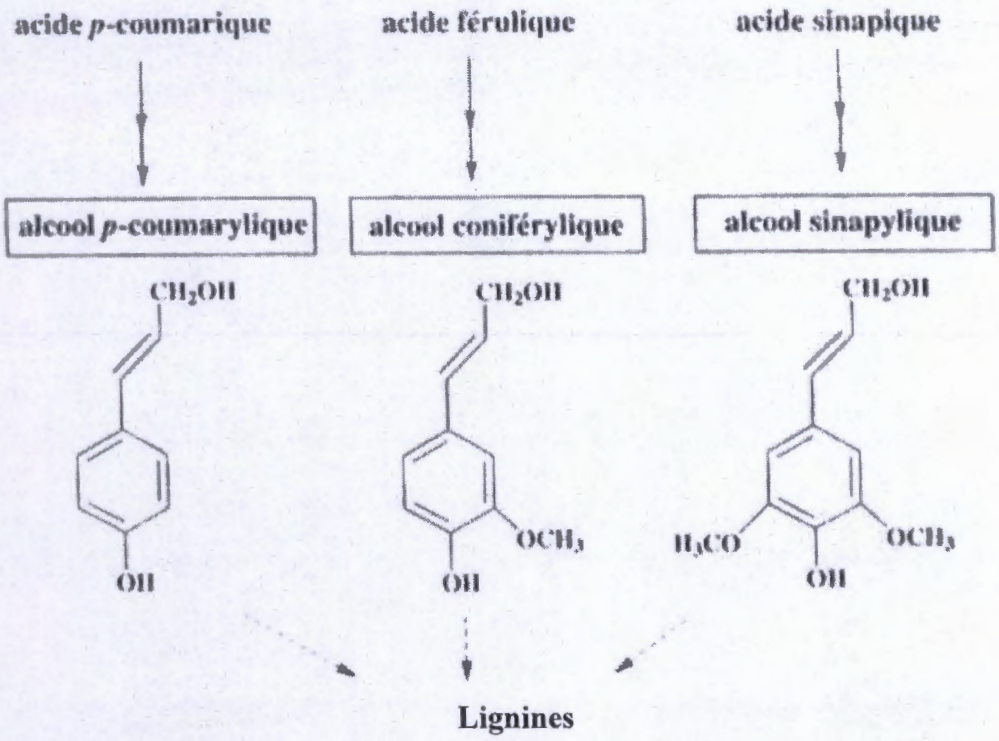


Figure 06 : Les monomères constitutifs des lignines **(Pascale et *al.*, 2006).**

Tableau I: Quelques exemples d'intervention de composés phénoliques dans les relations entre la plante et son environnement **(Jean et *al.*, 2005)**.

Actions biologiques des composés phénoliques	**Principaux composés impliqués**
Intervention dans les symbioses Rhizobium/ légumineuses :	
• Activation des gènes de nodulation :	
- de *Rhizobium meliloti*	-Lutéoline
- de *Bradyrhizobium japonicum*	-daidzéine, génistéine.
• Inhibition de l'activation des gènes de nodulation de *Rhizobium leguminosarum*	-Kaéomphérol,daidzéine, génistéine.
Intervention dans les relations hôte/parasite :	
• activation des gènes de virulence *d'Agrobacterium*	-acytosyringone
• barrière physique ou chimique, constitutive ou induite.	-lignines, acide chlorogénique, tannins.
• Synthèse des phytoalexines	- isoflavonoïdes, furanocoumarines, etc.
• Chez les angiospermes parasites	-sorgoléone, flavonoïdes.
Protection contre le rayonnement UV	-Esters hydroxycinnamiques ,flavonoides.
Intervention dans les relations plantes/animaux :	
• Couleur et pollinisation	-anthcyanes, flavonls
• Protection vis-à-vis des herbivores	-tannins

Tableau II: Activités biologique des composés phénoliques **(Bahorun, 1994).**

Polyphénols	Activités
Acides phénols (acide caféique)	Antibactériennes Antioxydantes
Coumarines	Vasoprotectrices et Anticedémateuses
Flavonoïdes	Antibactériennes Anti-inflammatoires Anticarcinogènes Hypotenseurs et Diurétiques Antioxydantes
Anthocyanes	Protection des veines et Capillaires
Proanthocyanidines (**Tannins condensés**)	Activités physiologiques Humaines (phagocytose,..) Antibactériennes Antioxydantes Anti-inflammatoires Antivirales
Tannins	Antibactérienne Antifongiques

Tableau VIII : Sources alimentaires de flavonoïdes **(Marfak, 2003).**

Polyphénols	Activités
Flavanones	Fruits du genre citrus
narangénine	
Flavones	
chrysine	Peau des fruits
apigénine	Persil, thym, romarin, céleri
lutéoline	Persil, céleri
Flavonols	
kaempphérol	Radis, brocoli, thé noir
quercetine	Oignon, pomme, olive, vin rouge, tomate
myricétine	Canneberge, vin rouge
Flavon-3-ols	
epicatéchine	Thé ver, thé noir
catéchine	Thé ver, thé noir
épigallocatéchine	Vin rouge
Anthocyanidols	
cyanidol	Cassis, myrtilles
malvidol	Raisins, fraises, cassis
apigénidol	Framboises, fraises

Tableau VIIII : Contenu en flavonoïdes dans quelques aliments végétaux (poids à l'état en mg/kg) **(Lugasi *et al.*, 2003).**

Echantillon végétal	Total des flavonoïdes
légumes	
Brocoli	46,2
Chou blanc	17,7
Oignon rouge	124,1
Oignon pourpre	195,6
Poivre 20,1	
Epinards	338,6
Persil feuilles	80,8
Céleri feuilles	402,8
Céleri racine	25,9
Fruits	
Pastèque	18,4
Cassis	52,8
Fraises	1003
Raisin	38,7
Noix	4565
Kiwi	22,3
Banane	22,8
Poire	24,7
Prune	23,3
Abricot	11,5

Coloration de Gram

Un frottis fixé à la chaleur a été coloré pendant une minute avec une solution de violet de gentiane ; le frottis coloré a été rincé rapidement avec une solution de lugol pendant une minute, puis décoloré avec de l'alcool à 95% pendant quelques secondes jusqu'à ce que l'excès de colorant soit éliminé et rincé immédiatement à l'eau. A ce stade l'observation microscopique montre que les Grams positifs sont violets et les Grams négatifs sont incolores. Par la suite, le frottis a été traité avec de la fushine pendant 30 secondes, le tout a été rincé et séché. Les bactéries à Gram négatif sont roses et les Gram positives sont violettes **(Singleton et Sainsbury, 1984)**.

Composition des différents milieux culture utilisés

Bouillon nutritif (g/l)		**Gélose nutritive (g/l)**	
Peptone	10g	Peptone	10g
Extrait de viande	5g	Extrait de viande	5g
		Agar	15g
pH 7,2		pH 7,2	
Muller-Hinton (g/l)		**Bouillon Cour Cerveau (BHIP)**	
Extrait de viande	2g	Protéose-peptone	10g
Hydrolysat acide de Caséine	17,5g	Infusion de cervelle de veau	12,5g
Amidon	1,5g	Infusion de cœur de bœuf	5g
Gélose	10g	Glucose	2g
		Chlorure de Sodium	5g
		Hydrogenadrosphate de Sodium	2,5g
pH 7,4		pH 7,4	

Tableau X : Résultats des zones d'initions des extraits des trois plantes sur les six souches Etudiées.

	Lavandula						*Helichrysum*						*Achille*					
Souches	**SM**	**½**	**1/4**	**1/8**	**1/16**	**1/32**	**SM**	**1/2**	**¼**	**1/8**	**1/16**	**1/32**	**SM**	**1/2**	**1/4**	**1/8**	**1/16**	**1/32**
E.coli	16	13	13	12	11	10	-	/	/	/	/	/	-	/	/	/	/	/
Pseudomonas	-	/	/	/	/	/	-	/	/	/	/	/	-	/	/	/	/	/
Bacillus	60	58	50	/	/	/	56	52	46	/	/	/	75	73	67			
Klebsialla	-	/	/	/	/	/	-	/	/	/	/	/	-	/	/	/	/	/
S. aureus(s)	11	/	/	/	/	/	25	23	22	16	15	9	-	/	/	/	/	/
S.aureus (str')	-	/	/	/	/	/	-	/	/	/	/	/	-	/	/	/	/	/

(-) pas de croissance

(/) pas étudié

HADJI Hayet
LEHLILI Faiza
MIMECHE Zahra

Date : 07/07/2010
Promotrice : Mlle BEKKA F.
Examinatrice : Mme Bousdira F.

***Thème :** Activité antibactérienne de composés phénoliques de trois plantes médicinale « Lavandula stoechas, Helichrysum stoechas et Achillea odorata » récoltées dans les régions de Bejaia et de Jijel respectivement.*

Résumé

Les extraits naturels issus de végétaux contiennent une variété de composés phénoliques. Aux quels est attribué le pouvoir inhibiteur des microorganismes.

Dans la présente étude nous avons procédé à l'extraction de composés phénoliques a partir de trois plantes médicinale (*Lavandula stoechas, Helichrysum stoechas, Achillea odorata*) en utilisant le solvant d'extraction (méthanol). Le dosage des extraits obtenus par la méthode Folin-Ciocalteu a montré une concentration élevée en composés phénoliques, la teneur en composés phénolique de l'échantillon d'*Helichrysum stoechas* et très élevé (18,95%) parrapport à l'échantillon de *Lavandula stoechas* (6,875%) et d'*Achillea odorata* (5,23%).

L'activité antibactérienne de composés phénoliques de trois plantes médicinales sur les six souches bactériennes testes (*S.aureus, K. pneumoniae, E.coli, P.aeruginosa, S.aureus* sensible à la méticilline, *S.aureus* résistant à la méticilline, *Bacillus subtilis*) a été étudié par la méthode de puits.

L'extrait phénolique *Lavandula stoechas, s*'est avéré efficace sur les trois souches (*E.coli, B.subtilis et S.aureus*).

L'extrait phénolique d'*Helichrysum stoechas* présente une activité anti- bactérienne sur *B.subtilis* et *S.aureus*.

L'extrait phénolique d'*Achillea odorata* inhibe uniquement la croissance de *B.subtilis*.

Mots clés : *Lavandula stoechas, Helichrysum stoechas, Achillea odorata,* composés phénoliques, activité antibactérienne.

Abstract

Natural extracts of the plants contain a variety of phenolics compounds which assigned a micro-organisms inhibitory effect.

In the present studies we have preceded to extraction of phenolics compounds from three medicinal plants (*Lavandula stoechas, Helichrysum stoechas, Achillea odorata*), using methanol as the solvent of extraction. The amount of phenolics compounds determined using the Folin–Ciocalteu method are showing that the rate phenolics compounds of *Helichrysum stoechas* are very higher (18,95%) then the rates of *Lavandula stoechas* (6 ,875%) and *Achillea odorata.* (5, 23%).

Antibacterial activity phenolics compounds of the three medicinal plants on six bacterial strains (*S.aureus* meticillin resistant, *S.aureus* meticillin sensitive, *K.pneumoniae, E.coli, P.aeruginosa, S.aureus resistance, B.subtilis*) has been studied with Agar Well Diffusion Method.

The extract of *Lavandu stoechas* are established efficient on *E.coli, B.subtilis and S.aureus*.

The extract of *Helichrysum stoecha* presents an antibacterial activity on *B.subtilis* and *S.aureus*.

The extract of *Achillea odorata* inhibit only the growth of *B.subtilis*.

Key words: *Lavandula stoechas, Helichrysum stoechas, Achillea odorata,* phenolics compounds, antibacterial activity.

الملخص

المستخلص النباتي الطبيعي المتكون من مختلف المركبات الفينولية . التي تتميز بقدرتها على تثبيط نموالعضيات المتناهية الصغر .

في دراستنا طريقة استخلاص المركبات الفينولية الكلية إنطلاقا من النباتات الطبية (*Lavandula stoechas Helichrysum stoechas, Achillea odorata,*و تستعمل المحاليل في استخلاص و معايرة المستخلص لنباتين عن طريق محلول Folin-Ciocalteu الذي يبدي تركيزا عاليا من المركبات الفينولية الكلية متبلغ *Helichrysum stoechas* نسبة مرتفعة من المركبات الفينولية (18,95%) و (6 ,875%) بالنسبة ل *Lavandula stoechas* و5,23% بالنسبة ل *Achillea odorata* .

النشاط المضاد ل *Lavandula stoechas* و *Helichrysum stoechas* *Achillea odorata* على *.E.coli* , *K.pneumoniae*, *P.aerogenosa* , *B.subtilis, S.aureus*,

طريقة الثقوب التي استعملناها من أجل توضيح قدرة تثبيط النمو لمختلف التراكيب الفينولية للنباتات الثلاثة العطرية

- متعددات الفينول لنبلت *Lavandula stoechas* لها تأثير فعال *B.subtilis, S.aureus* و *E.coli*

- تملك *Helichrysum stoechas* فعالية ضد بكتيرية على *B.subtilis. S.aureus*

الكلمات المفتاحية: نشاط ضد بكتيري، مركبات فينولية. *Lavandula stoechas, Helichrysum stoechas, Achillea odorata.*