

REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE JIJEL

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET MICROBIOLOGIE

MB 3/106



MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme d'études supérieures en biologie
Option : Microbiologie

THEME

Evaluatuion de l'activité antibactérienne des polyphénols
extraits de la plante
Ranunculus repens L

Jury composé de :

Présidente ; Mme. BENHAMADA Wahiba

Examineur ; Mr. IDOUI Tayeb

Encadreur : Mme. ROULA Sadjia

Présenté par :

▪ NOUICHI Radia

▪ SOUIKI Ismahane

▪ CHABBI Soulaf



Promotion : 2006

N° d'ordre :

Remerciement

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à exprimer nos plus sincères remerciements et notre gratitude à Madame Roula Sadjia qui n'a jamais cessé de nous témoigner et de nous prodiguer ses précieux conseils.

Nous tenons aussi à passer nos vifs remerciements à tous les professeurs du département de biologie ainsi qu'à tous ceux qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire, en particulier :

- Mer Sebti Mohamed, professeurs en botanique à l'université de Jijel, pour son aide et ses précieux conseils.
- Monsieur Laib Essaid, professeur pour son aide et sa patience.
- Monsieur Lahouel Mesbah, Docteur en toxicologie à l'université de Jijel, pour son aide.
- Mademoiselle Boussena Widade, pour son aide

A Wazima, Sonia et Houriate, techniciennes du laboratoire de biologie de l'université de Jijel.

Nous remercions très vivement Mr : Idoui Tayeb, Mme Benhamada Wahiba d'avoir accepté de juger cet humble travail

Rachida

Ismahane

إسمهان

SOMMAIRE

	Introduction	1
I-	Analyse bibliographique	2
I-1-	Les plantes médicinales	2
I-1-1-	Généralités sur les plantes médicinales	2
I-1-1-1-	Les principes actifs	2
I-1-2-	les renoncules	3
I-1-2-1-	Les renonculacées	4
I-1-2-2-	<i>Ranunculus</i>	4
a-	<i>Ranunculus repens L.</i>	4
a-1-	Systématique	4
a-2-	Les caractères généraux de l'espèce	4
a-3-	Emploi en pratique populaire	5
a-4-	Les effets indésirables de la plante <i>Ranunculus repens L.</i>	5
I-2-	Les polyphénols	6
I-2-1-	Définition et classification	6
I-2-2-	Les différentes familles des composés phénoliques largement répandus (composés phénoliques communs)	7
a-	Généralités –Structure de polyphénols	7
b-	Les acides phénols et les coumarines	9
c-	Les flavones , flavonols et composés voisins	9
d-	Les chalcones, déhydrochalcones et auronnes	9
e-	Les antocyanes	9
		9
I-2-3-	Activités des flavonoides	9
a-	Activité anti-oxydante	9
b-	Activité anti-cancéreuse	9
c-	Action sur la perméabilité capillaire	9
d-	Activité anti-inflammatoire	10
e-	Action sur les maladies cardio-vasculaire	10
I-2-4-	Utilisation taxonomique des composés phénoliques	10
I-2-5-	Application des composés phénoliques à génétiques	11
I-2-6-	Rôles des polyphénols	12
a-	Rôle biologique des polyphénols	12
b-	Rôle de défense	12
c-	Rôle pharmaceutique	13
d-	Rôle des flavonoides dans la coloration des végétaux	13
d-1	Rôle des anthocyanes	13
d-2	Rôle des flavones et composés voisins	14
d-3	Rôle physiologique	14
I-3-	Les principaux agresseurs bactériens	15
I-3-1-	Les bacilles à Gram négatifs	15
I-3-1-1-	<i>Eschérichia coli</i>	15
I-3-1-2-	<i>Klebsiella</i>	16

1-3-1-3-	<i>Pseudomonas</i>	17
1-3-1-4-	<i>Proteus</i>	17
-3-1-5-	<i>Salmonella</i>	18
1-3-2-	Les cocci à Gram positif	19
-3-2-1-	<i>Staphylococcus</i>	19
1-3-2-1-1-	<i>Staphylococcus aureus</i>	19
1-3-2-1-2-	<i>Staphylococcus épidermidis</i>	19
1-3-2-2-	<i>Streptococcus</i>	20
II-	Matériels et méthodes	22
II-1-	Matériels	22
II-2-	Méthodes	22
II-2-1-	Méthodes d'extraction des principes actifs (polyphénols) de la plante <i>Ranunculus repens L.</i>	22
II-2-2-	Préparation des dilutions	27
II-3-	La séparation par chromatographie sur couche mince (CCM).	27
II-4-	Evaluation de l'activité antibactérienne	28
1-	La sensibilité aux agents antimicrobiens	28
2-	Test de diffusion	28
III-	Les résultats	31
III-1-	Les résultats de l'extraction	31
III-2-	Les résultats de la CCM	31
III-3-	Les résultats du test de diffusion	31
III-2-1-	Activité antibactérienne de l'extrait de <i>Ranunculus repens L.</i>	31
III-3-2-	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (C.M.I)	36
IV-	Discussion	40
V-	Conclusion	42
	Bibliographie	
	Annexe	

Introduction

Introduction :

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes de nouvelles molécules actives ou de matières premières pour la semi-synthèse. [4]

On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plante sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. L'isolement de principes actifs datant du XIX^{ème} siècle, en améliorant la connaissance des structures a fait progressivement se séparer et parfois s'opposer une phytothérapie traditionnelle souvent empirique avec une thérapeutique officielle incluant les principes chimiques et végétaux dont la pharmacologie était mieux connue. Cette thérapeutique officielle accepte parfois avec une certaine méfiance d'emploi de végétaux ou d'extraits complexes de végétaux dont l'action est confirmée par l'usage sans être attribuée de façon certaine à une molécule type. [4]

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basés sur les cultures in vivo et in vitro de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antiradicaux.

La liste de plantes entrants précisément dans ce cadre est exhaustive et comme elles sont utilisées sous forme de tisanes, extraits ou préparations complexes, il reste difficile de définir les molécules responsables de l'action bien que certains effets pharmacologiques prouvés sur l'animal aient été attribués à des composés tels que les composés polyphénoliques, les alcaloïdes et dérivés des terpènes et stéroïdes [4].

Parmi les plantes dites médicinales utilisées dans la région de Jijel :

Ranunculus repens L. : sur laquelle le travail rapporté ici, et qui consiste dans une première étape à réaliser l'extraction et la séparation des principes actifs de la plante. Dans une deuxième étape à tester l'activité antibactérienne de l'extrait de cette plante sur des germes in vitro, et déterminer leur concentration minimale inhibitrice.

analyse
Bibliographique

Plantes médicinales

I-1- Les plantes médicinales :

I-1-1- Généralités sur les plantes médicinales :

La plante est un réservoir de principes actifs qui sont toujours liés à d'autres substances qui contrôlent et même modifient leur action [22].

La manière la plus commune de se traiter par la phytothérapie consiste à utiliser une seule plante ou <<simple>> pour un besoin précis [22]. Une même plante peut cependant s'employer de diverses façons : ainsi la renoncule se boit en infusion (infuser seulement avec de l'eau chaude) contre les affections fébriles en particulier contre la grippe [22]. Cette souplesse d'emploi permet de trouver facilement l'espèce et le mode d'administration qui convient à chaque cas [8].

L'emploi des simples à bon escient constitue l'un des trésors offerts par les plantes médicinales. Elles s'utilisent sous diverses formes : pommade, cataplasmes, gargarismes, vaporisation pour la maison, bains de mains ou de pieds...etc.

- les pommades : <<attirent>> les corps étrangers ou les agents infectieux vers la surface de la peau. Les furoncles et les abcès se traitent ainsi.
- Les cataplasmes : soignent les infections, apaisent, réchauffent, favorisent l'élimination et la guérison.
- Les gargarismes : soignent les maux de gorge, ils sont également conseillers pour les problèmes de gencives.

Donc la plante médicinale peut rendre de bons services même dans des maladies plus graves, comme certaines éruptions cutanées ou les maladies pulmonaires [8].

I-1-1-1- Les principes actifs :

Les principes actifs des substances chimiques bien définies qui ont une action sur la physiologie animale en principe une plante ne doit pas être administrée pour l'action de l'un de ses composants, mais bien pour l'effet combiné de tous ceux qu'elle recèle [27].

Les principes actifs les plus importants sont :

* les alcaloïdes, les anthraquinones, flavonoïdes, hétérosides, huiles essentielles, les antibiotiques.... [8,27].

I-1-2- Les renoncules :

Ce sont des plantes herbacées, ils appartiennent à la famille des renonculacées.

La renoncule la plus connue est le bouton d'or dont les fleurs d'un jaune très vif ont un aspect vernissé. Il existe également des espèces à fleurs blanches : les renoncules de montagne, les renoncules d'eau. [28]

Les feuilles des renoncules ont généralement un contour anguleux ou même découpé, ce découpage peut être poussé à l'extrême chez les espèces aquatiques, ou le limbe finit par se résoudre en lanière capillaire. En revanche, les boutons d'or de marécage portent des feuilles simples qui ressemblent beaucoup à celles des graminées, certaines espèces ont une feuille caulinare élargie en forme de rein (Par exemple, le *Ranunculus thora*, plante toxique qui pousse en montagne). [28]

Il existe des renoncules qui sont considérées comme de mauvaises herbes, car elles se multiplient très rapidement et sont dotées de racines tenaces. De plus, leur légère toxicité et leur âcreté les rendent indésirables dans les pâturages [28].

Les principes actifs des renoncules et leurs actions :

Toutes les espèces de renoncules contiennent, en quantités variables dans les feuilles et les tiges des plantes fraîches, une substance très irritante, l'anémonele, qui au séchage se transforme en une substance moins active, l'anémone. Il s'ensuit que les renoncules séchées ne sont plus vénéneuses. Cette action irritante est spécialement marquée chez la *Ranunculus thora*, renoncule vénéneuse à fleurs jaunes, comme aussi chez la renoncule vésicante, *Ranunculus scleratus* et la *Ranunculus âcre*. On constate cette irritation en frottant la peau avec des parties de la plante fraîches ; il apparaît une vive rougeur locale. Il s'y forme plus tard des ampoules contenant de l'eau. La renoncule des glaciers (*Ranunculus glacialis*) n'est que peu irritante pour la peau : par contre selon une pratique populaire, elle aurait une action fébrifuge et anti-inflammatoire dans l'angine et les inflammations de la bouche et de la gorge. Cette action demande à être vérifiée [22].

I-1-2-1- Les renonculacées :

La famille des renunculaceae qui, selon les botanistes, comprendrait une quarantaine de genres et 1500 à 1800 espèces est cosmopolite mais surtout présente dans les régions tempérées et froides de l'hémisphère nord [5].

I-1-2-2- *Ranunculus* :

Appelés aussi « bouton d'or », en latin : renoncule. c'est-à-dire grenouille [22], ce genre comprend environ 300 espèces [5].

Ranunculus repens L : nom commun : renoncule rampante. La renoncule rampante est vivace, sa souche est courte, ses racines fibreuses. L'appareil végétatif comprend habituellement des rosettes et stolons rampants, radicants aux nœuds. [7].

a-1- Systématique : [25]

- Phylum : Dicotylédone
- Famille : Ranunculaceae
- Ordre : Ranale ou polycarpique
- Subclasse : Renonculoide
- Genre : *Ranunculus*
- Espèces : *Ranunculus repens*
- Nom arabe : Mergheris
- Nom commun : Renoncule rampante
- Synonyme du nom commun : bouton d'or [22]
- Nom commun en anglais : Creeping buttercup [7]

a-2- Les caractères généraux de l'espèce :

- **Origine du nom** : Le nom du genre signifie petite grenouille car certaines espèces vivent dans des endroits marécageux [7].
- **Description** : Plante de 20 à 50 cm de hauteur, fleurs jaunes de 2 à 2,5 cm de diamètre, isolées à l'aisselle des feuilles se reconnaît facilement par ces tiges stolonifères qui s'enracinent aux nœuds [7].
- **Habitat** : très commune, se rencontre dans les lieux ombragés et suffisamment humides (prairies, jardin, chemins) [7].

- **Parties à utiliser** : toute la plante [22].
- **Période de récolte** : la plante est plus riche en principe actif un peu avant la floraison, mais elle conserve plus ou moins ses caractéristiques toute la belle saison [25].
- **Feuilles** : premières feuilles : plus larges que longues et à base échancrée ; le limbe d'abord divisé en 3 grosses dents devient profondément découpé en 3 lobes eux-mêmes dentés, les pétioles sont longs [7].
- **Feuilles matures** : feuilles comportant 3 segments dont le bord est denté a profondément découpé ; le segment médian à son propre petit pétiole.
- **Pousse végétative** : plantes à port rampant et à stolons (tiges qui courent sur le sol et qui s'enracinent aux nœuds) [7].
- **Plante adulte** : la tige est plus ou moins dressées, 20 à 30 cm de hauteur les feuilles sont longuement pétiolées [7].
- **Fleurs** : (1,5 à 2 cm de diamètre) d'un jaune brillant, portées par des pédoncules courtes et peu feuillées. Fruits réunis en petites masses globuleuses, le fruit est un akène (fruit sec ne s'ouvrant pas à maturité) aplatie avec un bec en crochet.

a-3- Emploi en pratique populaire :

Les renoncules rampantes sont rarement employées en médecine ; ce sont des plantes caustiques qui peuvent provoquer des brûlures buccales si elles sont mâchées [7].

a-4- Les effets indésirables de *Ranunculus repens L* :

L'extrait aqueux de cette plante a été longtemps utilisé dans le traitement traditionnel du cancer et de la gangrène par voie orale et cutanée sont toute fois apportés des preuves scientifiques sur son efficacité et sa toxicité. [29]

Des travaux de recherches ont été effectués dans ce contexte et ont montré que la *Ranunculus repens L* peut être utilisée dans les traitements locaux mais elle risque d'aggraver une pathologie anti-cancéreuse lorsqu'elle serait utilisée par voie orale [29].



Fig 1 : *Ranunculus repens* L [27]

Les polyphénols

I-2- Les polyphénols :

I-2-1- Définition et classification :

Les polyphénols sont une famille de métabolites secondaires des plantes ils comprennent une grande diversité de molécules basées sur un ou plusieurs motifs phénol plus ou moins substitués et présentant des structures et des propriétés très variées. Ils participent aux mécanismes de défense de la plante (protection contre les attaques fongiques, contre le rayonnement U V, ...). Ce sont aussi les pigments de la plupart des fleurs et des fruits rouges ou bleus et de ce fait ils contribuent à l'attraction des insectes pollinisateurs et à la dissémination des graines [29]

Ils se répartissent en trois groupes : les colorants jaunes qui sont les flavonols, les colorants rouges qui sont les anthocyanes et les catéchines qui sont incolores. Ces trois types de substances sont extrêmement intéressants et également les plus répandus. Ils se combinent entre eux, et les variations de combinaisons sont très complexes, leur conférant des propriétés variables. Il semblerait que dans les polyphénols il existe une propriété qui est fondamentale : ce sont les antioxydants.

Plusieurs classes de composés phénoliques anti-oxydants peuvent être séparées entre les flavonoïdes (groupe le plus important) et les non flavonoïdes. Les classes les plus significatives des flavonoïdes sont des catéchines et leurs oligomères localisés dans les pépins de la baie de raisin, les flavonols et les anthocyanidols provenant des pellicules. Les polymères de flavonoïdes. Communément appelés tannins sont formés de l'enchaînement de 2 ou plus (jusqu'à 10) molécules élémentaires. Les oligomères de catéchines (2 à 5 molécules élémentaires) sont dénommées procyanidine. Il existe aussi plusieurs groupes de non flavonoïdes comme les dérivées de l'acide benzoïque, les acides hydroxycinnamiques abondant dans la pulpe du fruit ainsi que les dérivés du stilbene comme le resvératrol [30]. Aussi est-il convenu actuellement de faire une distinction essentielle entre les substances en les répartissant en 3 groupe :

- les familles de composés phénoliques largement répandus
- les familles de composés phénoliques peu répandus
- les familles de composés phénoliques présents dans la nature sous forme de polymères [12].

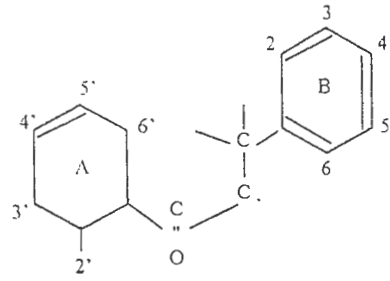
1-2-2- Les différentes familles de composés phénoliques largement répandus (composés phénoliques communs) :

a- Généralités – structure des flavonoïdes :

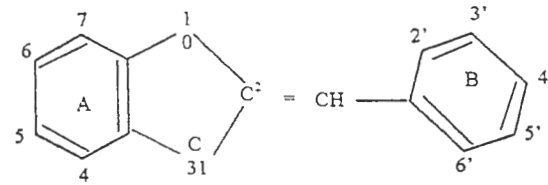
Les composés phénoliques communs sont conventionnellement représentés dans les 4 groupes suivants :

- les acides benzoïques, les acides cinnamiques et les coumarines ;
- Les flavones, flavonols et dérivés voisins ;
- Les chalcones ,dihydrochalcones et aurones ;
- Les anthocyanes.

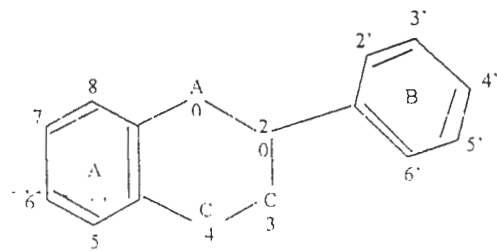
L'ensemble des substances des trois derniers groupes constituent les « flavonoïdes », caractérisés par une structure commune [13].



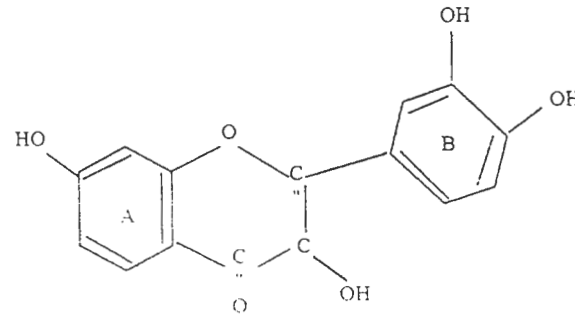
Chalcones et dihydrochalcones



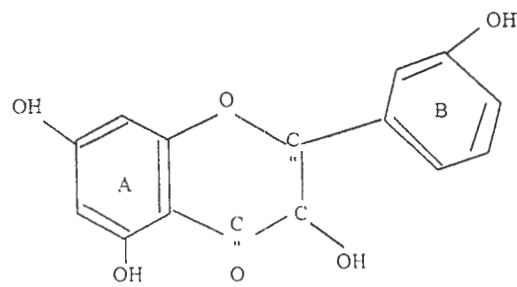
Aurones



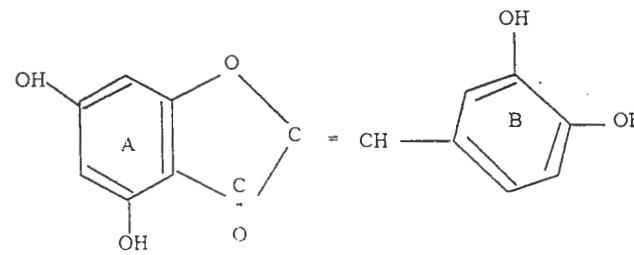
Autres Flavonoïdes



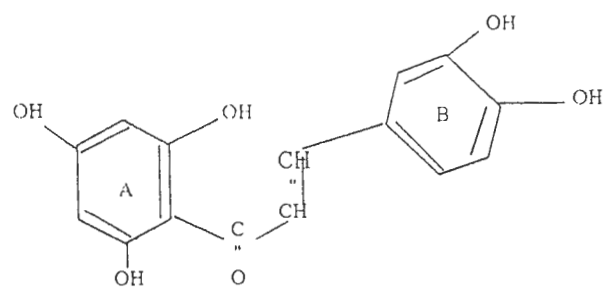
Flavonol Fisétine



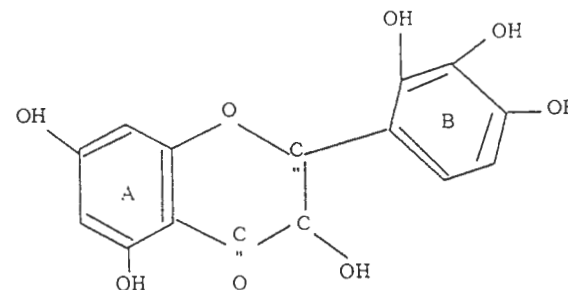
Flavonol Kaempféol



Aurone aureusidine



Chalcone butéine



Flavonol myricétine

Figure 2 : les composés phénoliques les plus répandus [13].

b- Les acides phénols et les coumarines :

Les acides cinamiques sont au nombre de quatre ; pratiquement tous les organes végétaux contiennent au moins l'un d'eux. Les acides p-coumariques et caféique sont parmi les composés phénoliques les plus répandus [24].

c- Les flavones, flavonols et composés voisins :

Parmi ces composés, les flavonols (hydroxy-3 flavones) sont de beaucoup les plus répandus. les trois principales structures (kaempférol, quercétine et myricétine) la quercétine est sans doute les composés phénoliques les plus répandus dans la nature [9].

d- Les chalcones ,dihydrochalcones et aurones :

Les chalcones et aurones sont des pigments jaunes des fleurs ; leurs colorations vire au rouge ou au rouge orange en présence d'ammoniaque [26].

e- Les anthocyanes :

Ce sont des pigments rouges en milieu acide, virant au bleu en milieu alcalin et dans certaines conditions (formation d'ion complexe interne avec les métaux) ; ils sont très répandus dans les fleurs et dans les fruits [16].

I-2-3- Activité des flavonoïdes :**a- Activité antioxydante :**

L'activité antioxydante réside dans les radicaux libres. ce sont les formes réactives de l'oxygène qui détiennent un électron non apparié, hyperactifs et qui de plus peuvent attirer un électron des molécules adjacents pour remplir la vacance de leur orbite [10].

Les radicaux libres sont dits agressifs et peuvent même causer des dommages et des lésions sur l'ADN et donc les protéines et peuvent surtout nuire aux lipides membranaires. Les flavonoïdes ont la capacité de capturer les radicaux libres [10].

b- Activité anti-cancéreuse :

De nombreuses expérimentations ont démontré que les flavonoïdes agissent dans le cadre médical en inhibant la croissance et le développement de cellules cancéreuses, elles ont donc pour effet d'agir sur les cellules tumorales afin de nous protéger contre le cancer [10].

c- Action sur la perméabilité capillaire :

Les flavonoïdes diminuent la perméabilité des capillaires selon deux modes direct avec participation de la vitamine C et indirect.

d- Activité anti-inflammatoire :

Les flavonoïdes ont une propriété anti-inflammatoire grâce à leur capacité de réagir contre les histamines et d'autres médiateurs d'inflammation [10].

e- Action sur les maladies cardio-vasculaires :

Plusieurs études ont démontré que l'addition des flavonoïdes à la diète diminue le cholestérol [10].

Les flavonoïdes sont dotées de certaines activités dans le tableau 1 :

Tableau 1 : activités biologiques des composés polyphénoliques [11].

Polyphénols	Activités
Acides phénols (cinnamiques et benzoïque)	Antibactériennes, antifongiques, antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales, anticarcinogènes, antiinflammatoires, hypertenseurs, diurétiques, antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaroaveineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydantes, antitumorales, antifongiques, anti-inflammatoires
Tannins galliques et catéchiques	Antioxydantes

I-2-4- Utilisation taxonomique des composés phénoliques :

La classification des espèces végétales basée sur des critères morphologiques, anatomiques et paléontologiques est sujette de nos jours à une perpétuelle évolution. En effet les caractères chimiques sont de plus en plus utilisés grâce aux progrès de la biochimie végétale liés à l'utilisation de la chromatographie sur papier.

Pour qu'un composé chimique puisse jouer un rôle, comme indicateur taxonomique, il doit remplir certaines conditions, entre autres :

- il ne doit pas appartenir aux constituants principaux (glucides, acides, organiques,...).
- réciproquement, il ne doit pas avoir une structure trop complexe, élaborée par un nombre restreint d'espèces particulières.
- Il doit s'accumuler et par conséquent intervenir de façon limitée dans les réactions du métabolisme.
- Il doit être facile à détecter.

Les composés phénoliques, remplissant ces conditions de façons satisfaisantes, peuvent jouer en chimiotaxonomie végétale un rôle important [3, 19, 12].

Les travaux de Bate Smith constituent, à l'heure actuelle l'étude la plus importante de la répartition des composés phénoliques chez les végétaux puisqu'elle porte sur plus d'un millier d'espèce d'angiospermes (monocotylédones et dicotylédones); ces travaux ont permis, d'une part de monter une certaine spécificité dans la répartition des composés phénoliques par exemple :

- Les isoflavone se rencontrent fréquemment chez les légumineuses et plus particulièrement dans les sous-famille des papilionacés et des lotées.
- La présence d'acide ellagique se limite aux dicotylédones, il est absent chez les monocotylédones, chez angiospermes et chez les fougères.

D'autres part des combinaisons d'ordre taxonomiques et phylogénétique ont pu être tirées de la considération des composés phénoliques, Par exemple :

- existence entre le caractère ligneux des plantes et la présence de leucoanthocyanes, c'est-à-dire de tanins, ces corps sont beaucoup moins présents chez les plantes herbacées que chez les plantes ligneuses.
- La considération des différents composés phénoliques à permis de proposer une modification de la classification actuelle de l'ordre des urticales [22].

I-2-5- Application des composés phénoliques à la génétique :

De nos jours la génétique est une discipline qui connaît de profonds développements due aux progrès accomplis dans la connaissance des gènes et plus particulièrement de la structure des acides nucléiques. le modèle de Watson et Crick permet une interprétation satisfaisante du mécanisme de la duplication des gènes et du transfert des caractères héréditaires.



Les généticiens ont toujours porté un intérêt particulier à la pigmentation des organes végétaux en raison de la facilité du suivi de ce caractère apparent. Dans ce domaine également, le développement des techniques chromatographiques a donné une impulsion considérable aux travaux des recherches concernant plus particulièrement les Anthocyanes. Ces travaux ont fait l'objet d'une analyse poussée notamment par Harborne (1963) et par Alston (1964) [1]. Le but de telles études est d'interpréter, conformément aux lois de la génétique, les modifications de la nature des composés phénoliques observés entre différentes plantes issus de croisement entre variétés voisines. Dans le cas des flavonoïdes, les différents composés naturels dérivent les uns des autres par des modifications structurales relativement simple et il a été montré [14] que le plus souvent, à chacune des réactions chimiques élémentaires correspondantes, c'est-à-dire à chaque enzyme, est associé un seul gène. C'est ainsi que plusieurs travaux ont été et sont actuellement menés dans le contrôle génétique de la formation des flavonoïdes en vue de l'obtention de variétés végétales présentant un intérêt économique (horticulture, viticulture,...) ou analytiques [23].

I-2-6- Rôles des polyphénols :

a- Rôle biologiques des polyphénols :

Les pigments responsables de la coloration des fleurs représentent des signaux visuels qui attirent des animaux pollinisateurs. La plus part de ces pigments sont des anthocyanes, des aurones et des chalcones.

D'autre part, les polyphénols sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature et de ce fait sont des éléments faisant parties de l'alimentation animale. à titre d'exemple, l'homme consomme jusqu'à 10 g de ces composés par jour.

Rôle de défense :

Des composés phénoliques sont impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques des phénols simples sont synthétisés et l'activité peroxydasiques caractéristique des tissus en voie de lignification est stimulée. Ces réactions aboutissent à la formation au niveau de la blessure d'un tissu cicatriciel résistant aux infections [15], la capacité d'une espèce végétale a résister à l'attaque des insectes et des microorganismes et souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques [1].

c- Rôle pharmaceutique :

Nous mettrons ici l'accent sur l'intérêt grandissant des proanthocyanidines. En effet, les propriétés vasculoprotectrices de ces dérivés sont supérieures à celles de la rutine, utilisée en thérapeutiques sous formes de dérivés hémisynthétiques hydrosolubles, et des flavonoïdes classiques. Des spécialités pharmaceutiques contiennent soit uniquement des oligomères procyanidoliques (notamment extraits de pépins de raisin) soit des extraits totaux contenant ces composés en proportion importante. Des crèmes "anti-vieillessement" contenant des proanthocyanidines proposés en cosmétologie. La littérature montre également pour ces substances un intérêt renouvelé lié aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires [2].

d- Rôle des flavonoïdes dans la coloration des végétaux :

Les flavonoïdes, pigments hydrosolubles, sont avec les chlorophylles et les caroténoïdes, pigments liposolubles, les principaux facteurs de la coloration des plantes. Ces substances sont responsables, pour la plus grande part des colorations rouges, bleues et violettes des organes végétaux, elles participent également aux colorations jaunes, mais dans ce cas ce sont les caroténoïdes qui jouent le rôle le plus important. Les flavonoïdes les plus impliqués dans ce rôle sont par ordre d'importance : les anthocyanes, les flavones et les composés voisins [19].

d-1- Rôle des anthocyanes :

Par suite de leur ionisation, les anthocyanes présentent des couleurs différentes pour les dérivés pH ; du rouge – orange en milieu acide au bleu – mauve en milieu basique. En réalité, la couleur de ces pigments dépend aussi des facteurs structuraux ainsi l'hydroxylation du noyau latéral (B) est le facteur prépondérant.

La partie sucrée n'intervient pratiquement pas. En outre la chélation éventuelle de ces anthocyanes avec des métaux ou leur combinaison avec des peptides peut modifier la couleur. De même la présence de flavones, par un phénomène de co-pigmentation peut entraîner une modification importante de coloration, et notamment permettent une émission en U.V visible de nombreux insectes.

Notons enfin que les anthocyanes des feuilles sont chimiquement plus simple que celles des fleurs ou des fruits, le pigment qu'on y rencontre le plus fréquemment est la cyanidine sous sa forme hétérosidique la plus simple, le monoglucoside-3. [3]

d-2- Rôle de flavones et composés voisins :

Les feuilles contiennent différents pigments flavoniques, mais la coloration propre de ces pigments est généralement masquée par celle des chlorophylles. Dans les fleurs et les fruits ces pigments interviennent également assez peu dans la coloration jaune, car ils sont le plus souvent d'un jaune pâle ou incolores ; les caroténoïdes jouent le rôle le plus important. Harbone (1965) note que les flavonoïdes participent à la coloration jaune dans quatre cas :

- intervention des chalcones et aurones qui sont d'un jaune foncé ; la couleur des pétales exposés à des vapeurs ammoniacales vire au rouge.
- Intervention de flavonols particuliers, quercetagine et gossypétine hydroxylés en 8.
- Intervention d'anthocyanidines non hydroxylées en 3 (apiginidine et luteolinidine).
- Intervention des betaxanthines, pigments jaunes azotés.

Les fleurs crème ivoire ou blanches contiennent pratiquement toutes des flavonoïdes incolores (flavones et flavonols) qui ne sont pas responsables de la coloration mais peuvent la modifier [12].

e- Rôle physiologique :

Les flavonoïdes jouent un rôle : dans la croissance, la respiration, la morphogénèse, ainsi les équilibres enzymatiques interviendraient à différents stades du développement [17].

Les agresseurs bactériens

I-3- Les principaux agresseurs bactériens :

I-3-1- Les bacilles à Gram négatif :

I-3-1-1- *Escherichia coli* :

a- caractères bactériologiques :

Bacille à Gram négatif appartenant à la famille des Entérobactéries. *E. coli* produit habituellement de l'indole, fermente le lactose, mais ne produit pas d'acétoïne. Cependant la totalité des caractères biochimique ne sont pas identiques pour toutes les souches. Cela permet de reconnaître des biotypes .Ce qui a un intérêt épidémiologique [18].

b- Habitat :

E. coli est un hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux. Chez l'homme, il est présent à raison de 10^7 à 10^9 bactéries par grammes de selles. Densité cependant très inférieure à celle des germes anaérobies.

La présence de *E. coli* dans l'environnement est le témoin d'une contamination fécale, c'est pourquoi on procède systématiquement à sa détection dans les eaux d'alimentation (colimétrie) [18].

c- Pouvoir pathogène :

1/ Infection extra intestinales :

E. coli est connu comme agent pathogène au cours d'infections diverses :

- urinaires : la majorité de ces infections est due à *E. coli*
- Abdominales : cholécystites, péritonites, salpingites.
- méningées : méningites néonatales [18].

2/ Infection intestinales :

Comme depuis les années 40, l'existence de diarrhées dues à *E. coli* avait été difficile à faire admettre. Les diarrhées infectieuses à *E. coli* peuvent revêtir des formes différentes et les mécanismes physiopathologiques varient [18].

d- Sensibilité aux antibiotiques :

Les souches de *E. coli* notamment celles responsables d'infections observées en pratiques de ville, sont sensibles à la plupart des antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram négatif.

Au contraire, les souches de *E. coli* enteropathogènes (E.P.E.C) résistent souvent à de nombreux antibiotiques. Des souches multi-résistantes sont souvent isolées lors d'épidémies graves, et il est possible que la résistance multiple soit associée à une virulence accrue [18].

I-3-1-2- Klebsiella :

a- Caractères bactériologiques :

Les *Klebsiella* sont des gros bacilles à Gram négatif immobiles, entourés d'une capsule qui appartenant à la famille des enterobacteriaceae. Elles ont une réaction de Voges-Proskauer positif et appartiennent donc au groupe de V. P (+) que l'on préfère désigner aujourd'hui comme groupe des K.E.S (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*). Sur milieu gélosé, les colonies sont caractéristiques : elles sont volumineuses, bombées, brillantes et très visqueuses à cause de la capsule. Les *Klebsiella* fermentent de nombreux sucres avec production de gaz, mais elles ne sont pas protéolytiques [18].

b- Habitat et épidémiologie :

Les *Klebsiella* sont très répandues dans la nature. On les trouve dans l'eau, le sol, la poussière. Ce sont aussi des bactéries commensales du tube digestif de l'homme et des animaux. Chez l'homme on peut les retrouver dans l'oropharynx.

Le portage digestif de *Klebsiella* est plus important chez les malades hospitalisés que dans la population normale. Sur les mains du personnel et sur les objets de l'environnement dans les services hospitaliers, la présence de *Klebsiella* est très fréquente, la transmission des *Klebsiella* d'un malade à l'autre est habituellement manuelle. Des épidémies hospitalières peuvent survenir [18].

c- Pouvoir pathogène :

Les *Klebsiella* sont fréquemment responsables d'infections opportunistes chez des malades hospitalisés :

- infections broncho-pulmonaires en réanimation.
- Infections urinaires souvent consécutives à des manœuvres instrumentales.
- Infections généralisées (septicémies ou bactériémies lors d'un cathétérisme), qui sont fréquemment responsables d'un choc endotoxinique, le taux de mortalité est élevé ;
- Infections méningées post-traumatiques ou post-chirurgicales.

d- Sensibilité aux antibiotiques :

Les *Klebsiella* posent souvent des problèmes d'antibiothérapies. Elles ont une résistance naturelle à l'ampicilline et à la carbénicilline, due à la production d'une pénicilline à laquelle les céphalosporines sont insensibles [18] .

I-3-1-3- *Pseudomonas* :

a- Caractères généraux :

Le genre *Pseudomonas* est constitué de bacilles à Gram négatif. Mobiles grâce à une ciliature polaire (ou rarement immobiles). Aérobie stricts, ils ont un métabolisme respiratoire et possèdent presque toujours une oxydase.

Les nombreuses autres espèces du genre *Pseudomonas* sont des bactéries de l'environnement. Elles se trouvent préférentiellement dans l'eau, sur le sol, et sur les plantes. Pour beaucoup d'entre elles, la température optimale de croissance est de 30°C et non 37°C. Ces espèces sont des bactéries opportunistes, elles peuvent être responsables d'infections hospitalières survenant chez des malades fragilisés.

La diffusion de ces espèces en milieu hospitalier est favorisée par leur résistance habituelle aux antibiotiques et aux antiseptiques. [18].

b- Pouvoir pathogène :

Le genre *Pseudomonas* est très hétérogène et le nombre d'espèces est important, à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui est très souvent rencontré en bactériologie clinique et dont le rôle pathogène ne fait pas de doute, les autres espèces ont un pouvoir pathogène plus discutable. Elles peuvent cependant être responsables de bactériémies chez des malades dont les défenses sont diminuées [18].

I-3-1-4- *Proteus* :

Les *Proteus* sont des entérobactéries responsables de nombreuses infections chez l'homme en particulier chez les malades hospitalisés. Ils sont des germes ubiquitaires largement répandus dans la nature, retrouvés dans l'eau, le sol et sur de nombreux végétaux, où ils participent aux cycles de dégradation des matières organiques, ils font partie de la flore commensale de l'intestin de l'homme et de nombreux animaux [17].

I-3-1-5-Salmonella :

a- Caractères bactériologiques : Les bactéries du genre *Salmonella* appartiennent à la famille des enterobactériaceae. Les caractères qui permettent d'identifier une *Salmonella* sont l'absence de fermentation du lactose. L'absence de bêta-galotosidase, d'uréase et de production d'indole. Ces bactéries sont mobiles, produisent de l'H₂S et ont une lysine décarboxylase mais des exceptions existent [18].

b- Habitat et épidémiologie :

Les *Salmonella* sont avant tout des parasites du tube digestif de l'homme et des animaux. Après la maladie, certains sujets restent porteurs sains et éliminent pendant plusieurs mois des *Salmonella* dans leurs selles. Les *Salmonella* sont retrouvées dans le milieu extérieur, dans les eaux d'égouts en particulier. Des *Salmonella* sont aussi fréquemment retrouvées dans les farines de poisson ou poudres d'os utilisées pour l'alimentation des animaux.

La contamination de l'homme se fait par voie buccale [18].

c- Pouvoir pathogène :

Les salmonelloses peuvent revêtir trois aspects :

- 1) **les formes septicémiques :** ce sont d'abord les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes dues aux sérotypes *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphie A*, B ou C.
- 2) **les formes purement digestives :** les toxi-infections alimentaires à *salmonella* se manifestent par des diarrhées, des vomissements et de la fièvre.
- 3) **Les formes extradigestives :** elles sont plus rares : cholécystite, méningite, ostéomyélite, spondylodiscite, glomérulonéphrite, atteinte pulmonaire.

d- Sensibilité aux antibiotiques :

Il faut de croire que les *salmonella* sont toujours sensibles aux antibiotiques [18].

II-3-2- Les cocci à Gram positif

II-3-2-1- : *Staphylococcus*

1- *Staphylococcus aureus* :

a- Caractères bactériologique :

Cette espèce, rencontrée tous les jours au laboratoire de bactériologie médicale, donne des colonies ayant le mannitol sur milieu de Chapman [18].

b- Habitat :

Staphylococcus aureus est un germe ubiquitaire retrouvé dans le sol, l'air et l'eau, c'est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme. On le trouve à l'état normal dans l'oropharynx dans les selles, un tiers des individus est porteur de *Staphylococcus aureus* au niveau de leurs fosses nasales [18].

c- Pouvoir pathogène :

Les manifestations pathologiques dues à *Staphylococcus aureus* sont très nombreuses, elles sont très suppuratives et nécrotiques.

d- Sensibilité aux antibiotiques :

La pénicilline G est très active sur les souches de *Staphylococcus aureus* non productrices de pénicillinase, mais elles sont rares aujourd'hui les pénicilline semi synthétiques du groupe méthicilline- oxacilline ne sont pas détruites par la pénicillinase de *Staphylococcus aureus*. Ce sont d'excellents antibiotiques antistaphylococciques.

2) *Staphylococcus épidermiques* :

a- Caractères bactériologiques :

Cette espèce ne produit pas de staphylocoagulase ni la plupart des enzymes produits par *Staphylococcus aureus* elle ne fermente pas le mannitol sur milieu de Chapman.

Staphylococcus epidermidis fait partie de flore normale de la peau et des muqueuses de l'homme dont il constitue probablement un élément d'équilibre de son pouvoir pathogène. Sa présence dans un produit pathologique est souvent considérée comme une souillure consécutive à une erreur technique au moment du prélèvement.

b- Pouvoir pathogène :

Pour affirmer le rôle pathogène de *Staphylococcus epidermidis*, il faut exiger certains critères : conditions rigoureuses d'asepsie du prélèvement, présence de la même souche à plusieurs reprises dans le même type de prélèvement, absence d'autre espèce bactérienne dans le prélèvement.

c- Sensibilité aux antibiotiques :

Les souches de *Staphylococcus epidermidis* ne sont pas plus sensibles aux antibiotiques que celles de *Staphylococcus aureus*. Certaines d'entre elles résistantes aux pénicillines du groupe de la méthicilline ainsi qu'à d'autres antibiotiques. Une souche de *Staphylococcus epidermidis* responsable d'une infection généralisée doit être traitée par un antibiotique bactéricide [18].

II-3-2-2- Streptococcus :

a- Caractères bactériologiques :

Le genre *Streptococcus* regroupe un grand nombre d'espèces aéro-anaérobies très différentes, caractérisées par leur morphologie (cocci à Gram positif disposés en chaînettes), un métabolisme fermentatif et l'absence de catalase, en fait ce sont des anaérobies aérotolestants. Les espèces anaérobies strictes sont actuellement regroupées dans le genre *Peptostreptococcus* [18].

Les streptocoques sont des germes fragiles, sensibles à l'acidité. Leur culture en aérobie parfois lente et difficile. Certaines espèces ont besoin de milieu enrichis. La gélose au sang convient bien à leur culture on distingue :

- Streptocoque bêta hémolytique.
- Streptocoques alpha hémolytiques [18].

b- Habitat et pouvoir pathogène :

Les streptocoques sont ubiquitaires, certains d'entre eux sont rencontrés dans le milieu extérieur. Ils peuvent survivre longtemps dans celui-ci; ainsi la découverte d'entérocoques dans les eaux ou les aliments signe une contamination fécale d'origine humaine ou animale. D'autres sont plus fragiles et vivent à l'état commensal au niveau des segments ou des muqueuses de l'homme ou des animaux. La pathologie est très variée et la physiopathologie complexe ; on peut distinguer arbitrairement :

- les manifestations locales et régionales :

- angines érythémateuses ou érythémato-pultacées
- abcès périamydaliens, adénites cervicales, adénophlémons.
- Les manifestations générales :
 - Précoces : localisateurs suppurés articulaires
 - Rhumatisme articulaire aigu avec ou sans cardite
- Autres infections :
 - Ostéo-arthrites, infections urinaires, génitales, cutanées
 - Pleuropneumopathies, septicémies, endocardites, méningites [17].

c- Sensibilité aux antibiotiques :

Les streptocoques sont habituellement sensibles aux bêta-lactamines. Les pénicillines sont le traitement à choisir; elles sont plus actives que les céphalosporines [18].

matériel et méthodes

II- Matériel et méthodes :

L'objectif de notre étude est de récolter la plante *Ranunculus repens L*, et de faire l'extraction et la séparation des fractions flavonoïques, puis la détermination de l'activité antibactérienne des poly phénols de *Ranunculus repens L*, cela nécessite des test bactériologiques par différentes méthodes in vitro au niveau du laboratoire afin d'établir l'influence de l'agent antibactérien sur la croissance du germe et la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

II-1-Matériel :

Notre matériel de travail est composé d'un matériel végétal de la plante *Ranunculus repens L* qui est récoltée à partir des plaines de Dhare wassafe dans la région d'El-amir Abdekader.

- Les solvants organiques : éthanol, éther de pétrole, acétate d'éthyle, éther diéthylique, n-butanol.
- Les souches (2 souches d'*E. coli* , *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) ont été isolées de différents produits pathologiques (urines, prélèvement vaginal, selles) au niveau du laboratoire d'hygiène de la Wilaya de Jijel et *Salmonella* à partir de l'eau de Oued Djen Djen et le *Streptococcus* isolé des mammites.
- Les milieux de culture :
 - o Milieux solides, Hektoéne, Chapman, gélose nutritive, Muller Hinton
 - o Milieux liquides : Bouillon nutritif et le milieu SFB qui sont tous issus de l'institut Pasteur d'Algerie.

II-2-Méthodes :

II-2-1- Méthode d'extraction des principes actifs (polyphénols) de la plante *Ranunculus repens L* :

L'extraction du principe actif de la plante *Ranunculus repens L* se fait après la récolte en mois de Mai [27] au stade de floréson. On procède ensuite en plusieurs étapes :

- 1) lavage et séchage : Toutes les parties de la plante sont rincées à l'eau distillée afin d'éliminer les poussières et les impuretés qui peuvent exister elles sont par la suite étalées sur les paillasses sur du papier buvard à l'air libre pendant 6 jours. Ces

étalées sur les paillasses sur du papier buvard à l'air libre pendant 6 jours. Ces plantes sont par la suite placées dans l'étuve pour un séchage à 40°C pendant 3 jours. [27]

2) **Broyage** : une fois la plante sèche, elle est coupée en petits morceaux ces derniers sont placés dans un mortier, où l'on effectue le broyage jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine.

3) **Extraction hydro-éthanolique** : dans un mélange de 300 ml d'eau distillée et de 700 ml d'éthanol (70% éthanol, 30% eau distillée) nous avons laissé macérer 200g de la poudre obtenue de la plante pendant 6 jours.

1 g (matériel végétal) \longrightarrow 5 ml (solution hydro-éthanolique)

200g(matériel végétal) \longrightarrow X

..... X = 1000 ml

1000 ml \longrightarrow 100 %

Y \longrightarrow 70 %

$$Y = \frac{70 \times 1000}{100} = 700 \text{ ml éthanol}$$

1000 - 700 = 300 ml d'eau distillée

4) **Filtration du mélange hydro-éthanolique** : après 6 jours de macération, le mélange est filtré (à l'aide de papier filtre) et la substance organique est ainsi récupérée dans un bûcher. [27]

5) **Evaporation et reprise par l'eau** : l'évaporation des solvants organiques utilisés se fait au moyen du rotavapor pendant une heure de temps à une température de 60°C. l'extrait brut est récupéré dans le ballon d'évaporation quand au solvant grâce au processus de refroidissement, il est à son tour récupéré au niveau du ballon de récupération. l'extrait brut est alors repris par de l'eau bouillante. le mélange est décanté pendant 24 heures [27], le poids d'extrait est égal à 96,71 g.

6) **Deuxième filtration** : pour éliminer toute impureté, nous avons filtré une deuxième fois l'extrait brut. La solution récupérée est appelée « phase aqueuse » cette dernière sera soumise à différents affrontements. [27]

a. **Affrontement par l'éther de pétrole** : il est souvent utile de faire une première extraction modérée du matériel végétal par un solvant non polaire

comme l'éther de pétrole, qui permet d'éliminer, tout au moins en partie les graisses, les cires, les chlorophylles et les caroténoïdes.

Dans une fiole jaugée, 100 ml d'éther de pétrole sont rajoutés à 100 ml de phase aqueuse, après une agitation énergétique, le mélange est laissé reposer pendant 10 minutes. La décantation se fait dans une ampoule à décanter ou l'on obtient deux phases : phase d'éther de pétrole vers le haut et la phase aqueuse vers le bas :

La phase aqueuse est récupérée dans un flacon et déversée une seconde fois dans l'ampoule à décanter dans le but d'obtenir le maximum de produit. [27]

b. Affrontement par l'éther diéthylique :

L'éther est considéré comme le solvant préférentiel des aglycones flavonoïques.

Dans une fiole jaugée, 100 ml d'éther sont rajoutés à 100 ml de la phase aqueuse. Après une agitation énergétique, le mélange est laissé reposer pendant 10 minutes.

La décantation se fait dans une ampoule à décanter où l'on obtient deux phases : phase éther vers le haut et la phase aqueuse vers le bas.

La phase aqueuse est récupérée dans un flacon et déverser une seconde fois dans l'ampoule à décanter dans le but d'obtenir le maximum de produit.

Les deux phases sont séparées dans deux flacons

L'éther est soumis ainsi à une évaporation à sec au niveau du rotavapor à une température égale à 50°C. Après deux heures de temps, les aglycones flavonoïques sont enfin récupérés. Ils sont conservés à basse température (+6°C) [27].

c. Affrontement par l'acétate d'éthyle :

L'acétate d'éthyle est le solvant préférentiel des monoglycosidiques. La phase aqueuse obtenue après affrontement à l'éther est réutilisée pour ce second affrontement. 100 ml d'acétate d'éthyle sont donc déversés dans la phase aqueuse. Après agitation énergétique et repos de 10 minutes, le mélange est décanté au moyen d'une ampoule à décanter. Les deux phases peuvent être

distinguées comme suit ; la phase d'acétate d'éthyle vers le haut, et la phase aqueuse vers le bas. Comme pour l'éther, la phase aqueuse récupérée est remise dans l'ampoule à décanter. L'opération est répétée plusieurs fois dans le but d'obtenir le maximum de substance active c'est-à-dire de monoglycosides.

Ces derniers sont séparés de leur solvant, par évaporation à sec grâce au rotavapor à une température de 60°C et une rotation moyenne de 40 t /mn. Ils sont par la suite conservés à basse température (+6°C) [27].

d. Affrontement par le n – butanol :

Pour séparer les di et triglycosides qui se trouvent dans la phase aqueuse, nous avons ajouté à cette dernière 100 ml de n-butanol qui est leur solvant préférentiel.

Après agitation énergétique et un repos de 10 mn, la décantation aboutit à la séparation des deux phases : la phase n-butanol vers le haut et la phase aqueuse vers le bas.

Pour obtenir le maximum de la substance active, les mêmes étapes que les affrontements précédents ont été suivies. L'évaporation au rotavapore se fait à une température égale à 60°C et une rotation moyenne de 40 t/mn. L'échantillon récupéré est conservé avec les précédents à une température de +6°C. [27].

La méthode d'extraction des poly phénols est résumée dans la figure (3)

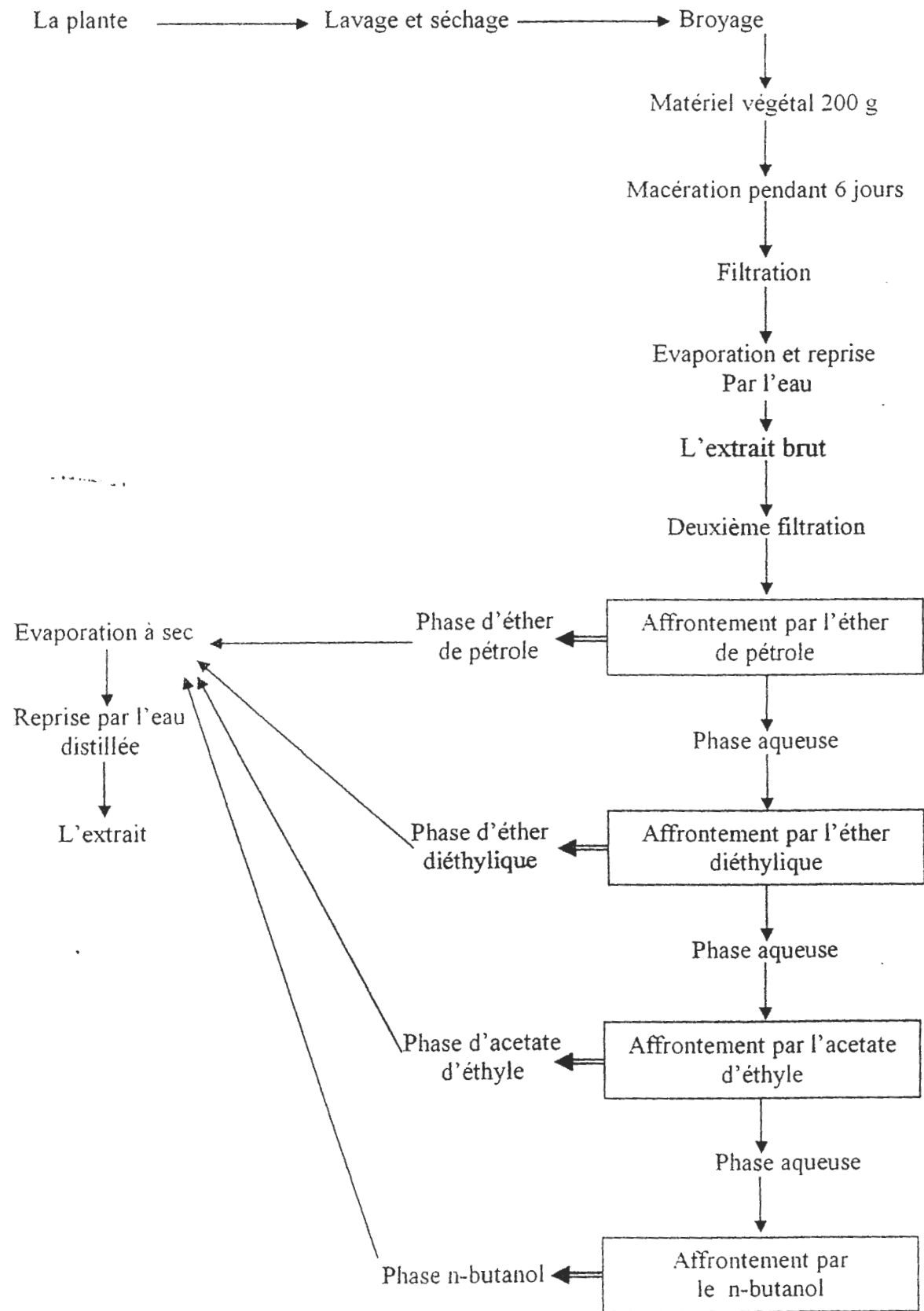


Figure (3) : Méthode d'extraction des polyphénols de la plante *Ranunculus repens L.* [27]

II-2-2-Préparation des dilutions :

La solution a été préparée en solubilisant 2 g de l'extrait de la plante *Ranunculus repens* L dans une solution de 10 ml d'eau distillée stérile et on appelle cette solution la solution mère à partir de la solution mère en réalise une série des dilutions .

Tableau 2 : les différentes dilutions [6] :

Concentration initiale en mg / ml	Volume en ml	Volume d'eau distillée en ml	Concentration final en mg / ml
200	6,4	3,6	128
128	2	2	64
	1	3	32
	0,5	3,5	16
	0,5	7,5	8

Pour avoir la concentration de 128 m g / ml à partir de la solution de 200 m g / ml on prend 6,4 ml de cette dernière à laquelle on ajoute 3,6 ml d'eau distillée. Cette gamme de concentrations est utilisée pour déterminer la CMI de l'extrait de la plante *Ranunculus repens* L .

II-3- La séparation par chromatographie sur couche mince (CCM) :**Protocole technique:**

Les extraits concentrés de fractions isolées précédemment sont déposés à l'aide d'un capillaire sur la largeur de la plaque. Après développement dans le solvant (éthanol) puis séchage, la délimitation des bandes s'effectue sous lumière ultraviolette.

Le tableau suivant représente les résultats qui peuvent être obtenus par la CCM.

Tableau 2 : Détection des composés phénoliques sur un chromatogramme par UV [14]

Nature des fractions flavonoïques	Coloration en lumière visible	Coloration en U.V
Acide cinnamique	/	Bleu
Coumarine	/	Bleu
Anthocyanidine	Rouge	/
Flavone	Jaune pâle	Brun-noir
Flavonol	Jaune pâle	Jaune brillant
Aurone	Jaune brillant	Jaune brillant
Chalcone	Jaune	Brun-noir

III-4- Evaluation de l'activité antibactérienne :**1- La sensibilité aux agents antimicrobiens :**

Il existe deux types d'agents antimicrobiens : les agents physiques et les agents chimiques, les agents physiques assurent la destruction des germes en modifiant leur environnement physico-chimique, ainsi leur multiplication est arrêtée et leur survie compromise. Les agents chimiques sont des substances dont le contact avec les bactéries entraîne soit l'arrêt de leur multiplication (bacteriostase) soit leur destruction (bactéricide). Certains agents chimiques sont très actifs mais nocifs aussi bien pour les bactéries que pour les cellules humaines ou animales ils sont utilisés comme désinfectants d'autres agents comme les antiseptiques et les antibiotiques possèdent un pouvoir de toxicité sélectif. Ils s'opposent à la multiplication microbienne sans nuire aux cellules de l'hôte et sont utilisés pour cette raison en thérapeutique.

✶ Test de diffusion :

La technique de diffusion nous permet de gagner du temps et économiser du milieu en mettant en œuvre des disques son principe est relativement simple.

Lorsqu'un disque imprégné de substance testée est placé sur la gélose préalablement inoculée avec la bactérie testée, il s'humidifie et l'extrait de plante diffuse radicalement du disque dans la gélose. On obtient ainsi un gradient de concentration.

La substance antimicrobienne est présentée en forte concentration à proximité du disque et affecte des microorganismes même faiblement sensibles (les organismes résistants se développent jusqu'au disque).

Plus on s'écarte du disque, plus la concentration en substance anti-microbienne diminue et seules les bactéries pathogènes les plus sensibles sont affectées.

*** préparation du disque :**

On a utilisé le papier Wattman N° 3 coupé en disques de 6 mm. Ces derniers doivent avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer.

Les disques une fois préparés sont placés dans un tube en verre et stérilisés pendant 20 mn à 120°C dans le four pasteur.

*** Milieu :**

...La gélose Muller – Hinton est coulée en boîte de pétri sur une épaisseur de 4 mm, les géloses sont pré séchées avant l'emploi.

*** Inoculum :**

On racle 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques à partir d'une culture de 18 h sur le milieu d'isolement. On décharge l'anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% puis on homogénéise la suspension bactérienne, son opacité étant de 0,08 à 0,1 pour 625 nm. [21]

*** L'ensemencement :**

Par inondation : les boîtes sont inondées par 2 à 4 ml de l'inoculum à l'aide d'une pipette pasteur, on aspire le surplus, puis on la sèche pendant 15 minutes à 37°C.

Dépôt des disques à la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile, à l'aide d'une micropipette on met sur chaque disque 10µl de chaque concentration.

*** Pré-incubation :** les boîtes sont laissées pendant 30 mn à température ambiante pour une meilleure diffusion des polyphénols.

*** Incubation :**

A l'étuve pendant 18 à 24 h à 37°C.

*** Lecture :**

Pour chaque disque, on mesure le diamètre de la zone d'inhibition (en mm) à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle.

Remarque :

Notre travail est réalisé dans des conditions stériles (à proximité du bec benzène) et avec un matériel stérile.

La quantité des aglycones est insuffisante pour faire la chromatographie et pour tester l'activité antibactérienne avec l'extrait pure.

**Résultats
et
Interprétation**

III- Résultats et interprétations:**III-1- Les résultats de l'extraction :**

La méthode d'extraction nous a permis de récupérer trois extraits qui sont :

- L'extrait à base de l'éther diéthylique.
- L'extrait à base de l'acétate d'éthyle.
- L'extrait à base du n- butanol.

III-2- Les résultats de la chromatographie sur couche mince (CCM) :

- La chromatographie sur couche mince montre la présence de 4 spots de couleurs différentes qui sont :jaune pâle, rouge, jaune, jaune brillante

III-3- Les résultats du test de diffusion :

Les résultats du test de diffusion comprend :

- Les variations de la sensibilité des souches bactériennes aux extraits de *Ranunculus repens L* selon la méthode de diffusion (disque)
- L'évaluation de la CMI de l'extrait de *Ranunculus repens L*.

III-3-1- activité antibactérienne de l'extrait de *Ranunculus repens L* :

Les différentes fractions d'extraction à partir de *Ranunculus repens L* testées contre les bactéries étudiées selon la méthode des disques nous ont donné les résultats regroupés dans les tableaux 5, 6, 7.

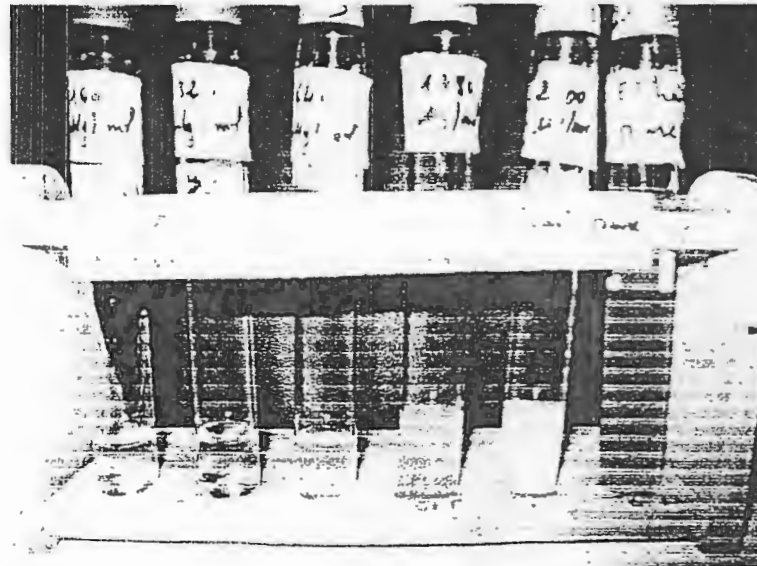


Fig 3 : Les différentes dilutions des monoglycosides

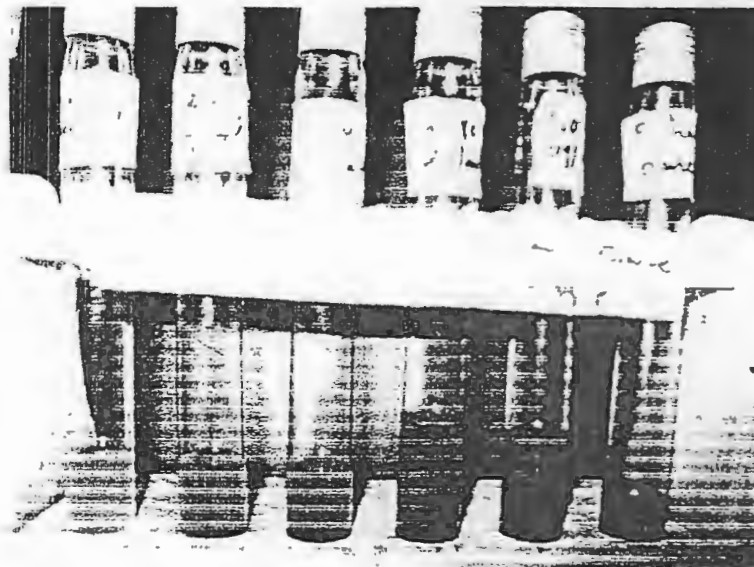


Fig 4 : Les différentes dilutions des polyglycosides

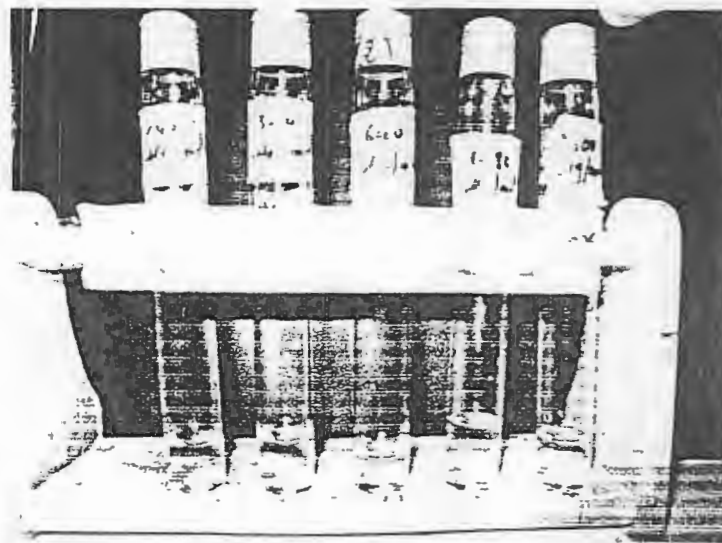


Fig 5 : Les différentes dilutions des aglycones

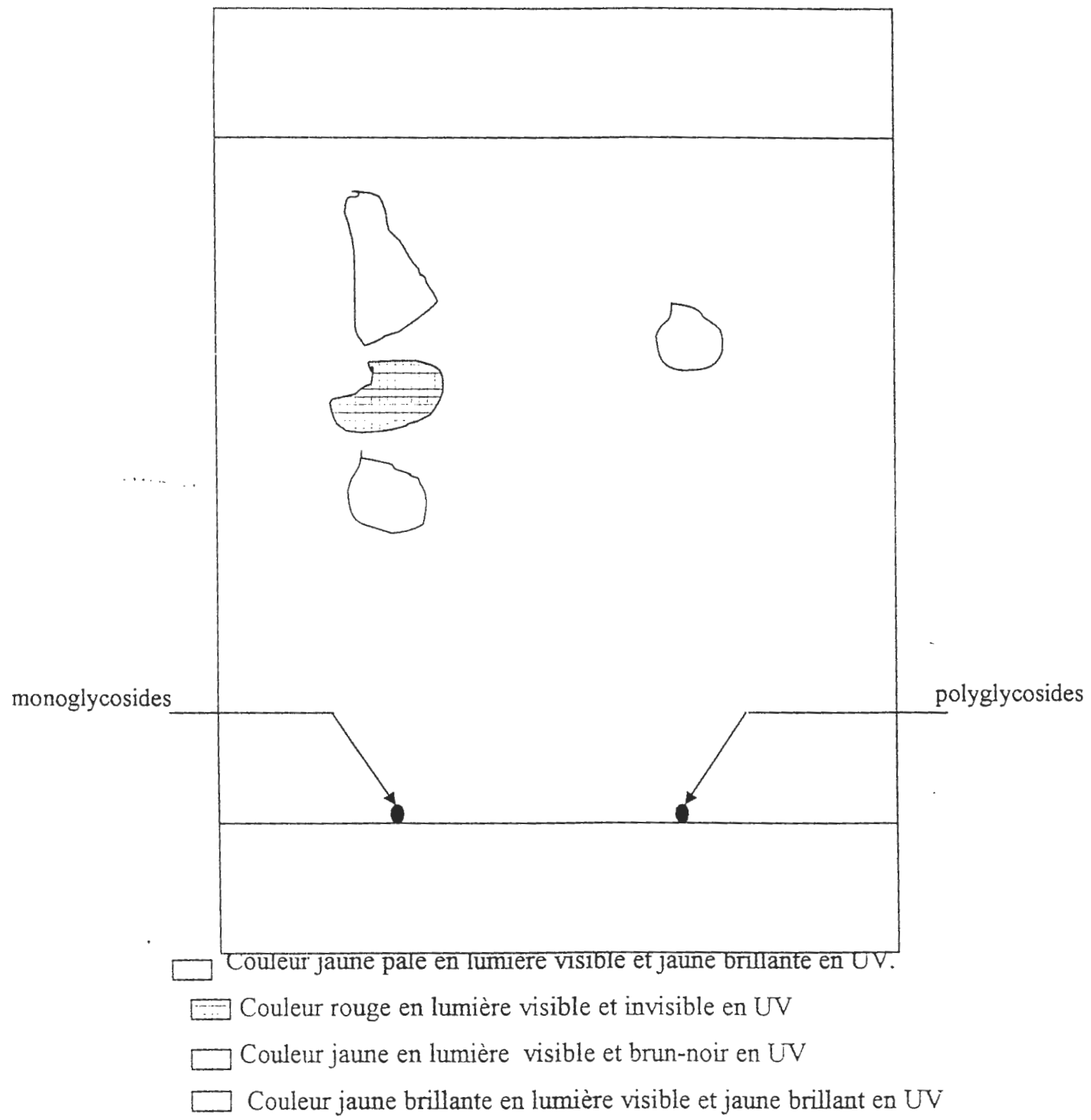


Fig 6 : Résultat de l'identification des extraits de *Ranunculus repens L* par la CCM

*L'activité antibactérienne de l'extrait à base de l'acetate d'éthyle :

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait à base de l'acetate d'éthyle sont représentées dans le tableau 5.

Tableau 5 : Résultat de l'activité de l'extrait à base de l'acetate d'éthyle vis-à-vis des souches bactériennes.

Les concentrations de l'extrait à base d'acetate d'éthyle mg/ml.	Pure	Solution mère	64	32	16	8	Les diamètres des zones d'inhibition (mm)	
Les souches bactériennes étudiées								
<i>E. coli</i> (1)	23	15	13	11	10	0		
<i>E. coli</i> (2)	20	18	17	9	8	0		
<i>Klebsiella s p p</i>	24	23	14	10	9	0		
<i>Pseudomonas s p p</i>	33	12	13	9	0	0		
<i>Proteus s p p</i>	10	0	0	0	0	0		
<i>Salmonella s p p</i>	13	0	0	0	0	0		
<i>Streptococcus s p p</i>	10	0	0	0	0	0		
<i>Staphylococcus aureus</i>	51	20	15	11	9	0		
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	40	23	15	11	10	0		

Nous remarquons la formation de différentes zones d'inhibition. Ces dernières varient entre 23 mm avec l'extrait pure et 8 mm obtenue avec la concentration 16 mg/ml chez *E. coli* et entre 24 mm avec l'extrait pure, et 9 mm avec la concentration 16 mg/ml chez *Klebsiella*, et de 33 mm avec l'extrait pure .9 mm avec la concentration 32 mg/ml chez *Pseudomonas*. Dont les zones les plus importantes manifestent chez les staphylocoques avec un diamètre de 51 mm chez *Staphylococcus aureus* et 40 mm chez *Staphylococcus epidermidis* avec l'extrait pure. Cependant les espèces *Proteus*, *salmonella* et *Streptococcus* donnent des zones moins importantes : 10 mm avec *Proteus* et *Streptococcus*, 13 mm avec *Salmnella*.

***L'activité antibactérienne de l'extrait à base du n-butanol :**

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait à base du n-butanol sont représentés dans le tableau 6

Tableau 06 : Résultat de l'activité de l'extrait à base du n-butanol vis-à-vis des souches bactériennes.

Les concentrations de l'extrait à base du n-butanol mg/ml	Pure	Solution mère	64	32	16	8	Les diamètres des zones d'inhibition (mm)	
Les souches bactériennes étudiées								
<i>E. coli (1)</i>	23	20	18	15	10			
<i>E. coli (2)</i>	24	20	19	13	10	0		
<i>Klebsiella s p p</i>	12	10	9	8	0	0		
<i>Pseudomonas s p p</i>	19	18	14	0	0	0		
<i>Proteus s p p</i>	9	0	0	0	0	0		
<i>Salmonella s p p</i>	19	18	17	15	13	0		
<i>Streptococcus s p p</i>	9	0	0	0	0	0		
<i>Staphylococcus aureus</i>	22	20	13	11	7	0		
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	22	17	16	12	11	0		

Pour l'extrait à base du n-butanol nous remarquons la formation des zones d'inhibition dont la plus importante obtenue chez *E. coli* qui varient entre 24 mm avec l'extrait pure et 10 mm avec la concentration 16 mg/ml. Pour les staphylocoques l'extrait pure donne une zone de 22 mm, et la concentration 16 mg/ml donne une zone de 7 mm pour *Staphylococcus aureus* et 11 mm pour *Staphylococcus epidermidis*. Pour *Salmonella* et *Pseudomonas* l'extrait pure donne une zone de 19 mm, et la concentration 16 mg/ml donne une zone de 13 mm chez *Salmonella*. L'extrait à base du n-butanol donnent une faible activité avec *Proteus* et *Streptococcus* avec une zone de 9 mm avec l'extrait pure et aucune activité pour les autres concentrations.

***l'activité antibactérienne de l'extrait à base d'éther diéthylique:**

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait à base d'éther diéthylique sont représentés dans le tableau 7.

Tableau 07 : Résultats de l'activité de l'extrait à base d'éther diéthylique vis-à-vis des souches bactériennes testées :

Les concentrations de l'extrait à base d'éther diéthylique mg/ml.	Solution mère	64	32	16	8	Les diamètres des zones d'inhibition (mm)	
Les souches bactériennes étudiées							
<i>E. coli (1)</i>	15	14	12	10	0		
<i>E. coli (2)</i>	17	9	0	0	0		
<i>Klebsiella s p p</i>	8	7	0	0	0		
<i>Pseudomonas s p p</i>	13	0	0	0	0		
<i>Proteus s p p</i>	0	0	0	0	0		
<i>Salmonella s p p</i>	25	17	10	9	0		
<i>Streptococcus s p p</i>	0	0	0	0	0		
<i>Staphylococcus aureus</i>	15	13	11	10	0		
<i>Saphylococcus epidermidis</i>	15	13	12	10	0		

Pour l'extrait à base d'éther diéthylique on remarque une activité d'inhibition moins importante avec des zones d'inhibitions faibles, où il ne montre aucune activité envers *Streptococcus* et *Proteus*. Cependant, les staphylocoques et *E. coli* manifestent des zones d'inhibitions variant entre 15 mm avec la solution mère, et 10 mm avec la concentration 16 mg/ml. L'activité la plus importante des aglycones se manifeste chez *Salmonella* avec une zone de 25 mm obtenue avec la solution mère.

IV-3-2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

L'évaluation de la CMI est représentée dans le tableau suivant :

Tableau 07 : les concentrations minimales inhibitrices des bactéries testés vis-à-vis les trois extraits.

Extractions à base de Les bactéries	l'éther diéthylique	L'acétate d'éthyle	n-butanol	Les CMI (mg/ml)
<i>E. coli (1)</i>	16	16	16	
<i>E. coli (2)</i>	64	16	64	
<i>Klebsiella s p p</i>	64	16	32	
<i>Pseudomonas sp p</i>	128	32	64	
<i>Proteus s p p</i>	/	/	128	
<i>Salmonella s p p</i>	16	/	16	
<i>Streptococcus s pp</i>	/	/	128	
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	16	16	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	32	16	16	

Les résultats montrent que la CMI varie d'une espèce bactérienne à l'autre, et aussi elle varie selon les extraits.

On remarque que la CMI la plus basse est obtenue avec l'extrait à base d'acétate d'éthyle (16 mg/ml). Chez *E. coli* et *Staphylococcus aureus* la CMI est égale à 16 mg/ml avec les trois extraits, par contre chez *Klebsiella* elle varie selon les trois extraits: 64 mg/ml avec l'extrait à d'éther diéthylique, 16 mg/ml avec l'extrait à base d'acétate d'éthyle et 32 mg/ml avec l'extrait à base du n-butanol. *Salmonella* et *Staphylococcus epidermidis* montre une CMI de 16 mg/ml avec l'extrait à base du n-butanol, ces derniers donnent une CMI de 128 mg/ml avec *Proteus* et *Streptococcus*.



Fig 7 : Variation de la sensibilité de *Staphylococcus aureus*
Aux différentes concentrations des aglycones de la plante
Ranunculus repens L



Fig 8 : Variation de la sensibilité de *Staphylococcus aureus*
Aux différentes concentrations des polyglycosides de la
plante *Ranunculus repens L*

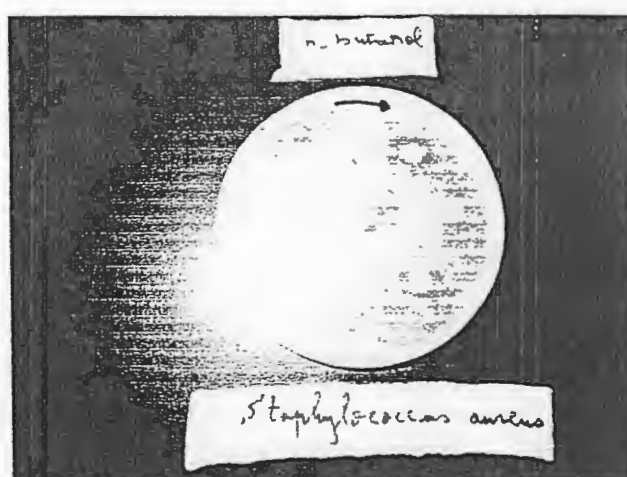


Fig 9 : Variation de la sensibilité de *Staphylococcus aureus*
Aux différentes concentrations des monoglycosides de la plante
Ranunculus repens L



Fig 10 : Variation de la sensibilité de *E.coli*
Aux différentes concentrations des polyglycosides de la
plante *Ranunculus repens L*

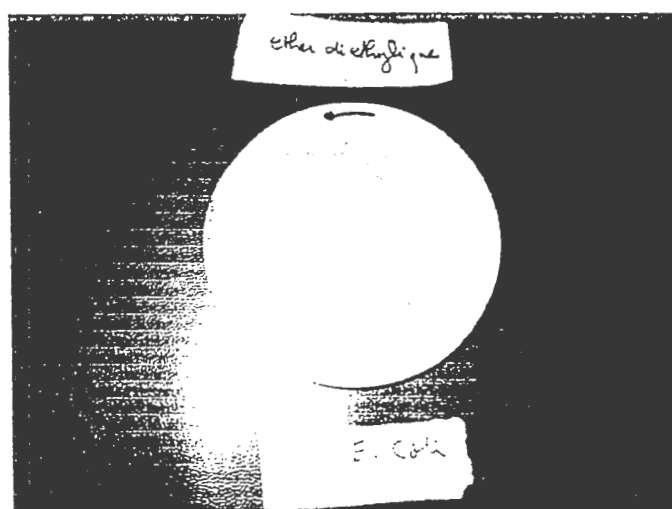


Fig 11 : Variation de la sensibilité de *E.coli*
Aux différentes concentrations des aglycones de la plante *Ranunculus repens L*

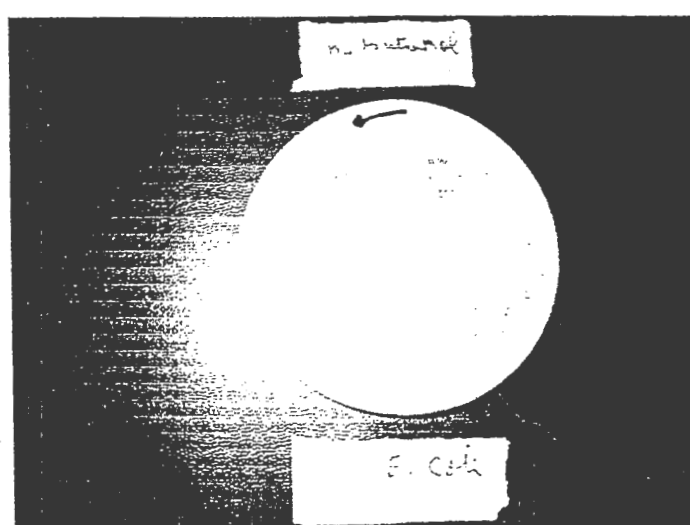


Fig 12 : Variation de la sensibilité de *E.coli*
Aux différentes concentrations des monoglycosides de la plante
Ranunculus repens L

Discussion

Discussion

Parmi les plantes médicinales de la wilaya de Jijel, *Ranunculus repens L.*, sur laquelle le travail rapporte ici. Ce dernier consiste à faire l'extraction des polyphénols et les séparer par la chromatographie sur couche mince, pour obtenir un bon contrôle de pureté et des meilleurs résultats [22]. Nos résultats montrent que l'extrait de *Ranunculus repens L.* est riche en composés phénoliques.

On a étudié l'effet des trois extraits envers les bactéries testées avec différentes dilutions (solution mère 128 mg/ml, 64 mg/ml, 32 mg/ml, 16 mg/ml) par la méthode de diffusion par les disques.

Les résultats ont montré que :

- Pour l'extrait à base du n-butanol il y'a une grande sensibilité vis-à-vis des espèces : *E.coli* avec une zone d'inhibition égale à 24 mm et une CMI de 16 mg/ml. *Staphylococcus aureus* donne une zone d'inhibition de 22 mm et une CMI égale à 16 mg/ml. Par contre *Proteus* et *Streptococcus* montrent une faible sensibilité avec des zones égales à 9 mm.
- Pour l'extrait à base d'acétate d'éthyle, on remarque que la sensibilité la plus importante est obtenue chez *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 51 mm ,et une CMI égale à 16 mg/ml. *Staphylococcus epidermidis* donne une zone d'inhibition de 40 mm, et une CMI égale à 16 mg/ml. *E. coli* montrent une sensibilité moins importante avec une zone d'inhibition égale à 24 mm, et une CMI égale à 16 mg/ml. Par contre *Proteus* et *Streptococcus* manifestent les zones d'inhibitions les plus faibles avec un diamètre égal à 10 mm.
- Pour l'extrait à base d'éther diéthylique, *Salmonella* manifeste la plus grande sensibilité avec une zone d'inhibition égale à 25mm, et une CMI de 16 mg/ml. *E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* donne des zones d'inhibition différentes dont la plus grande est 15 mm, et une CMI de 16 mg/ml.

- *Proteus* et *Streptococcus* ne montrent aucune sensibilité vis-à-vis des concentrations utilisées.

Beaucoup des travaux ont montré la présence d'un effet antibactérien par les polyphénols, parmi lesquels les travaux de DIDRY et al (1982) [11].

Les polyphénols de la plante *Ranunculus repens L.* peut être utilisés comme des remèdes contre des maladies graves (éruptions cutanées et les maladies pulmonaires) par l'inhibition de quelques bactéries comme les staphylocoques et *Pseudomonas*, comme le dit CHAREYE.C, GENTILS.R (1999) « la plante médicinales peut rendre de bonnes services, même dans des maladies plus graves, comme certaines éruptions cutanées ou les maladies pulmonaires » [8].

Conclusion

Conclusion :

La médecine par les plantes est très ancienne, et actuellement on y recourt le plus souvent pour le traitement curatif. Cette médecine se développe à grand pas au fur et à mesure que les chercheurs maîtrisent ces plantes.

En effet, notre étude est basée sur l'extraction des composés phénoliques et les séparer par la CCM, ce dernier permet de confirmer la présence des composés phénoliques dans nos extraits, puis on met en évidence leur activité sur les bactéries par le test de diffusion avec lequel, on a déterminé la sensibilité des bactéries vis-à-vis les trois extraits à base d'éther diéthylique, d'acétate d'éthyle et du n-butanol ; et leurs concentrations minimales inhibitrices (CMI)

Notre étude a permis de mettre en évidence l'existence d'une activité antibactérienne des trois extraits sur les espèces : *E. coli(1)* ; *E.coli(2)*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus épidermidis*.

Ainsi ; nous pensons que les polyphénols extraits de la plante *Ranunculus repens* L peut jouer un rôle important dans l'évolution de la phytothérapie.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] : ALSTON R.E, 1964: Biochemistry of phenolic compounds. J.B.HARBONE éditeur, Academic press, New York.
- [2]: BAHORUNT, TROTINF,POMMRY,VASSEUR and PINKASM,1994: Antioxidant activities of cratagus monogyma extracts.p:323,328.
- [3]: BATE-SMITHE.C et METCHLFEC.R, 1957: J.liun soc (bot).p:55,362.
- [4]:BRUNETON.J, 1993: Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales.Paris, France. Lavoisier.
- [5]:BRUNITON.J,1996: Plantes toxiques:végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, .p:396.
- [6] : CARBONLLE. B. DENIS. E ; PINON .GVARGNA.R, 1987 : Bactériologie médicale.Edition simep.
- [7]: CENTRE ARICO,1999 :Direction des services technologiques mapac, guide d'identification des mauvaises herbes .p:1,2,5.
- [8]: CHAREYEC, GENTILS.R,1999: Guide illustré du bien-être phytothérapie. p: 6, 16, 18, 30, 86, 140,141.
- [9]:CONNÉE.1994: Biochemistry of phenolic compounds, J.B HARBONE éditeur, academic press, New York.
- [10]: CRUICKSHANKI.A.M . PERRIN,R.1964: Biochemistry of phenolic compounds, J.B.Harbhone éditeur,Academic press, New York .
- [11]: FLEURIETA et MACHEIXJ J, 1977.
Effet des blessures sur les composés phénoliques des fruits tomates
- [12]:GEISSMANT.A , AINREINERE, 1952; Bot.p:18, 77,164.
- [13]:GEISSMANT.A,1963 : Comprehensive biochemistry, vol 9, MFLORKIN et E.H. Stoty éditeur, elsevir, Londres.
- [14]: HARBORNEJ.B, 1980:Plants phenolics. P: 330, 402.
- [15]:HARBORNEJ.B, 1962 : The chemistry of flavonoïd compound, T.A.Geissman éditeur,pergamon press ,Oxford.
- [16]:HORHAMER.L , WAGNER.H ,1961: Récent développements in the chemistry natural phenolic compounds, W.D.OLLIS éditeur,pergamon press.
- [17]: JEAN LOUP AVRIL,1992 : Bactériologie clinique p:192,193.
- [18]:JEAN-LOUP AVRIL, 1991:Dictionnaire de bactériologie clinique.p:44,45,56,57,83,89,91,105,106,107,110.
- [19]: LIBERTON.P , MENERET. G. 1964: BULL.50C bot . p: 69, 111.
- [20]LEDARD F.CHARBOLJ-P,1999: Les plantes médicinales.Edition Algo vision .p:6, 7,8.
- [21] :LYRAL.G JOFFIN.J.N,1998:Microbiologi technique. P :69.
- [22] : POLETTIA,1982: Fleurs et plantes médicinales . p:10, 11, 57,104.
- [23] : RIBEREAU-GAYOUP, 1953: C.R.Acad agri, p:39,800.
- [24]: SWAIN. T, 1962: Wood extrctives .W.E.Hillis éditeur, academic press.
- [25] : TANOUGAT.N, LALLOUTIA, 2000:étude de la recherche de nouvelles substances antibiotiques à partir d'un extrait de plante (Ranunculus repens). p:44,46.
- [26]: WILIAMSA .H, 1960: phénolics in plants in health and sixase, J .B.prid.bam éditeur, pergamon press,Oxford.

[27]:ZELLAGUI.A.Méthode d'extraction des flavonoides et alcaloides compte rendu du siminaire national sur les plantes médicinales.p:33,34,35,36.

Sites Internet :

[28]:<http://WWW.yahoo.fr>, données encyclopédiques : les renoncules, 2000.p:1

[29]:<http://WWW.yahoo.fr>,donnés encyclopédiques : les plantes médicinales, 2001.p:1, 2,3,4.

[30]:WWW.Flavo.info;<http://Flavo.vtt.fr>.

[31]:WWW.vtt.fr/virtual/maxfun.

Présenté par : Nouchi Radia
Souiki Ismahane
Chabbi Soulaf

Date de soutenance : 02 -07-2006.

Titre : Evaluation de l'activité antibactérienne des polyphénols, extrait de la plante
Ranunculus repens L.

Résumé :

Les plantes médicinales contiennent des composés extrêmement complexes ; de dizaines, voire de centaines de principes actifs, qui passionnent les scientifiques actuels. Chaque année, les chercheurs spécialisés dans ce domaine étudient, analysent et essayent de comprendre le mode d'action de certaines plantes. La réalisation de beaucoup de découverte en phytothérapie a pour effet l'utilisation massive des plantes médicinales. Notre étude est basée sur l'évaluation de l'activité antibactérienne à partir des polyphénols extraits de la plante *Ranunculus repens L.*, qui est une plante appartenant à la famille des Ranunculaceae, récolté des plaines de la Wilaya de Jijel. Nous avons expérimenté l'activité antibactérienne de la plante avec trois solvants différents : acétate d'éthyle, éther diéthylique et n-butanol.

Nos travaux ont montré une sensibilité des bactéries : *E.coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus* et *staphylococcus epidermidis* vis-à-vis des polyphénols extrait de la plante *Ranunculus repens L.*, ils ont été mis en évidence par le test de diffusion sur milieu solide. Nous avons conclu, à la fin de notre étude, que les aglycones, les monoglycosides et les polyglycosides ont un effet antibactérien

المخلص:

النباتات الطبية تحتوي على مجموعة من المركبات النشطة التي حمست العلماء المختصون في ميدان الطب العشبي بدراسة، تحليل ومحاولة فهم طريقة تأثير هذه المركبات على مختلف الأمراض.

إن العمل الذي قمنا به يرتكز على تأثير متعدد الفيتولات المستخلص من نبتة *Ranunculus repens L.* من عائلة Ranunculaceae التي توجد في سهول ولاية جيجل على البكتيريا: *E. coli*, *Streptococcus*, *Salmonella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Staphylococcus epidermidis* و *Staphylococcus aureus*.

لقد بينت دراستنا حساسية البكتيريا لهذا المستخلص (أغليكون، مونوغليكوزيد، بولي غليكوزيد)، التي استنتجت انطلاقا من إجراء اختيار الانتشار على الوسط الصلب في النهاية نستنتج أن متعدد الفيتولات المستخلص من نبات *Ranunculus repens L.* له تأثير فعال على البكتيريا.

Summarized:

The medicinal plants contain some extremely complex compounds; of ten, in truth of hundred of active principles, that fascinate the present scientists. Every year, the specialized researchers in this domain studied, analyze and essayent to understand the fashion of action of certain plants. The realization much discovery in phytothérapie has for effect the massive medicinal plant utilization. Our survey is based on the assessment of the antibacterial activity from the polyphénolses excerpt of the plant *Ranunculus repens L.*, that is a plant belonging to the family of the Ranunculaceae, harvested of plains of the Wilaya of Jijel. We experimented the antibacterial activity of the plant with three different solvents: acetate of éthyle, ether diéthylique and n-butanol. Our works showed a sensitivity of bacteria: *E.coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus* and *staphylococcus epidermidis* opposite of the polyphénolses excerpt of the plant *Ranunculus repens L.*, they have been put in evidence by the test of diffusion on strong middle. We concluded, at the end of our survey, that aglyconeses, monoglycosideses and polyglycosideses have an antibacterial effect.

Mots clés : plantes médicinales, *Ranunculus repens L.*, polyphénols, aglycones, monoglycosides, polyglycosides, activité antibactérienne.

Encadreur : Madame Roula Sadjia.