

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

جامعة محمد الصديق بن يحيى  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
المكتبة  
رقم الجرد : 642

UNIVERSITE DE JIJEL

جامعة جيجل



FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE  
ET MICROBIOLOGIE

كلية العلوم  
دائرة البيوكيمياء وعلم الأحياء الدقيقة

MB. 21/05

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme D.E.S

Option : MICROBIOLOGIE



01/03

**Thème :**

*Evaluation de l'activité anti-bactérienne des différentes fractions flavonoïques de la plante Ranunculus repens vis-à-vis de E.coli ,Salmonella ,et Staphylocoque.*

Membres de Jury :

Président : Mr . SEBTI .M  
Examineur : Mr .IDOUI .T  
Encadreur : M<sup>me</sup> . ROULA .S



Réalisé Par :

M<sup>elle</sup> LEKNOUCHE samira  
M<sup>me</sup> AZIEZE nassima  
M<sup>elle</sup> AZIEZE ibtissam

PROMOTION 2005

## REMERCIEMENT :

Nous tenons à formuler notre gratitude et notre profonde reconnaissance à l'égard de notre promoteur madame ROULA SADJIA pour sa confiance, sa disponibilité et l'aide précieuse qu'il nous prodiguée afin d'accomplir ce travail.

Nous remercions Monsieur le chercheur KRIBCHE RAMADANE qui nous a énormément aidés au cours de ce travail.

Nous remercions vont au personnel du laboratoire de la faculté du science .

Nos remerciements vont aux membre du jury pour nous avoir honorés en acceptant de jury notre travail.

Enfin un grand merci s'adresse à nos collègues qui nous ont tellement supportés tout au long de la période de notre formation.

LEKNOUCHE samira  
AZIEZE nassima  
AZIEZE ibtissem.

# sommaire

<b>Introduction</b>	01
<b>Chapitre I : Analyse bibliographique :</b>	
<b>I.Plantes médicinales : les renoncules :</b>	02
I.1.Généralité sur les plantes médicinales	02
I.1.1 les principes actifs	02
•Les alcaloïdes.	02
• Les flavonoides.	03
•Les huiles essentielles.	03
• Les antibiotiques.	03
I.2 .Les renoncules.	03
•Classification.	04
I.2.1les ranunculaceae.	05
•les ranunculus.	05
<i>a.Ranunculus acris.</i>	05
<i>b.Ranunculus ficaria.</i>	07
<i>c.Ranunculus asiatic.</i>	07
<i>d.Ranunculus bulbosus.</i>	07
<i>E.Ranunculus répens.</i>	07
a.caractères généraux.	07
1.origine du nom.	07
2.description.	08
3.Habitat.	09
4.Récolte.	09
<b>II .Les Entérobactéries.</b>	11
II.1.Généralités.	11
II.2.Habitat.	11
II.3.Caractères morphologiques et bactériologiques.	11
II.4.Caractères biochimiques.	11
II.5.Caractères antigéniques.	13
II.6.Classification.	13
<b>III.les Staphylocoques.</b>	14
III.1.Généralités	14
III.2.Habitat.	14
III.3.Caractères morphologiques et bactériologiques.	14
III.4.Caractères biochimiques.	15
III.5.Classifications .	15
III.6.Les infections staphylococciques.	15

<b>Chapitre II : Matériels et méthodes</b>	16
1. Matériels :	16
1.1 Matériel végétal.	16
1.2. Souches bactériennes.	16
1.3. Autre matériel.	16
2. Méthodes :	17
2.1. Les souches bactériennes :	17
2.2. Préparation de l'extrait de la plante.	17
2.3. Préparation des dilutions de l'extrait de la plante	20
2.5. évaluation de l'activité anti- bactérienne sur les entérobactéries et staphylocoques.	21
1. Préparation de l'inoculum.	21
2. ensemencement	21
 <b>Chapitre III : Résultats :</b>	 22
1. test de diffusion sur milieu solide.	22
1.1. Résultat de l'activité des souches avec les aglycones.	22
1.2. Résultat de l'activité des souches avec les monoglycosides	23
1.3. Résultat de l'activité des souches avec les polyglycosides	24
 <b>Discussion</b>	 25
<b>Conclusion</b>	27
Références bibliographiques	
La liste des tableau .	
La liste des figures	
Annexe.	

**La liste des tableau :**

**TABLEAU 1 :**Les caractères biochimiques des Entérobactérie .....12.

**TABLEAU 2 :**Les caractères différenties des principales espèces de *Staphylocoques* ayant un rôle potentiellement pathogène....15.

**TABLEAU 3:**Les dilution des extraits ....20.

**TABLEAU 4 :**Résultats de l'activité des souches avec les aglycones....22.

**TABLEAU5:**Résultats de l'activité des souches avec les monoglycosides.....23.

**TABLEAU 6 :**Résultats de l'activité des souches avec les Polyglycosides.....24.

**La liste du figure :**

**Figure1 :** La *Ranunculus acris*( *Renoncule acre*)... ..6.

**Figure2 :** Les fruits du *Ranunculus repens*... ..8.

**Figure3 :** La plantule.....9.

**Figure4 :** La *Ranunculus repens*(*Renoncule rampante*) ....10.

# *Introduction*

## INTRODUCTION :

L'utilisation thérapeutique des plantes remonte à la nuit des temps et l'on en retrouve la trace dans à peu près toutes les civilisations, sur les cinq continents.

La notion des traditions reste particulièrement attaché à cette thérapeutique cette tradition reste vive dans certains pays, le notre en particulier, l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales s'est peu à peu estompée, au profit de la synthèse de molécules chimiques. Ce pendant de puis une dizaine d'années, on constate un vif regain pour les plantes médicinales qui ne cesse de croître aujourd'hui. (32)

C'est dans ce sens que nous tenons à vous présenter cette étude , qui portera sur la plante *Ranunculus repens* qu'on trouve dans les zones humides et qu'on a récolté des prairies de CHAHNA dans la wilaya de jijel.

Notre objectif principal concerne la séparation des différent fractions flavonoïques, de la plante *Ranunculus repens* pour ainsi tester leur efficacités sur les entérobactéries et staphylocoques isolées de différents produits pathologiques, au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences .

*Analyse  
bibliographique*

*Les plantes médicinales:*

*Les renoncules*

## **I. Les plantes médicinales : Les renoncules**

### **I.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], pendant longtemps les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal à voir l'unique recours du médecin, en même temps que la matière première pour la fabrication de remèdes pharmaceutiques [10].

Il est acquis que les plantes sont en mesure de soigner des maladies simples comme le rhume. On d'en prévenir de plus importantes comme l'ulcère, la migraine, l'infarctus, en plus de certaines allergies ou infections, si l'on y ajoute leurs vertus réparatrices tonifiantes, sédatives, revitalisantes ou immunologiques [10]. La 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 [18].

Les plantes médicinales utilisées pendant la guérison en divers formes : cataplasmes , gargarismes , tisanes , pommades ,.....etc.

#### **I.1.1. Les principes actifs :**

Les principes actifs d'une plantes médicinales sont les composants naturellement présent dans cette plante, par exemple les alcaloïdes, les anthraquinones, les flavonoides, les hétérosides, les huiles essentielles ou essences, les antibiotiques, les mucilages et gommages, les vitamines, les principes amers, les résines, les salicylates, les saponines,...etc [18].

- **Les alcaloïdes :** sont des composés azotes complexes et basique(7-12-17), ils sont produits exclusivement par les plantes, on peut citer : la morphine, la caféine, la strychnine, ou la quinine [18]. Ce sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs, on dénombre à ce jour plus de 3000 alcaloïdes aux propriétés pharmacologiques souvent importantes(12).

- **Les huiles essentielles** : essence = huiles volatiles sont des produits de composition généralement assez complexes renferment les principes volatiles contenus dans les végétaux et plus au moins modifiés au cours de la préparation (7). on trouve dans cette catégorie des éléments tels que la bêta-carotène, précurseur de la vitamine A, comme pour les vitamines E et K, ces substances sont hydrosolubles et contiennent des propriétés biologiques essentielles (17).
- **Les flavonoides** : ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles tel est le cas des flavonoides jaunes (chalcones, aurones, flavonols jaunes)(7), sont des pigments polyphénoliques qui contribuent entre autre à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc (1). ils contribuent à la coloration par leur rôle de co-pigments, les flavonoides sont également universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles assurant ainsi la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultra violet (7). ils ont des propriétés anti-inflammatoire et antivirales et protègent la foie (1).
- **Les antibiotiques** : Les antibiotiques sont des substances qui empêchent le développement des micro-organismes (27).

## **I.2. Les renoncules :**

Les renoncules sont un genre de plantes herbacées du latin « RANA » signifie petite grenouille, car certains de ces variétés aquatiques, poussent dans les marais peuplés de nombreuses batraciens, autres noms : grenouillette, fleur de l'impatience, gobet du diable à cause de ses propriétés toxiques.

Les feuilles, à nervures généralement palmées et très découpées, s'accrochent à la base d'une longue tige porte, à son extrémité, une ou plusieurs fleurs, la plus fréquemment composées.

Les fleurs simples en forme de coupes formées de 5 pétales, serrées et brillantes, aux couleurs vives jaunes ou blanches, très rarement rouges et leurs fruits est un Akène ou un follicule, parfois une baie, une drupe ou une capsule.

Les renoncules des fleuristes sont originaires d'Asie, la *Ranunculus asiaticus* a été introduite en France.

Le Bouton d'or c'est la plus connue plante vivace aux fleurs d'un jaune, pour les renoncules on trouve les dans pâturages, les marécages, au bord de routes et des chemins sur les terrains cultivés sur sol humide et poussent dans les régions tempérées ou froides, la renoncule apprécie la terre légère et riche pour une floraison en juin (9).

▪ **Les principes actifs des renoncules :**

Les jeunes plantes contiennent beaucoup de vitamine c (*Ranunculus ficaria* contient à la partie aérienne : saponoside, protoanémimine et anémone, tanins et vitamine C). Les renoncules renferment des principes actifs acres, dont l'indigestion provoque une sensation de brûlure dans la gorge, puis des nausées et une violente inflammation de l'intestin. Il s'agit des ranuncoside (hétéroside de lactone) qui, par hydrolyse, libère de la protoanémone, extrêmement vésicante. Une fois séchée, la plante est moins toxique (en tout cas pour les bétails). C'est pourquoi sa présence dans le foin bien sec, bien que non conseillée, n'est pas trop dangereuse. Quand les renoncules soient jeunes, on peut la consommer en salade. Par la suite elles deviennent amères et toxiques (9).

- Classification : c'est la classification classique : (9)

**Règne :** Plante.

**Sous-règne :** Tracheobionta.

**Division :** Magnoliophyta.

**Classe :** Magnoliopsida.

**Sous-classe :** Magnolidae.

**Ordre** : RANUNCULALES.

**Famille** : RANUNCULACEAE.

**Genre** : RANUNCULUS.

**I.2.1. Les ranunculaceae :**

La famille de Ranunculaceae regroupe près de 1500 espèces, qui ont un port très différent et sont le plus souvent des végétaux herbacés vivaces. Aux latitudes tropicales ce sont plutôt des plantes d'altitude. La famille comprend les aconites, les hellébores, les anémones, les clématites, les renoncules, ... etc (9 – 25).

**•Genre : Les Ranunculus :**

Ce genre compte quelques 400 espèces pour la plupart annuelles et vivaces appelés aussi « Bouton d'or », en latin renoncule, c'est-à-dire grenouille. (24 – 25)

**a. *Ranunculus acris* :**

Bouton d'or, renoncule acre, répandue en Europe et en Asie mineure, cette vivace forme des touffes à tiges dressées, de 20 à 90 mm de hauteur, garnies de feuilles aux lobes découpés, elle fait voir, en début d'été, des panicules lâches de fleurs en coupe jaune d'or, est à fleurs bien doubles en rosette. (figure 1) (35– 24).

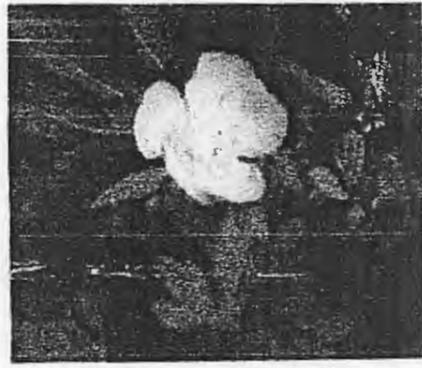


Figure 1 : *Ranunculus acris* (Renoncule acre).

**b. *Ranunculus ficaria* :**

Répandue en Europe, dans le sud-ouest de l'Asie et le nord-ouest de l'Afrique, cette petite vivace n'excède guère 5 à 20 cm de hauteur, se couvre, au printemps, de fleurs en étoile d'un jaune étincelant. Elle porte des feuilles vertes luisantes souvent marbrées d'or ou d'argent, qui disparaissent après la floraison. « Albus » montre des fleurs blanches crémeuses aux pétales satinés (10-11-22-25).

**c. *Ranunculus asiatic* :**

Méditerranéenne mais tolère les règles, cette vivace est à l'origine de nombreux hybrides et cultivés. Elle se couvre, au printemps, d'une profusion (de nombreuses hybrides), de fleurs simples ou doubles jaunes, oranges, rouges, roses ou blanches, portée sur ces tiges florales, de 40 cm de hauteur, les hybrides Bloomingdoles de hauteur plus modeste (20 cm) (10-11-22-25).

**d. *Ranunculus bulbosus* :**

Originaires d'Europe, du Caucase et d'Afrique du nord, cette vivace, d'environ 40 cm de hauteur, forme une tige renflée à la base, elle présente un feuillage découpé vert sombre et des fleurs en coupe jaune profonde éclosent en fin du printemps et en été (22).

**E : Espèce : *Ranunculus repens* :**

**Nom commun français :** Bouton d'or, bassinet, pied de poule, piépou (9).

**Nom commun :** Ranunculus rampant (9).

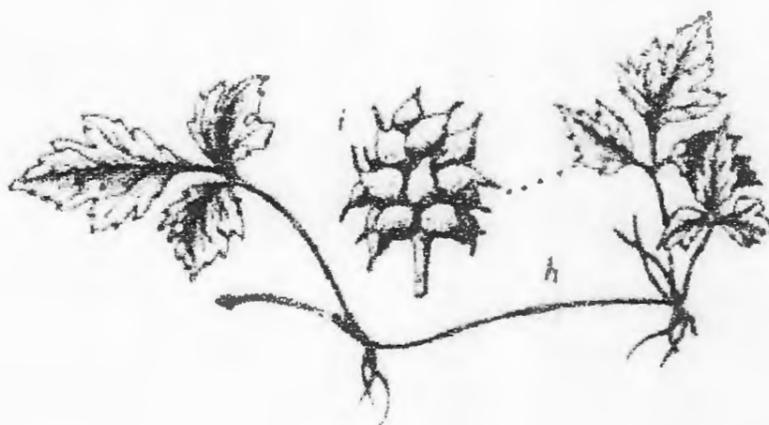
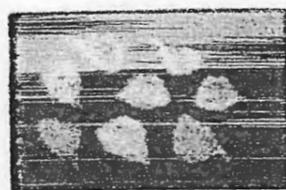
Le Ranunculus rampant est une plante vivace très variable, répandue en Europe, en Asie, et en Afrique, de taille basse à moyenne. Se reconnaît facilement par ces tiges stolonifères qui s'enracinent aux nœuds (9-10-22).

**a. Caractères généraux :**

- 1. Origine du nom :** le nom de genre signifie petite grenouille car certaines espèces vivent dans des endroits marécageux (9).

**2. Description :** Plante de 20 à 50 cm, fleurs jaunes de 2 à 2,5 cm de diamètre, isolées à l'aisselle des feuilles. Se reconnaît par ces tiges stolonifères qui s'enracinent aux nœuds (9-10-22).

- **Fleurs :** jaunes dorées, de 2 à 3 cm en grappes lâches, irrégulière avec sépales érigés (9-22).
- **Feuilles :** triangulaires à 3 lobes dentés, celui du milieu étant pétiolé(9-22).
- **Fruits :** Sont des Akènes à bec incurvé (9).
- **Description de la semence :** Dimension 2,0 x 2 – 3,5 cm, leur couleur : jaune-brun, et sa forme lenticulaire (un côté plus bombé que l'autre), marginée à bec grêle en crochet de 0,5 à 1 mm, sa paroi verruqueuse, les fruits contenant les grains : Akène(figure2) (9).



**Figure 2 :** Les fruits du *Ranunculus repens*.

- **Description de la plantule :** se sont des cotylédons allongés en

forme de cuillère, les feuilles divisées et plamées.(figure 3) (9).

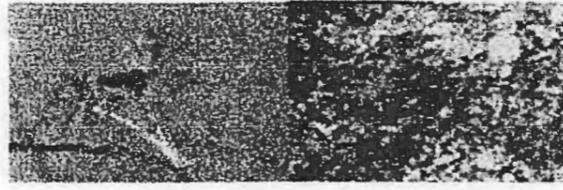


Figure3 : La plantule.

▪ **Description de la plante adulte :**

- ont une hauteur de 30 à 40 cm, tige florifère, ascendante, plusieurs fois divisée sillonnée, leurs feuilles velues, radicales long petiolule.
- Les feuilles caulinaires supérieures petites, presque sessiles, et les fleurs jaunes, isolées, terminales, sépales dressées.
- Les fruits ovales, lisses, à bec court (2,5 à 3,5 x 2 à 3 mm). Fruits nombreux..
- C'est une plante toxique à l'état frais .
- leur type biologique : vivace à stolons.(figure 4) (9).

**3. Habitat :** Très commune, se rencontre dans les lieux ombragés et suffisamment humides (prairies, jardins, chemins), près, marécages, bord des routes et chemins, terrains cultivés, de préférence sur sol humide, parfois bord de forêt jusqu'à 2300 m (9).

**4. Récolte :** La plante est plus riche en principes actifs un peut avant la floraison, mais elle conserve plus ou moins ses caractéristiques toute la belle saison (9).

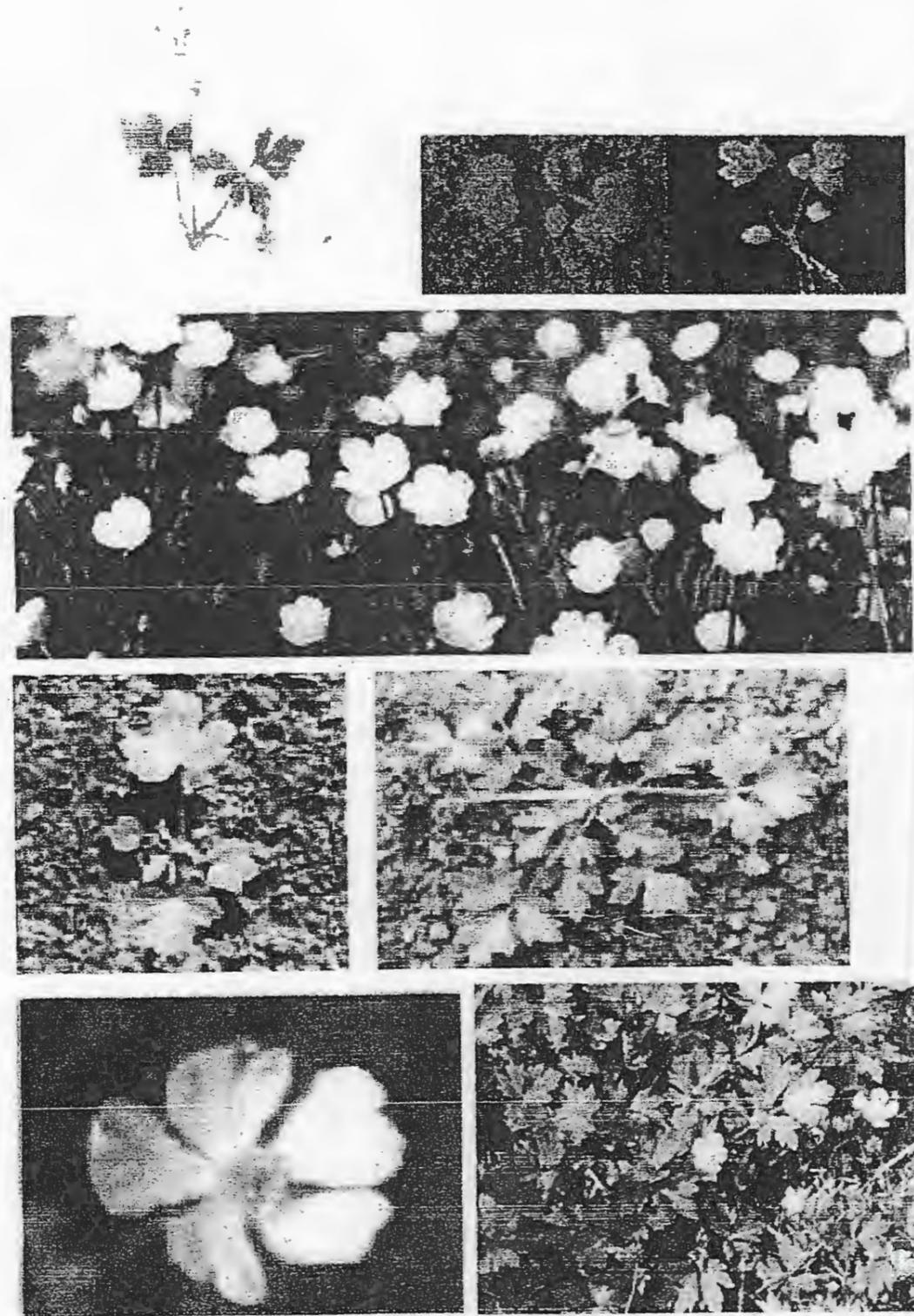


Figure 4 : *Ranunculus repens* (Renoncule rampante) .

# Les entérobactériacées

**II. Les Enterobactériaceae :****II.1. Généralités :**

Grande famille de bactéries ubiquitaire, à Gram négatif comprenant des germes mobiles par cils peritriches ou immobiles, aérobies-anaérobies facultatifs, cette famille présente un intérêt médical, économique scientifique et écologique (4-8-13-14).

**II.2. Habitat :**

Très vaste groupe de cette famille faisant partie des micro-organismes ordinaires et normaux de l'intestin de l'homme et des animaux : elles sont généralement commensales et saprophytes, même se trouve dans le sol ou les eaux qui se traduit une contamination fécale (8).

**II.3. Caractère morphologique et bactériologique :**

Les caractères biochimiques et morphologiques généraux sont connus à toutes les espèces des entérobactéries, ils sont :

- Bacille Gram négatif.
- Mobiles au moyen d'une ciliature de type peritriche ou immobiles.
- Aérobies-anaérobies facultatives.
- Poussent rapidement en milieux ordinaires.
- Elles fermentent le glucose avec ou sans production de gaz.
- Réaction d'oxydase négative.
- Réduisent le nitrate en nitrite. (4-8-9-14).

**II.4. Caractère biochimique :** Les caractères biochimique des entérobactéries sont représentés dans le tableau I

Tableau 1 : les caractères biochimiques des entérobactéries (14).

	I					II				III	IV	V
	Escherichia	Edwariella	Citrobacter	Salmonella	Shigella	Klebsiella	Enterobacter	Hafnia	Serratia	Proteus	Yersinia	Erwinia
B-galactosidase	+	-	+	±	±	+	+	+	+	-	+	-
Gaz à partir du glucose à 37°C	+	+	+	+	-	±	+	+	±	±	-	±
KCN	-	-	+	±	-	+	+	+	+	+	-	-
Acides à partir de arabinose	+	-	+	+		+	+	+	-	-	+	±
Lactose	±	-	±	±	±	±	+	-	-	-	-	±
Manitol	+	-	+	+	±	+	+	+	+	±	+	±
Saccharose	±	-	±	-	-	±	+	+	±	+	±	±
Xylose	±	-	+	+	±	+	+	+	±	±	±	±
Citrate	-	-	+	+	±	+	+	+	±	±	±	±
Malonate	-	-	±	±	-	±	+		-		-	
R M	+	+	+	+	+	±	-	-	-	+	+	±
VP	-	-	-	-	-	±	+	+	-	±	-	±
Gélatine	-	-	-	±	-	±	±	-	+	±	-	±
H <sub>2</sub> S	-	+	±	+	-	-	-	-	-	±	±	
Indole	+	+	±	-	±	±	-	-	-	±	±	±
LDC	+	+	-	+	-	±	±	+	+	±	-	-
ODC	±	+	±	+	±	-	+	+	+	±	±	-
ADH	±	-	±	+	-	-	±	-	-	-	-	-
Urée	-	-	±	-	-	±	±	-	-	±	±	-

**II.4. Caractères antigéniques :**

La détermination du sérotype ne peut être reprise que pour des souches dont l'identification est certaine (14).

- **L'antigène somatique O** : localisé au niveau de la paroi bactérienne. Il constitue une endotoxine de nature glucido-lipido protéique. Leur agglutinable est lente difficilement dissociable par agitation. (9-13).
- **L'antigène H** : antigène flagellaire présent chez les souches mobiles, il se constitue d'une protéine, la flagelline, thermolabile (4), rapidement agglutinables et facilement dissociables par agitation. (9)
- **Les antigènes d'adhérence ou adhésion** de nature protéique, porte par pilis communs, ils sont classés parmi les antigènes K (K<sub>88</sub>, K<sub>99</sub>)(13).

**II.6. Classification :**

La famille des entérobactériaceae se subdivise en cinq tribus *Escherichia*, *Klebsella*, *Proteae*, *Yersineae*, *Erwineae* (4-8-9).

# Les staphylocoques

### III. Les Staphylocoques :

#### III.1. Généralités :

Les Staphylocoques sont des cocci Gram positif, sont les plus fréquemment rencontrés en pathologie humaine, germes ubiquitaires présent dans le sol, l'eau, et l'air ils appartiennent à la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (8-9-27-29).

#### III.2. Habitat :

Les réservoir des staphylocoques est l'homme et les animaux ces germes se trouve dans les muqueuses nasale, les zones humides ( aisselles, périnée ), les territoires cutanés, la gorge, et les mains.

La transmission intra ou inter humaine s'opère généralement par contact direct (manuportage).

Plus rarement, elle peut être indirecte à partir d'une environnementale (vêtements, draps, matériels médicaux) (4-27-28-30).

#### III.3. Caractères morphologiques et bactériologiques :

Les caractères morphologiques et bactériologiques sont connues à tous les espèces des staphylocoques, ils sont :

- Cocci Gram + (regroupement en amas : grappes de raisin ou tétrades).
- Diamètre 1 micron.
- Immobile.
- Non capsulé.
- Non sporulé.
- Aéroanaérobie facultatif.
- Peut exigeant (gélose ordinaire) (8-9-13-30-31).

**III.4. Caractères biochimiques :**

Les caractères biochimiques sont présentées dans le tableau 2

**Tableau 2 : Caractères différentiels des principales espèces de Staphylocoques ayant un rôle potentiellement pathogène (9).**

Caractère	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus épidermis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
Coagulase	+	-	-
Dnase	+	-	-
Nitrate-réductase	+	+	-
Phosphatase	+	+	-
D-mannitol (acidification)	+	-	-+

**II.3.5. Classifications :**

Les staphylocoques appartiennent à la familles des *micrococaceae* comprend quatre genres : *Micrococcus*, *Stomatococcus* , *Planococcus* et *staphylococcus* (9).

Les staphylocoques sont divisés en deux grandes groupes , cet répartition sur la présence ou l'absence d'une enzymes de la coagulase comme :

- *Staphylococcus aureus* ( coagulase +) : le plus pathogènes.
- *Staphylococcus épidermidis* (coagulase -) : opportuniste (9-27).

**II.3.6. Les infections staphylococciques :**

Les staphylocoques provoqués des infections parmi les quelles on a :

- les folliculites superficielles qui sont due à une infection limitée à l'ostium folliculaires, elles sont caractérisées par un éruption de petites pastules centrée par un poil et bordées d'un halo inflammatoire érythémateux(34-25).

Les folliculites profondes qui comprend le furoncle ( due a Staphylocoque doré), l'anthrax, les sycosis staphylococcique(30-31).

# Matériels et méthodes

## II. MATERIELS ET METHODES :

L'objectif principal de notre étude est la détermination de l'activité d'un extrait de *Ranunculus repens* sur les entérobactéries et les staphylocoques : cela nécessite des tests bactériologiques par différentes méthodes in-vitro au niveau du laboratoire.

### 1.MATERIELS :

#### 1.1.Matériel végétal :

La plante *Ranunculus repens* a été récolté dans les prairies de CHAHNA à la fin de mai 2005.

#### 1.2.Souche bactériennes :

Les souches des *E.coli*, *Salmonella*, et les *Staphylocoques* ont été isolées de différents produits pathologiques au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences.

#### 1.3.Autre matériels :

- Boite de PETRI
- Pipettes Pasteur
- Pipettes graduées
- Anse de platine
- Becher
- Entonnoir
- Fioles
- Flacons stériles
- Bain marie
- Micro pipettes
- papier filtre
- papier watman
- bec benzène
- tubes à essais stériles
- spatule

#### Appareils utilisés :

- rota – vapeur
- balance
- étuve
- réfrigérateur
- broyeur

#### Milieus utilisés :

- gélose nutritive
- gélose Mueller- Hinton
- bouillon nutritif

- eau physiologique
- solvants et réactifs :
- éthanol
- eau distillée
- hexane
- éther de pétrole
- acétate d'éthyle
- éther diéthyl
- n- butanol

## 2. METHODES :

### 2.1. Les souches bactériennes :

Les souches utilisées sont données par le laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences

### 2.2. Préparation de l'extrait de plante :(23)

**-séchage :** Après avoir amener la plante au laboratoire on la sèche en l'exposant à l'air pendant 6 jours puis on l'amise dans une étuve à 35°C pendant 3 jours.

**- Broyage :** nous avons fait le broyage des parties les plus jeunes de la plante à l'aide d'un broyeur de 8000 tours/mn pendant 25 secondes jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine.

**-Extraction hydro-ethanolique :** nous avons pris 93g du matériel végétal avec 1500 ml de l'éthanol dilué à 75% ( soit 105 ml d'éthanol +450 ml d'eau distillée ). Dans une fiole, et on laisse macérer pendant 6 jours .Puis on filtre le mélange à l'aide du papier filtre

**- Evaporation à sec :** on évapore l'éthanol et l'eau de l'extrait en utilisant le rota vapeur à la température 40°C/tour/mn pour obtenir un extrait sec.

-Reprise par l'eau bouillante, on prend l'extrait sec qu'on a obtenu au par avant et on lui ajoute de l'eau selon les quantités suivantes :

10g de matière végétal → 100 ml d'eau distillée.

93g de matière végétal → x ml d'eau distillée.

$$X=930 \text{ ml.}$$

On le laisse pendant 24 heures, et on le filtre pour la deuxième fois.

**Affrontement :** L'affrontement se fait par 5 solvants différents :

#### 1. Affrontement par l'éther de pétrole :

Afin d'éliminer la chlorophylle, nous avons ajouté 300 ml d'éther de pétrole à la phase aqueuse, après agitation énergique et repos de 10 mn, on met le mélange dans une ampoule à décantation deux phases sont obtenues :

- Une phase éther de pétrole en haut contenant la chlorophylle.
- Une phase aqueuse en bas.

**2. affrontement par l'hexane :** Pour éliminer les lipides nous avons ajouté 300 ml de hexane à la phase aqueuse après agitation énergique et repos de 10

mn , on met le mélange dans une ampoule à décantation deux phases obtenues :

- Une phase hexane en haut contenant les lipides.
- Une phase aqueuse en bas.

### **3. Affrontement par l'éther diéthylique :**

Dans le but d'extraire les aglucones , sur la phase aqueuse obtenue après affrontement par l'hexane , nous avons répété les même opération mais avec un autre solvant qui est l'éther diéthylique .Deux phases sont obtenues :

- La phase d'éther diéthylique contenant les aglucones en haut.
- La phase aqueuse en bas.

### **4.Affrontement par l'acétate d'éthyle :**

Afin d'isoler les monoglycosides , on emploie la même technique que précédemment , mais le solvant utilisé est l'acétate d'éthyle . De même deux phases sont obtenues :

- Une phase acétate d'éthyle contenant les monoglycosides en haut.
- Une phase aqueuse en bas

### **5.Affrontement par le N – butanol :**

Afin d'isoler les polyglycosides, on emploie la même technique que précédemment, mais le solvant utilisé est le N- butanol . De même deux phases sont obtenues :

- Une phase N- butanol contenant les polyglycosides en haut.
- Une phase aqueuse en bas.

#### **-Evaporation à sec :**

Les différentes phases :

- Phase éther
- Phase acétate d'éthyle
- Phase n-butanol

Ont subit une évaporation à sec dans le rota-vapeur . Pour chaque phase , l'évaporation s'effectue dans l'étuve à température 40°C .

La méthodes d'extraction des flavonoides est présenté dans le schéma 1 :

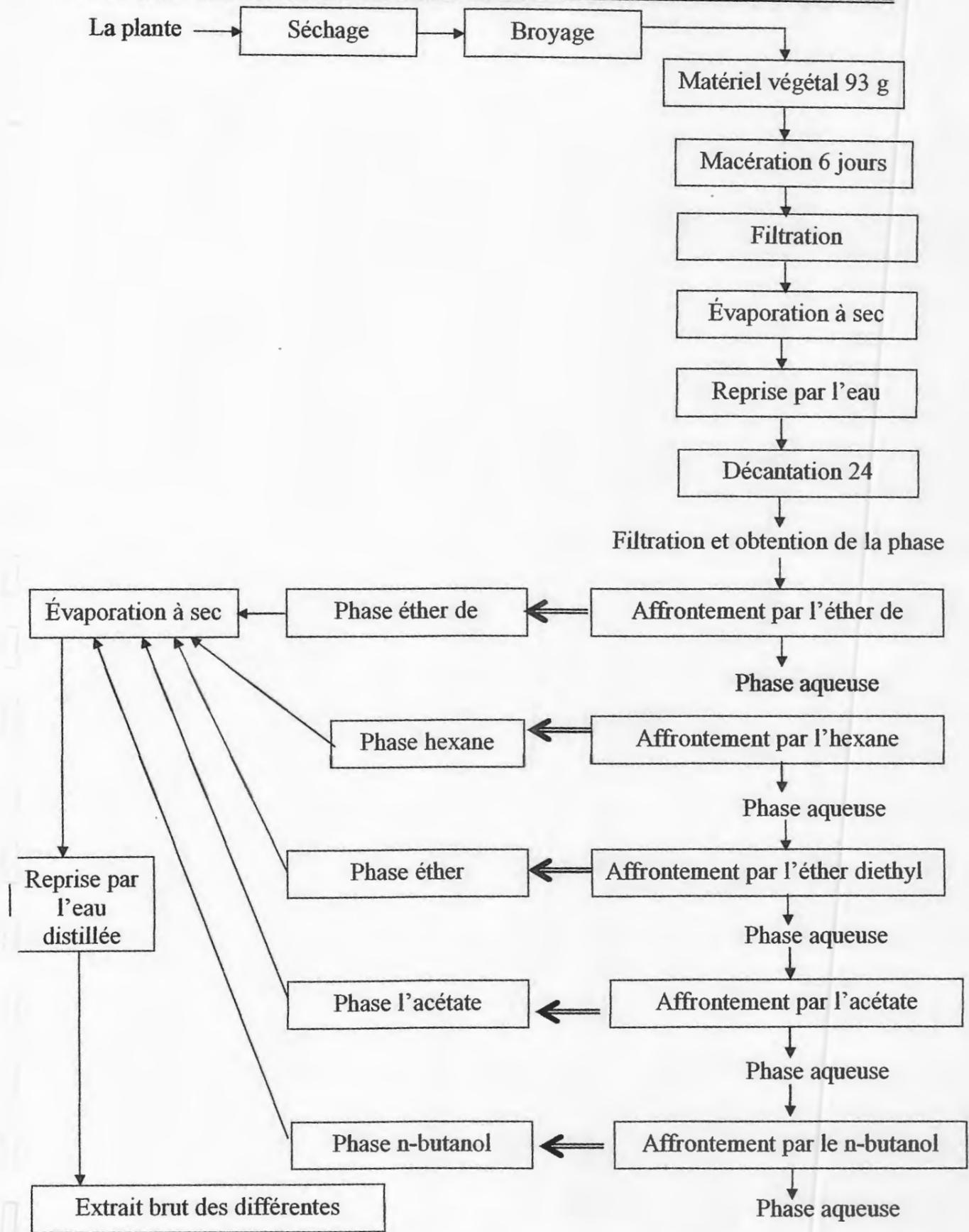


Schéma : protocole d'extraction des flavonoides (7)

**2.3 .Préparation des dilutions de l'extrait de la plante Ranunculus repens :**

Les volumes de l'extrait des flavonoides et de l'eau physiologique utilisée pour la préparation des dilutions sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 03 : les dilutions de l'extrait**

<b>Dilution</b>	<b>Volume en <math>\mu</math>l</b>	<b>Volume de l'extrait brut</b>	<b>Volume de l'eau physiologique</b>	<b>Volume total</b>
<b>1</b>		3000	0	3000
<b>1/2</b>		1500	1500	3000
<b>1/5</b>		600	2400	3000
<b>1/10</b>		300	2700	3000
<b>1/15</b>		201	2799	3000
<b>1/20</b>		150	2850	3000

## **2.5. Evaluation de l'activité anti-bactérienne sur les Entérobactéries et Staphylocoques :**

### **1. Préparation de l'inoculum:**

On met 10 ml d'eau physiologique avec une goutte du bouillon nutritif contenant le germe étudié dans un tube à essai stérile et on homogénéise la suspension par agitation. Inoculation par 0,5 ml de bouillon à 0,5 unité Mc Farland (9).

### **2. Ensemencement :**

- Couler la gélose Muller- Hinton sur les boîtes de pétri et on les laisse refroidir.
- On ensemence la totalité de la surface gélosée sèche avec quelque millimètre de l'inoculum bactérien on suit la méthode d'inondation.
- Aspire le liquide en excès à l'aide d'une pipette pasteur, puis le mettre sécher 20 minutes à 37°C.

### **\*Teste de diffusion en gélose :**

#### **Méthode des puits :**

- Préparer 06 puits dans chaque boîtes ensemencée et séchée (la diamètre de chaque puits est de 4mm).
- Mettre une goutte de gélose de conservation dans chaque puit et on laisse refroidir
- Ajouter dans chaque puit 50 µl de chaque dilution de l'extrait de façon à réaliser une gamme de concentration croissante.
- Il est important d'observer une pré diffusion de l'extrait de 30 mn à température ambiante, et de porter les boîtes à l'étuve.
- Incubation à 37°C pendant 18 heures.

# Résultats

**III.RESULTATS:****1.TESTE DE DIFFUSION SUR MILIEU SOLIDE :**

Le test de diffusion avec lequel , on a déterminé l'évaluation de l'action des extraits de la plante sur la croissance des germes : *E.coli*, *Staphylocoque*, *Salmonella*.

**\*Méthodes des puits:** Les résultats sont résumés dans les tableaux suivants: 4,5,6.

**1.1.résultat de l'activité des souches avec les aglycones :**

**TABLEAU 4 :** le tableau ci dessous représente les résultats des test d'activité des différent dilution des aglycones sur milieu solide .

LES germes	Aglycones					
	Les dilutions					
	1	1/2	1/5	1/10	1/15	1/20
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-

(-)=colonies réparties sur toute la surface de la gélose .

Sur les souches utilisées nous remarquons que les aglycones ne montrent aucune activité vu l'absence de la formation des zones d'inhibition vis-à-vis les différents suspension bactériennes .

**III.1.2. Résultats de l'activité des souches avec les monoglycosides :**

Les résultats se trouve dans le tableau 5.

**Tableau 5 :** Le tableau ci dessous est présente les résultats du test d'activité des différentes dilutions des monoglycosides sur milieu solide .

Les germes	Monoglycosides					
	Les dilutions					
	1	1/2	1/5	1/10	1/15	1/20
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-

Sur les souches utilisées nous remarquons que les monoglycosides ne montrent aucune activité vu l'absence de la formation des zones d'inhibition vis-à-vis les différents suspension bactériennes .

**III.1.3 .Résultat de l'activité des souches avec les polyglycosides :**

Les résultats sont représentés dans le tableau 6.

**Tableau 6 :** le tableau ci dessous représente les résultats des tests d'activité des différentes dilutions des polyglycosides sur milieu solide .

Les germes	Polyglycosides					
	Les dilutions					
	1	1/2	1/5	1/10	1/15	1/20
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-

Sur les souches utilisées nous remarquons que les polyglycosides ne montrent aucune activité vu l'absence de la formation des zones d'inhibition vis-à-vis les différentes suspensions bactériennes .

# *Discussion*

**DISCUSSION :**

Les plantes médicinales ont un grand intérêt pour les chercheurs biologistes vu leur richesse en substances médical et pharmaceutiques , et c'est à partir de cette derniers qu'on prépare les médicament et les antibiotiques pour faire face à la majorité des maladies (bactériennes , virals , ....etc).

Notre étude est basé sur la plante *Ranunculus repens* qui a été récoltée dans les prairies de CHAHNA de la wilaya de Jijel pendant la fin Mai. On a utilisé la méthodes chimique a l'extraction du flavonoides pour obtenir ces fractions (les aglycones , les monoglycosides, les polyglycosides) ces derniers se trouve en cours de la florissants(19). Les flavonoides sont également universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles(7).

La bibliographie à démontré que les flavonoides ont des propriétés anti-inflammatoire , antivirals, et antibiotiques (1).Nous avons préparées les dilutions de chaque fractions flavonoiques selon les volumes de l'extrait et de l'eau physiologique (1,1/2,1/5,1/10,1/15,1/20).

On a étudié leur éventuelles activités sur les souches bactériennes (*Salmonella* , *E.coli*, *Staphylocoque*) dont leur origines sont des produits pathologiques. On a utilisé la méthodes de diffusion dans le milieu solide

Notre but est de tester l'activité de la plante vis-à-vis des bactéries utilisées .

Des études précédentes ont été réalisées avec les même fraction flavonoiques , qui n'ont montrés aucune activité bactérienne, seulement la température utilisée lors de l'extraction était de 79°C cette température élevée, pourrait détruire les flavonoides d'ou les résultats obtenus . Pour cela nous nous sommes proposés à réaliser la même étude mais la température d'extraction que nous avons utilisés est de 40°C, température qui n' aucun effet sur les flavonoides .

Les différents extraits n'ont montré aucune activité sur les bactéries utilisées.

# *Conclusion*

### **Conclusion :**

Les connaissances des anciens thérapeutiques étaient loin d'être négligeables, car des milliers de traitements ont été expérimentés et parmi ceux-ci, les plantes se sont révélées dans la plupart des cas d'une efficacité et d'un secours estimable de ce fait on prouve qu'il ne s'agit pas d'une innovation thérapeutique, mais d'une mise au point méthodique et scientifique, basé sur les données souvent très anciennes, renouvelées, complétées et précisées par les techniques scientifiques actuelles.

Notre travail est basé sur l'extraction des fractions flavonoïques à partir de la plante *Ranunculus repens* on utilise la méthode chimique et sur l'effet de ces derniers sur les bactéries (*Salmonella*, *E.coli* *Staphylocoque*)

L'étude de l'activité des différentes fractions flavonoïques n'a montré aucune activité vis-à-vis des bactéries utilisées dans notre étude (*E.coli* *Salmonella*, *Staphylocoque*).

Pour cela, nous proposons la méthode chromatographique pour l'extraction, afin de confirmer des meilleurs résultats.

- [1] AMILLEC T, GERARD DUCERF, .Les plantes bio indicatrices,  
édition promonateur France .Janvier 2003 .p :71.
- [2] ANONYME , Larousse encyclopédie des plantes médicinales .  
Identification, préparation soins .Avril 2002 . p :260.
- [3] ANONYME. Secret et vertus des plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> édition .  
1985.p364.
- [4] AVRILJ L.dictionnaire pratique de bactériologie,  
copyright1991.p :41,42, 105, 106, 108,109.
- [5] BOULAHBEL F, Microbiologie s<sub>1</sub> clinique. Réimpression, 1993. p :127,  
128,129.
- [6] BOUSSEBOUA H. Microbiologie générale .édition de l'université  
MENTOURI Constantine (ALGERIE). Janvier 2002.
- [7] BRUNETON J. Pharmacognosie « phytochimie plantes médicinales »,  
2<sup>ème</sup> édition .tech et doc Lavoisier, p :266, 406,626.
- [8] BUGNICOURT MAX. Dictionnaire de microbiologie général, ellipses  
édition marketings S. A ,1995 . Paris, p :105, 347, 348, 486,  
893,894.
- [9] DABERNAT H, et collaborateurs .Bactériologie clinique, 2<sup>ème</sup>  
édition,1989. p :9, 10, 12, 24,105.
- [10] GRUND, Plantes médicinales. 6<sup>ème</sup> édition 1986 .p :6, 29,30, 31, 32,33
- [11] HALIMI ABD KADER. Les plantes médicinales en Algérie,  
1<sup>ier</sup> éditionAlger 2004.p :291.
- [12] IDOIR GALB, dictionnaire des sciences de la nature.2<sup>ème</sup> édition ISBN  
Janvier 1990.p :333.
- [13] JEAN-PAU, LARPENT.MONIQUE, GOURGAND,  
Mémentotechnique de microbiologie, 3<sup>ème</sup> édition ,TEC et

DOC Lavoisier,1997.p :340,345.

[14] LARPENT J.P. LARPENT-GOURGAND M. élément de microbiologie  
.hermane France 1985 .p :199, 201,207.

[15] MESSÈGUÉ MOURICE, Mon herbier de santé. Édition ROBERT  
LAFFONT sa .Paris 1983. p :14,15.

[16] OTENG K. GYANG. introduction à la microbiologie alimentaire dans  
les pays chauds.1984.p :225,226.

[17] PERROTI C , CARRAFFA N, S.ALI. Se soignes par les plantes.  
BERTI édition. 1999 .p :VII, IX, X.

[18] PRESCOTT. HARLEY. KLEIN. Microbiologie .1995.

[19] REDJAH ABDERRAHMANE, Du bon usage des antibiotiques  
infectiologie, Esh, el, Hadiflici , Alger . Algérie. Site  
Internet .p :1.

[20] SEGRESTAA J.M, CAULIN C, BERGMANN j-F. d'autre,  
thérapeutique 4<sup>ème</sup> édition 1991.p :15.

[21] SINGLETON PAUL, Bactériologie. 2<sup>ème</sup> cycle .4<sup>ème</sup> édition .DUNOD,  
Paris ,1999 .p :331.

[22] VERLAGS GESLLSCHAFT. KÖNEMANN .Botanica encyclopédie  
de botanique et d'horticulture. 2<sup>ème</sup> édition . 1999. p :734,735

[23] ZELLAGUIA ,méthodes d'extraction des flavonoides et alcaloides  
compte rendu du simminaire national sur les plantes  
médicinales . Institut de Biologie-centre universitaire de Jijel  
07-08 Mai2001 .pages :18-19

Site internet :

[24] <http://www.afleurdepau.com/flore/renon> .p :1.

[25] <http://www.chez.com/guatemalt/index> .p:1.

[26] <http://anne.decoستر.free.fr/staph> .p:1.

- [27] [www.microbes-édu , org /étudiant /staph .html .p :1.](http://www.microbes-édu.org/étudiant/staph.html)
- [28] [www.pasteur .fr /actu /pressase /documentation /staphylo.html .p :1.](http://www.pasteur.fr/actu/pressase/documentation/staphylo.html)
- [29] [www.liste.hygiene,org /staphy .p:1.mm](http://www.liste.hygiene.org/staphy)
- [30] [http://Files , chun . ch /chuv.files /dml /analyses /bactériologie .p :1.](http://Files.chun.ch/chuv.files/dml/analyses/bactériologie)
- [31] [http://Affssaps .sante .fr /html/alertes .p :1.](http://Affssaps.sante.fr/html/alertes)
- [32] [http://www. Plante pharma .com /p. pharma. Pharma .hsf.](http://www.Plante-pharma.com/p.pharma.Pharma.hsf)
- [33] CENTRE ARICO, direction des services technologiques mapaq, Guide d'identification des mauvaises herbes, site Internet, 1999. p :1, 2,5.
- [34] DENGUEZLI MOHAMED. Cours de dermatologie, Sousse TUNISIA .26/2/2000.p :1.
- [35] FLAND ROIS J-P, FLANDROIX. Antibiothérapie bases bactériologiques, site Internet ,1997 . p :1, 2, 3.



# Annexe

## Composition des milieux utilisés :

### 1- Bouillon nutritif :

- Extrait de viande .....5gr.
- Peptone pancréatique .....10 gr .
- Chlorure de sodium ..... 5gr.

### 2-Milieu de gélose nutritive :

- Extrait de viande de bœuf.....1gr .
- Extrait de levure .....2gr .
- Peptone ..... 5 gr .
- Chlorure de sodium .....5 gr.
- Gélose .....15 gr.

### 3-Milieu de mueller -hinton :

- Infusion de viande de bœuf .....300gr .
- Hydrolysate de caséine .....75 ,5 gr .
- Amidon.....1,5 gr .
- Gélose.....10 gr.

Présenté par : AZIEZE nassima  
LEKNOUCHE samira  
AZIEZE ibtissem

Date de Soutenance: Septembre 2005

**Titre :**

Evaluation de l'activité anti-bactérienne des différentes fractions flavonoïques de la plante *Ranunculus repens* vis-à-vis de *E.coli*, *Salmonella*, *Staphylocoque*

**Résumé :**

Les plantes médicinales ont toujours eu un rôle de grande importance sur la santé de l'homme et sur la survie de l'humanité.

Le présent travail consiste à mettre en évidence l'existence d'une éventuelle activité, anti-*Salmonella*, anti-*E.coli*, anti-*Staphylocoque* des fractions (aglycones, monoglycosides, polyglycosides) à partir de l'extrait de la plante *Ranunculus repens*. La cuvette a été faite la commune de CHAHNA wilaya de Jijel, durant ce travail nous avons utilisé la méthode de diffusion sur un milieu solide avec de différentes dilutions des fractions flavonoïques.

De cela on conclut que les fractions flavonoïques n'ont aucune activité anti-bactérienne.

**The summary:**

The medicinal plants always had a role of large importances on the health of the man and the survival of humanity.

This work consists in making an evaluation of the anti-*Staphylococcus* activity, anti-*Salmonella*, anti-*E.coli* of 3 extracts flavonoic of the plant *Ranunculus repens*. The cuvette was made the commune of CHAHNA wilaya of Jijel, lasting work we were used the method of diffusion on a solid medium with different dilutions from the flavonoic fractions.

Of that one concluded that the flavonoic fractions do not have any anti-bacterial activity.

**الخص:**

النباتات الطبية لها دور ذو أهمية كبيرة في صحة الإنسان واستمرار الإنسانية.

عملنا يركز على توضيح تأثير المركبات النشطة (aglycones, monoglycosides, Polyglycosides) من نبتة *Ranunculus repens* التي تم جمعها من مروج الشحنة بولاية جيجل على بكتيريا (*Salmonella*, *E.coli*, *Staphylocoque*)

لتقدير تأثير هذه المركبات استعملنا طريقة الانتشار على الوسط الصلب بعد إجراء التخفيفات للمستخلصات التي بينت في النهاية أن المركبات هذه ليس لها تأثير على بكتيريا (*Salmonella*, *E.coli*, *Staphylocoque*)

**Mots-clés :**Plantes médicinales- *Ranunculus repens*-Extraits de plante- *Staphylocoque* - *E.coli*- *Salmonella*-Antibiotiques-Activité antibactériennes.

**Responsable de recherche :**

Madame ROULA sadjia.