



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature
et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

Référence/

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté et soutenu par :
Salima BECHKI – Yousra BENAICHI

Le : dimanche 25 juin 2023

Contribution à l'évaluation de l'activité antibactérienne de différents extraits des plantes médicinales *Ruta tuberculata* et *Pergularia tomentosa*

Jury :

M. ZEROUAL Samir	MCA	Université de Biskra	Président
Mme. SAIDI Asma	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. DJOUAMAA Manel	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2022-2023

Remerciements

Nous Remercions Dieu Tout Puissant, Maitre Des Cieux

A Permis Démener A Bien Ce Travail

*Nous adressons tout d'abord nos sincères remerciements à notre Encadreur Madame **SAIDI ASMA** pour avoir bien encadré et diriger ce travail, avec une grande rigueur scientifique et la confiance qu'il nos accordé et nos ont permet de réalisée ce travail.*

Nous remercions les membres de jury chacun de son nom

*Mr **ZEROUAL SAMIR** et Dr **DJUOAMAA Manal**, d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.*

*Nous adressons nos profonds remerciements à Mr. **BEN KADDOURE BACHIR** pour toutes les informations Qu'il nous données et pour ces précieux conseils.*

*Et un merci spécial à Mr **Djerad Kamal** chef service des laboratoires du Département des sciences Agricoles pour son aide et ses efforts pour accomplir ce travail.*

*C'est un grand merci que j'adresse à tous les membres du Laboratoire de **EL-Majeed** (El Oued Souf) et du Laboratoire **El Nour** (ElMeghaier)*

Nos remerciements s'étendent également à tous

Nos enseignants durant les années des études. Enfin Nous Tenons A Remercier EgalemeNt Les Personnes Administratives Et Tous Ceux Qui Contribuer De Près Ou De Loin A L'élaboration De Ce Thème.

Dédicace

Je remercie dieu tout puissant qui me permet d'arriver à ce but.

Je dédié ce modeste travail à ma famille

«Famille Ben Aichi»

et à deux personnes les plus chers à mon cœur : mon père À celui qui fait partie de mon cœur à la personé la plus belle et la plus merveilleuse à mon meilleur exemple à celui au nom de ce qui je porte son nom avec fierté et honneur et Mamer à ma chérie qui a toujours été à mes côtés, j'espéré que tu seras avec moi jusqu'à la fin de ma vie

Le me souviens particulièrementde ma grand –mère

Necibetellia dieu a donné la vie

A me adorable frère: soufein

A mes chères sœurs : Hala, Manar, Salsabil, Lodjain et leurs enfants. Sodfaranim

Je le dédie aussi spécialement à ma binôme : Bechki Salima

Yousra

Dédicace

C'est avec l'aide et la grâce de l'Allah que nous avons achevé ce modeste travail que

Je le dédie :

A la grande femme sans qui je n'aurais pas grandi, à celle qui n'a pas lésiné sur moi et elle était tout pour moi, à ma grand-mère Zohra que

Dieu ait son âme.

A mes parents que Dieu leur fasse miséricorde.

A mes chères sœurs Sabrina, Fatiha et Mina

Ames chères Anes et Djoud

A mes oncles Mohammad, Kamal et Yahia

A ma tante Zahia et son chère marie Massoud

A toutes ma famille et mes chères cousines et tous ceux qui m'ont soutenu chacun son nom surtout : Aala, Hakim, Sadik, Warda, Soumia, Mira, hanane, chaima et souad.

A tous mes amis spatialement mon âme sœur Ahlem

A ma partenaire dans la réalisation de ce modeste travail Yousra.

Salima

Table des matières

Liste des Tableaux	III
Liste des Figures	II
Liste des abreviations	III
Introduction générale.....	1

Partie Bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur les plantes étudiées

1.1. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE	2
1.1.1. <i>Ruta tuberculata</i> forssk	2
1.1.2. <i>Pergularia tomentosa</i>	2
1.2. CLASSIFICATION BOTANIQUE	2
1.3. DESCRIPTION BOTANIQUE DES PLANTES ETUDIEES.....	3
1.4. COMPOSITION CHIMIQUE DES PLANTES ETUDIEES	4
1.5. UTILISATION TRADITIONNEL DES PLANTES ETUDIEES.....	5
1.6. ACTIVITE BIOLOGIQUE ET THERAPEUTIQUE.....	5
1.6.1. <i>Ruta tuberculata</i>	5
1.6.2. <i>Pergularia tomentosa</i>	6

Chapitre 2 : L'activité antimicrobienne

2.2. AGENTS CAUSAL DES MALADIES INFECTIESES	8
2.2.1. Bactéries	8
2.2.2. Champignons	9
2.3. ANTIBIOTIQUES	9
2.3.1. Définition.....	9
2.3.2. Classification des ATB.....	10
2.3.3. Mode d'action des ATB	10
2.3.4. Résistance aux ATB	11

Partie expérimentale

Chapitre 3 : Matériels et méthodes

3.1. MATERIELS.....	12
3.1.1. Matériel végétal.....	12
3.1.2. Souches bactériennes.....	12
3.1.3. Réactifs chimiques et les milieux de culture	12
3.2. METHODES	13
3.2.1. Préparation des extraits.....	13
3.2.1.1. Extraction aqueuse.....	13

3.2.1.2. Extraction méthanolique	13
3.2.1.3. Extraction par les autres solvant	13
3.2.2. Screening phytochimique	15
3.2.2.1. Caractérisation des saponosides	15
3.2.2.2. Caractérisation des coumarines	15
3.2.2.3. Caractérisation des alcaloïdes	15
3.2.2.4. Caractérisation des sterols et polyterpènes	15
3.2.2.5. Caractérisation des mucilages.....	15
3.2.2.6. Caractérisation des polyphénols	16
3.2.2.7. Caractérisation des quinones	16
3.2.2.8. Caractérisation des anthra –quinones	16
3.2.2.9. Caractérisation des Tanins	16
3.2.2.10. Caractérisation des flavonoïdes	16
3.2.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne de <i>R. tuberculata</i> et <i>P. tomentosa</i>	17
3.2.3.1. Repiquage et purification des souches	17
3.2.3.2. Activité antibactérienne	18
3.2.3.3. Préparation de l'inoculum.....	18
3.2.3.4. Ensemencement et application des disques.....	19
3.2.3.5. Détermination de CMI	19
Chapitre 4 : Résultats et discussion	
4.1. EXTRACTION ET CALCUL DE RENDEMENT.....	21
4.2. SCREENING PHYTOCHIMIQUE.....	22
4.2.1. Saponosides	23
4.2.2. Coumarines	23
4.2.3. Alcaloïdes	24
4.2.4. Polyterpènes.....	25
4.2.5. Mucilage	25
4.2.6. Quinones et les anthraquinones	26
4.2.7. Polyphénols.....	27
4.2.8. Flavonoïdes	27
4.2.9. Tanins	28
4.3. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE	30
4.3.1. Activité antibactérienne des antibiotique (l'antibiogramme)	30
4.3.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne de <i>P. tomentosa</i> et <i>R. tuberculata</i>	31
4.3.2.1. Evaluation de l'effet antibactérien des extraits de <i>P. tomentosa</i>	31
4.3.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de <i>R. tuberculata</i>	35
.....	37
4.4 DETERMENATION DE CMI.....	39
CONCLUSION.....	41
BIBLIOGRAPHIE	42
ANNEXES	

Liste des Tableaux

Tableau 1: classification systématique des plantes <i>R.tuberculata</i> et <i>P.tomentosa</i>	2
Tableau 2 : Description botanique des plantes étudiées.....	3
Tableau 3 : Composition chimique de deux plantes étudiées	4
Tableau 4: Souches causant les maladies infectieuses.	8
Tableau 5: Familles des ATB et leur mode d'action (Kassah-Laoua, 2020).	10
Tableau 6 : Résultat de test de criblage des saponosides.	23
Tableau 7 : Résultat de test de criblage des coumarines.	24
Tableau 8 : Résultat de test de criblage des alcaloïdes.	24
Tableau 9: Résultat de test de criblage des polyterpènes.	25
Tableau 10 : Résultat de test de criblage des mucilages.	26
Tableau 11 : Résultat de test de criblage des quinones et des anthraquinones.....	26
Tableau 12 : Résultat de test de criblage des polyphénols.	27
Tableau 13 : Résultat de test de criblage des flavonoïdes.....	28
Tableau 14 : Résultat de test de criblage des tanins dans les extraits du plant <i>R. tuberculata</i>	28
Tableau15 : Résultat de test de criblage des tanins dans les extraits de la plant <i>P. tomentosa</i>	29
Tableau 16: Diamètres des zones d'inhibition, de la croissance des souches testées, par les ATB.	31
Tableau 17 : Zone d'inhibition exhibées parles différents extraits de <i>P. tomentosa</i>	32
Tableau 18 : Zone d'inhibition exhibées parles différents extraits de <i>R. tuberculata</i>	35
Tableau 19 : Valeurs de diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne enregistrées par les différents extraits des plantes étudiées vis-à-vis les souches testées	39

Liste des Figures

Figure 1 :Photo de <i>R. tuberculata</i> (Alsafran et al. 2022)et <i>P. tomentosa</i> (photographie original 2023). Organes du <i>R. tuberculata</i> : (A) la palnte entière ; (B) les fleurs ; (C) les gaines.	4
Figure 2 :Schéma présentatif de la méthode d'extraction des parties aériennes des plantes étudiées en utilisant l'acétone et l'acétate d'éthyle	14
Figure 3 : Souches bactériennes étudiées dans un milieu GN A : <i>S. aureus</i> ; B : <i>E. coli</i> ;.....	17
Figure 4 : Préparation des extrait et des boites de pétri pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne	18
Figure 5 : Préparation des suspensions bactériennes.....	19
Figure 6 : Ensemencement et application des disques et les antibiotiques.	20
Figure 7 :Rendement d'extraction aqueuse, méthanolique, acétonique et par l'acétate éthyle de <i>Ruta tuberculata</i>	22
Figure 8 : Rendement d'extraction aqueuse, méthanolique, acétonique et par l'acétate éthyle de <i>Pergularia tomentosa</i>	22
Figure 9 : Zones d'inhibition de la croissance de différentes souches ciblent induites par les extraits (EAQ, EMet, EAc et EAcE) de <i>P. tomentosa</i>	33
Figure 10 :Zones d'inhibition de la croissance bactérienne exhibée par les différents extraits (EAQ, EMet, EAc et EAcE) de l'espèce <i>Ruta tuberculata</i>	37
Figure 11 : Détermination de CMI de différents extraits des plantes étudiées par la méthode de bactériogramme les résultats.....	42

Liste des abréviations

ATB : Antibiotiques

CMI: Concentration minimal inhibitrice

DMSO : Dimethylsulfoxyde

EAc : Extrait d'acétone

EAcE : Extrait d'acétate éthyle

EMet : Extrait méthanolique

EAQ : Extrait aqueux

EAQP : Extrait aqueux de *Pergularia tomentosa*

EAQR : Extrait aqueux de *R. tuberculata*

GN : Gélose nutritif

MH : Mueller Hinton

EAcP : Extrait d'acétone de *Pergularia tomentosa*

EAcR : Extrait d'acétone de *R. tuberculata*

EAcEP : Extrait d'acétate éthyle de *Pergularia tomentosa*

EAcER : Extrait d'acétate éthyle de *R. tuberculata*

EMetP : Extrait méthanolique de *Pergularia tomentosa*

EMetR : Extrait méthanolique de *R. tuberculata*

CIP5 : Ciprofloxacine

CIP10 : Ciprofloxacine

AX25 : Amoxicillin

CAZ30 : Ceftazidime

AMC30: Amoxicilline + acide clavulanique

ATM30: Aztréonam

ATM30: Acide nalidixique

E15 : Erythromycine

INTRODUCTION

GENERALE

Introduction générale

En plus des effets indésirables des antibiotiques, la plupart des souches bactériennes ont acquis la résistance aux ces médicaments avec le temps. Cela nous oblige à chercher des alternatives naturelles pour compenser les antibiotiques synthétisés et semi-synthétiques et au même temps pour augmenter leur efficacité contre les agents pathogènes.

Le meilleur alterné suggéré est les plantes médicinales, qui sont utilisées par l'Homme depuis près de 7000 ans en médecine traditionnelle et que certains animaux les consomment aussi dans un but thérapeutique. En plus, ils ont des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques (Debuigne, 1974). En effet, une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées telles que la racine, les feuilles, les fleurs, et les tiges (Dutertre 2011).

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), une plante médicinale est la plante qui contient une ou plusieurs substances bioactives pouvant avoir des vertus thérapeutiques. Leur action provient de leurs composés chimiques, en particulier les métabolites secondaires tels que les polyphénols (composés phénoliques, les flavonoïdes, les tannins...etc.), les alcaloïdes, les polytérpènes...etc. qui ont une efficacité dans l'inhibition de la croissance des microorganismes pathogènes en prévenant les maladies infectieuses (Sofowora 2010; Jomard et Fleury. 2009).

L'Algérie est un pays connu par sa grande diversité taxonomique, alors que la flore algérienne est très riche en plantes médicinales. *Ruta tuberculata* (Rutaceae) et *Pergularia tomentosa* (Asclepiadaceae) sont des espèces très répandues dans le Sahara algérien, elles ont été traditionnellement utilisées pour prévenir diverses maladies, grâce à leurs propriétés pharmacologiques (Hamdjet al. 2018; Laid et al. 2020).

Dans la présente étude nous avons tenté d'évaluer les activités antibactériennes de différents extraits des parties aériennes des plantes *R. tuberculata* et *P. tomentosa*. Dans ce contexte, nous avons déterminé les objectifs suivants :

Préparation de différents extraits des parties aériennes de *R. tuberculata* et *P. tomentosa* (EAQ, EMeT, EAc et EAce).

Criblage phytochimique des extraits préparés de *R. tuberculata* et *P. tomentosa*.

Evaluation de l'activité antibactérienne de l'EAQ, EMeT, EAc et EAce des deux plantes contre cinq souches bactériennes cibles

Détermination de la CMI des extraits efficaces contre les souches bactériennes testées.

Partie
Bibliographique

Chapitre 1

Généralités sur les plantes étudiées

1.1. Distribution géographique

1.1.1. *Ruta tuberculata* forssk.

Ruta tuberculata ou *Haplophyllum tuberculatum* forssk est une plante aromatique du genre *Ruta* (*Haplophyllum*) de la famille de Rutaceae comprendd'environ 70 espèces qui sont réparties de la région méditerranéenne à l'est de la Sibérie (Raissi et al. 2016). Cette plante pousse sur les collines sablonneuses et les pentes rocheuses des régions arides de l'Afrique du Nord à l'Asie du Sud-Ouest Asia (Salvo et al. 2011). Elle est répandue dans divers pays africains et dans certaines régions du Moyen-Orient et en Afrique tropicale, elle présente sous forme de petits arbrisseaux au soudan et en somalie (Schmelzer et Gurib-Fakim 2013).

1.1.2. *Pergularia tomentosa*

La famille de Asclepiadacea comprend d'environ 200 genres et 2500 espèces parmi les quelles l'espèce *Pergularia tomentos* adu genre *Pergularia*. Cette plante est largement répandue dans la région du Golfe à l'Arabie saoudite et Oman, l'Afrique (en Soudan du Nord, Égypte, Éthiopie, Algérie, Niger et Kenya) et le Moyen-Orient (en Jordanie, Irak, Iran, Pakistan et Afghanistan) (Babaamer et al. 2013). En effet, il a été rapporté que cette espèce est d'origine du Moyen-Orient et d'Afrique du Nord (Al-Said et al. 1988; Gohar et al. 2000).

1.2. Classification botanique

La classification systématique de deux plantes est comme indiquée dans le tableau 1

Tableau 1: classification systématique des plantes *R. tuberculata* et *P. tomentosa*

Règne	Plante	Plante
Embranchement	Spermatophyta	Spermaphytes.
Classe	Eudicotyledonae	Dicotylédones.
Sous Classe	Rosidae	Rosidae.
Ordre	Sapindales	Gentianales.
Famille	Rutaceae	Asclépiadacée.
Genre	<i>Haplophyllum</i>	<i>Pergularia</i> .
Espèce	<i>Haplophyllum tuberculatum</i> ou <i>Ruta tuberculata</i> forssk (Acheuk et al. 2012)	<i>Pergularia tomentosa</i> L. (Ozenda 1991)
Nom vernaculaire	Chedjret-er-rih ou El-Fidjel (Duveyrier 1864; Hammiche et Maiza. 2006).	Ghalqa (Babaamer et al. 2013)

1.3. Description botanique des plantes étudiées

La description botanique des plantes étudiées dans notre travail est résumée dans le tableau suivant (Tableau 2).

Tableau 2 : Description botanique des plantes étudiées

<i>R. tuberculata</i>	<i>P .tomentosa</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Un arbuste à fleurs d'environ 40 à 60 cm de l'hauteur à tiges vertes très ramifiées (Figure 1 A). • Les feuilles sont alternes et elliptiques à obovales (Al-Muniri et Hossain. 2017) . • Les fleurs sont disposées en panicules terminales lâches avec cinq sépales ovales libres. • Les 10 étamines sont filamenteuses et densément poilues à l'intérieur. • Les pétales sont de cinq et de couleur jaune vif (Figure 1 B) et les gousses matures portent des graines brun foncé à noir brunâtre(Figure 1 C) (Al-Burtamani et al. 2005; Alsafran et al. 2022) . 	<ul style="list-style-type: none"> • Un arbuste vivace qu'il pousse autour de 50 cm pour atteindre un mètre dans les conditions favorables(Babaamer et al. 2013), il a un aspect touffu grâce à ses jeunes rameaux qui s'enroulent souvent autour des branches plus âgées (Ozenda 1991 ; Médail 2004)et se caractérise par une odeur particulière (Figure 1 D). • Ses feuilles sont à longue tige à 5 cm de diamètre, ont une forme corombo-ovales et encœur à la base (Figure 1 E), les fleurs sont de longueur 8 mm à couleur blanche pourpres et ordoriférantes avec une corolle tubulaire vert jaunâtres ou violet brunâtre (Figure 1 F). Les feuilles et les fruits secretent un liquide blanc collant. • Les fruits mesurent 7 cm de long, ce sont folliculairement groupés par paires, fusiformes, ramifiés, couverts de grossièreté, pubescents et encrochées à leurs somme, et contiennent des graines (Figure 1 G) (Benhouhou 2005; Schmelzer et Gurib-Fakim 2013).

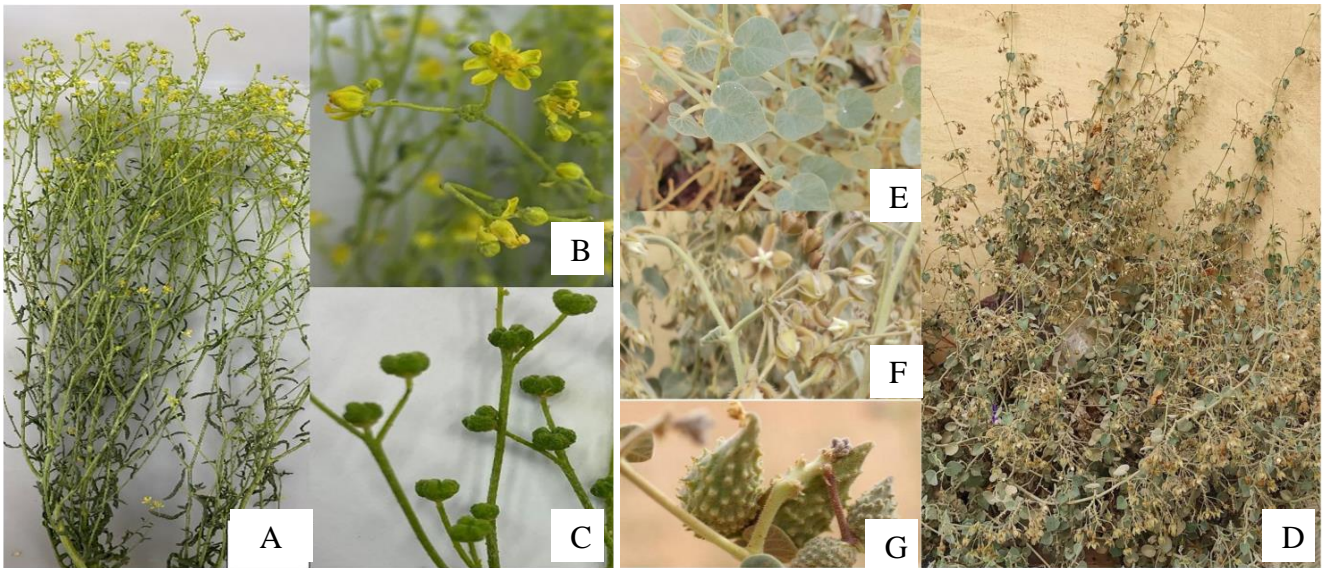


Figure 1 :Photos de *R. tuberculata* (Alsafran et al. 2022) et *P. tomentosa* (photographe original 2023).

Les organes du *R. tuberculata* : (A) la palnte entière ; (B) les fleurs ; (C) les gaines.

Les organes de *P. tomentosa* : (D) plante entière ; (E) les feuilles ; (F) les fleurs ; (G) les graines.

1.4. Composition chimique des plantes étudiées

Les analyses phyto-chimiques réalisées sur les déférents extraits des plantes *R. tuberculata* et *P. tomentosa* ont confirmé la richesse des espèces étudiées en métabolites secondaires qui sont illustrés dans le tableau 3

Tableau 3 : Composition chimique de deux plantes étudiées

<i>R. tuberculata</i>	Références	<i>P. tomentosa</i>	Références
Alcaloïdes ; Furanocoumarins ; Coumarins ; Flavonoïdes ; Lignanes ; Huiles fixes ; Huiles volatiles.	(Abdelkhalek et al. 2020) (Al-Brashdi et al. 2016)	Flavonoïdes ; Tanins Anthraquinones ;Glycosides cardiaques ; Glycosides ;Cyanogènes ; Glucouzarin ;Coroglaucigenin ; Uzarigenin ; Cardénolides.	(Al-Said et al. 1988; Hassan et al. 2007)
Tanins ; Stéroïdes ; Huiles essentielles ; Glucides.	(Al-Snafi 2018)	Eléments minéraux (Phosphore ; Potassium . Sodium ; magnésium ; Calcium) .	

1.5. Utilisation traditionnel des plantes étudiées

Les plantes *R. tuberculata* et *P. tomentosa* sont largement utilisées en médecine traditionnelle pour traiter de nombreuses maladies, et l'usage de ces plantes se varie dans une région à une autre.

En Algérie, la plante *R. tuberculata* a été utilisée comme antiseptique, un calmant et un hypnotique neurologique. De plus, elle est intégrée dans le traitement des blessures et des ulcères, la constipation, le côlon, diarrhée, le ballonnement et les gaz, l'infertilité, le diabète, la fièvre et les maladies du foie. Comme elle est employée pour traiter l'otite, le rhumatisme, l'obésité, l'hypertension, douleurs menstruelles, les maladies cardiaques, les piqûres de scorpion, la grippe, vomissements, l'inflammation de la gorge, l'amygdalite, le toux et la perte d'appétit (Hadjadj et al. 2015). En Oman, le jus des feuilles est utilisé comme un remède contre les maux de tête et l'arthrite et pour enlever les verrues et les taches de rousseur de la peau, et même dans le traitement de la décoloration de la peau et les infections et les maladies parasitaires (Mossa et al. 1987). En Arabie saoudite, cette plante est utilisée pour traiter la paludisme, l'arthrite rhumatoïde et les troubles gynécologiques (Al-Yahya et al. 1992). Alors que dans la médecine égyptienne traditionnelle ancienne, cette espèce a été utilisée contre les problèmes digestifs et les problèmes gynécologiques et la polyarthrite rhumatoïde et comme cosmétique pour faire grandir les cheveux par meurtrissant les feuilles dans l'eau et en lavant les cheveux (Lindley 1846).

Concernant la plante *P. tomentosa*, elle a été utilisée contre la diarrhée, et dans le traitement de la bronchite et la tuberculose, certaines maladies de la peau et comme un Hypoglycémiant. De plus, elle est utilisée comme un agent dépilatoire, laxatif, antihelminthique et abortif, ainsi, la sève des feuilles a été utilisée comme une instillation oculaire et comme un remède souverain pour les maux de la tête, alors que les racines sont incorporées dans le traitement de la bronchite, la constipation et certains maladies de la peau (Benchelah et al. 2001; Burkill 1995; Hamed et al. 2006; Hammiche et Maiza 2006). Le latex des tiges et des feuilles a été utilisé contre les infections cutanées (*Tinea capitis*) mais il peut irriter la peau et les yeux en provoquant une inflammation sévère (Mossallam et BaZaid 2000).

1.6. Activité biologique et thérapeutique

1.6.1. *Ruta tuberculata*

Selon les travaux réalisés par Djouahra (2012), *R. tuberculata* a montré une bonne activité antioxydante attribuée à son contenu en polyphénols par rapport à son extrait d'alcaloïdes. En s'appuyant sur les études de Al-Snafi (2018) et Elsayed et Sabry (2016) l'extrait éthanolique de polyphénols et des alcaloïdes ont montré une activité antibactérienne moyenne contre les souches *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Cependant, l'extrait éthanolique de la partie

érienne de la plante a présente une activité antifongique remarquable contre les souches *Aspergillus fumigates*, *Geotricum candidum* et *Syncephalastrum racemosum* et un pouvoir antibactérien piossant contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

Les huiles volatiles de cette plante ont exhibé un effet antibactérien important contre *Enterococcus faecalis* et *Lactobacillus acidophilus*, comme elle inhibé effectivement la croissance des souches *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis* et *Bacillus subtilis*, en affectant également la croissance mycélienne de *Curvularia lunata* et de *Fusarium oxysporium*. Ces métabolites extraits de la plante *R. tuberculata* ont révélé également une bonne activité anti-inflammatoire remarquable (Al-Burtamani et al. 2005; Al-Snafi 2018). De plus, il a été informé que *R. tuberculata* peut exercer un effet molluscicide végétal (Rizk et al. 2012) et un effet cytotoxique (Gonzalez et al. 1979) et cardiovasculaire (Mohamed et al. 1996).

1.6.2. *Pergularia tomentosa*

En se basant sur les travaux de Hammiche et Maiza (2006), la plante *P. tomentosa* a été utilisée pour traiter les troubles respiratoires et comme un agent antirhumatismal, où les cardénolides extraits de *P. tomentosa* présentent une activité molluscicide. Cette plante a révélé aussi un effet hypoglycémique persistant (Shabana et al. 1990) et un effet antifongique contre les souches *Aspergillus niger* (Shinkafi 2014). Shinkafi (2013) a montré que la présence des métabolites secondaires dans cette plante a lui donné une activité antidermatophytique importante contre les dermatophytes.

Chapitre 2

Activité antibactérienne

2.1. Généralités sur les maladies infectieuses

Les maladies infectieuses (MI) sont causées par des agents pathogènes tels que les bactéries, les virus et les champignons (Nicolle. 2013). qui pénètrent dans nos organismes par diverses voies. La voie cutanée, digestive, muqueuse, uro-génitale et respiratoire sont les principales voies d'entrée de ces agents pathogènes. Il est important de noter que la réponse des organismes se varie d'un individu à un autre. Certaines infections peuvent être légères et se résoudre sans traitement, tandis que d'autres peuvent être graves voire mortelles si elles ne sont pas traitées rapidement et efficacement. Il est donc essentiel de prendre des mesures préventives telles que le lavage des mains, la vaccination et l'utilisation de protections personnelles (masques, gants) pour réduire le risque d'infection. En cas de l'apparition des symptômes d'infection, il est important de consulter un professionnel de la santé pour un diagnostic précis et un traitement approprié (Prescott et al. 2010).

2.2. Agents causal des maladies infectieuses

2.2.1. Bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires procaryotes vivants. Elles ont une taille de quelques micromètres de long (0,5 à 5 um) et peuvent adopter différentes formes, telles que des formes sphériques (coques), des formes allongées ou en bâtonnets (bacilles), et des formes plus ou moins spiralées (spirilles). Les bactéries se trouvent partout et sont présentes dans divers biotopes tels que le sol, l'air et l'eau. Cependant, parmi la grande diversité des espèces bactériennes, certaines sont pathogènes et peuvent provoquer des maladies infectieuses telles que le choléra, la syphilis et la tuberculose (Hahn et al.2003). Les bactéries peuvent être classées en fonction de la présence ou l'absence de la paroi et alors de leur réaction à la coloration de Gram, qui permet de distinguer deux types :

Les bactéries à Gram positif : Elles apparaissent de couleur mauve lorsqu'observées au microscope. Les bactéries à Gram négatif : Elles apparaissent de couleur rose lorsqu'observées au microscope. Dans le tableau ci-dessous on a cité certaines souches bactériennes et les maladie qu'elles causent.

Tableau 4: Souches causant les maladies infectieuses.

Nom d'agent causal	Infection (s)	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i>	Septicémie	(Cronberg et al.1988)

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pneumonie et infections nosocomiales	(Delmas 2007)
<i>Escherichia coli</i>	Infection urinaire	(Flandrois et al. 1997)
<i>Klebsiella</i> sp.	Méningite et infections septicémiques	(Schaechter et al. 1999)

2.2.2. Les champignons

Les champignons sont des organismes eucaryotes immobiles et hétérotrophes qui se nourrissent par absorption, ils sont également connus sous le nom de mycètes ou de fungi (Chabasse 2013). Ils existent sous forme unicellulaire (levures) ou pluricellulaire, avec une structure composée d'hyphes qui forment un mycélium, un agglomérat de filaments. Ce mycélium peut être invisible à l'œil nu (micromycètes), sauf en cas de développement intense formant des "colonies". Cependant, certains champignons sont toujours visibles (macromycètes), en particulier par leurs chapeaux ou carpophores, qui sont leurs organes reproducteurs. Les champignons se distinguent des plantes par l'absence de chlorophylle et de cellulose dans leur paroi, et ils diffèrent des animaux par leur immobilité (Adelaïde 2008).

2.3. Les antibiotiques

2.3.1. Définition

Effectivement, le mot antibiotique est dérivé du grec et signifie littéralement: contre (anti) les organismes vivants (biotiques). Le radical « biotique » signifie ici plus précisément contre les bactéries. Le terme "antibiotique" est spécifiquement utilisé pour décrire des substances qui agissent contre les bactéries (Kassah-Laoua. 2020).

Antibiotique est alors un médicament qui s'oppose à la multiplication des bactéries nuisibles ou qui a détruit ces bactéries. Il est susceptible d'être d'origine naturelle ou synthétique, celui-ci est l'un des substances chimiques qui ont une action spécifique avec un pouvoir destructeur sur les micro-organismes (Kassah-Laoua. 2020). Ces substances sont dépourvues de qualité pour les autres cellules. Certains antibiotiques sont bactéricides, ce qui signifie qu'ils tuent les bactéries, tandis que d'autres sont bactériostatiques en empêchant la croissance et la reproduction des bactéries. Fait intéressant, bien qu'il existe un grand nombre de molécules antibiotiques, seule une petite partie d'entre elles est utilisée en médecine pour traiter les infections bactériennes.

2.3.2. Classification des ATB

Selon la nature chimique, il s'agit de 14 familles de classes les antibiotique qui sont : (Prescott et al. 2010).

- les bêtalactamines
- les céphalosporines
- les phénicolés
- les macrolides apparentés (MLS)
- les quinolones
- les nitrofuranes,
- les glycopeptides
- les pénicillines
- les aminosides
- les tétracyclines
- les polypeptides, les sulfamidestríméthoprime,
- les nitro-imidazoles
- les rifamycines
- les oxazolidinones

2.3.3. Mode d'action des ATB

Les modes d'action de différents antibiotiques ont été listés dans le tableau suivant

Tableau 5: Familles des ATB et leur mode d'action (Kassah-Laoua. 2020).

Action	Famille	Exemple
Inhibiteurs de la synthèse des enveloppes bactériennes	Bêta - Lactamines	Amoxicilline Ampicilline
Inhibiteurs de synthèse des acides aminés et des protéines	Aminosides	Amikacine sulfate Gentamicine
	Macrolides	Amphotericine B Azithromycine
	Phénicoles	Thiamphénicol
	Cyclines Acides	Chlortetracycline Doxycycline Lymécycline Méthylène cycline
	Acides fluidiques	Acide fusidique Linézolide Tedizolide

	Oxazolidinones	
Inhibiteurs de synthèse des acides nucléiques	Quinolones	Acide pipémidique Fluméquine
	Quinoléines	Hydroxyquinoléine
	Mupirocine	Mupirocine
Inhibiteurs de synthèse des acides foliques	Sulfamides	Sulfadiazine/Pyriméthamine Sulfaméthizol

2.3.4. Résistance aux ATB

Les antibiotiques ont conduit à une sélection de souches microbiennes résistantes. Cette résistance peut être due à des mutations génétiques naturelles ou à l'acquisition de gènes de résistance par le biais d'éléments génétiques mobiles tels que les plasmides, les phages, les transposons et les intégrons. La recherche de nouveaux agents antimicrobiens efficaces et bien tolérés par l'organisme est donc devenue essentielle. Il est nécessaire de trouver des alternatives aux médicaments synthétiques traditionnels qui pourraient être plus efficaces contre les souches résistantes tout en minimisant les effets délétères sur la santé humaine. (Garcia-Ruiz et al. 2008; Kempf et al. 2009).

Partie

Expérimentale

Chapitre 3

Matériel et Méthodes

3.1. Matériel

3.1.1. Matériel végétal

Les plantes à étudier ont été récoltées en Mars et avril 2023, *Pergularia tomentosa* de la région de El-hadjeb nord-ouest de wilaya de Biskra et *Ruta tuberculata* de la région de El Horaya (Ain Naga) wilaya de Biskra. L'identification des espèces sélectionnées a été effectuée au niveau du département de sciences de la nature et de la vie, Université de mohamad khider Biskra par Dr. Benmateur Tarek.

Après la récolte des parties aériennes de nos plantes, elles sont nettoyées des impuretés, puis séchées à l'ombre dans un endroit sec et à température ambiante pendant quelques jours, ensuite elles sont emballées et stockées à température ambiante.

3.1.2. Souches bactériennes

Les souches testées dans ce travail sont Cinq souches Cliniques (proviennent de laboratoire El-Nour El Meghaier) dont trois souches bactéries à Gram négatif (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*), une Cocci à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et une souche référencée à Gram positif *Bacillus subtilis* (ATCC 11774) les souches ont été conservées dans les biotes pétri dans la gélose nutritive et dans des tubes (en bouillon nutritive) à 4°C jusqu'à les utiliser.

En effet, ces souches ont été choisies pour leur disponibilité, leur pathogénicités et ce sont l'origine de plusieurs infections (urinaire, cutanée, nosocomiale...).

3.1.3. Réactifs chimiques et les milieux de culture

Réactifs chimiques : Trichlorure de fer (FeCl_3), Diméthylsulfoxyde (DMSO), chlorure d'hydrogène (HCl), hydroxyde de potassium (KOH), hydroxyde de sodium (NaOH), réactif de Mayer, chloroforme, anhydride acétique, acide sulfurique, Formaldéhyde, NaCl 0.09%, Formaldéhyde, formone, réactif de Mayer (chlorure de mercure HgCl_2 et iodure de potassium KI).

Les différents solvants : Ether de pétrole, acétate d'éthyl, acéthane, Méthanol.

Les milieux de cultures : Bouillon nutritif, Gélose nutritif (GN) et Mueller hinton (MH).

Les antibiotiques : Ciprofloxacine (CIP5 et CIP10), Amoxicillin (AX25), Ceftriaxone (CAZ30), Amoxicilline + acide clavulanique (AMC30), Aztréonam (ATM30), Acide nalidixique (NA30), Erythromycine (E15).

Les antibiotiques utilisés ont été choisis pour leur disponibilité et leur efficacité sur les souches bactériennes à tester.

3.2.Méthodes

3.2.1. Préparation des extraits

3.2.1.1.Extraction aqueuse

Nous avons fait l'extraction aqueuse des plantes selon la méthode de Ratheesh et Helen (2007), par la décoction de 100g de *R. tuberculata* dans 1L de l'eau distillée et 70g de *P. tomentosa* dans 700ml de l'eau distillée et chauffées pendant 15 min, puis nous filtrons de la solution et les filtrats obtenus ont été séchés dans l'étuve à 40°C pendant quelques jours. Les extraits aqueux (EAQR et EAQP), obtenus en poudre jaune, ont été conservés à -4°C jusqu'à leur utilisation.

3.2.1.2.Extraction méthanolique

Selon la méthode de Bekheet et al.(2011) et Khlifi et al.(2013), l'extraction méthanolique a été réalisée par la macération de 100g des parties aériennes de chacune des plantes *R. tuberculata* et *P. tomentosadu* méthanol/eau 80% (v/v) pendant 48h. Après filtration et évaporation du méthanol, les extraits méthanoliques (EMetR et EMetP) récupérés ont été conservés à -4°C.

3.2.1.3.Extraction par les autres solvants

L'extraction acétonique (EAc) et dans de l'acétate d'éthyle (EAcE) de deux plantes ont été effectuées selon la méthode de Kacem et al.(2015), avec des petites modifications, comme montre la figure ci-dessous.

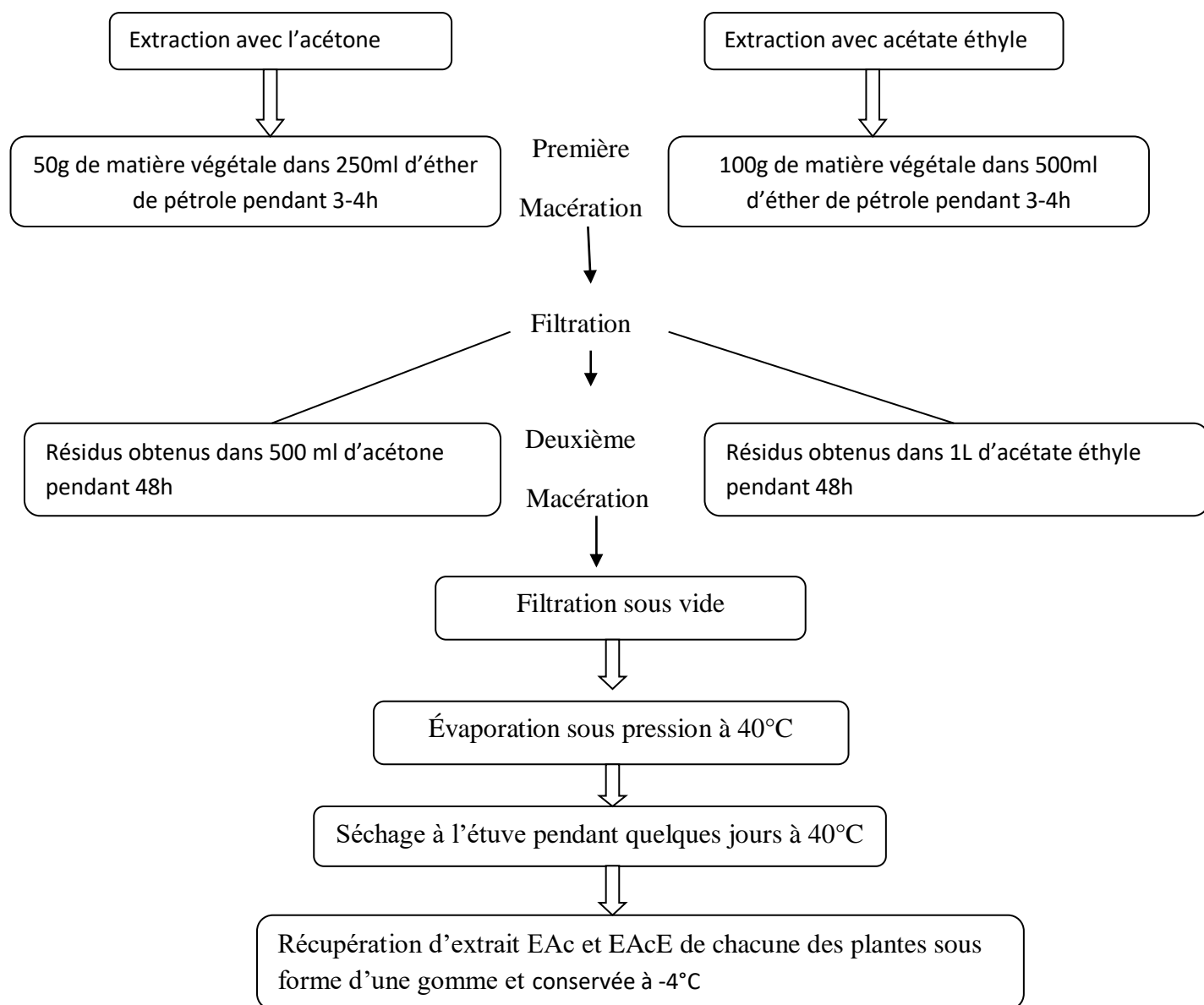


Figure 2: Schéma présentatif de la méthode d'extraction des parties aériennes des plantes étudiées en utilisant l'acétone et l'acétate d'éthyle.

Le rendement de chaque extrait a été calculé selon l'équation suivante :

$$R (\%) = (M_{ext} / M_v) \times 100$$

R(%) : Rendement (%)

M_{ext} : Masse d'extrait obtenu après le séchage (g)

M_v : Masse de matière végétal initial (g)

3.2.2. Screening phytochimique

3.2.2.1. Caractérisation des saponosides

Selon la méthode de Aliyu et Bala (2011); Dohou et al. (2003) avec des modification , la présence des saponosides dans les extraits (EAQ, EMet, EAc et EAcE) des parties aériennes de *R. tuberculata* et *P. tomentosa* a été détectée après un agitation manuelle pendant 15- 30 seconds de 0.02g d'extrait dissous dans 2ml de l'eau distillé, l'apparition d'une mousse de 1cm d'hauteur après 15 min de repos indique la présence des saponosides.

3.2.2.2. Caractérisation des coumarines

la présence des coumarines a été confirmé par l'apparition d'une couleur jaune disparait par l'addition de 10 gouttes d' HCl concentré à 0.05 g de chaque extrait fondus dans 2 ml de méthanol et quelque gouttes de KOH 10% (Hindumathy 2011).

3.2.2.3. Caractérisation des alcaloïdes

Une quantité de 0.05g de différents extraits de *R. tuberculata* et *P. tomentosa* a été dissous dans 2 ml du méthanol et la solution a été agité pendant 1 min. Après un 24h de repos nous avons effectué une filtration puis 2 ml de solution de HCl (1%) a été ajoutée à 2 ml de filtrat puis ce mélange a été chauffée et nous avons ajouté quelques gouttes de solution de Mayer après une deuxième filtration, La présence d'alcaloïdes a été détectée par l'observation d'une turbidité ou d'un précipité jaune (Aliyu et Bala 2011).

3.2.2.4. Caractérisation des stérols et polyterpènes

D'après N'Guessan et al. (2009), la réaction de Libermann a cherché la présence les stérols et les polyterpènes. Une quantité de 10 mg de chaque extrait de l'un des plantes *R. tuberculata* et *P. tomentosa* est combinée avec 1ml d'anhydride acétique et 0,5 ml de chloroforme. Après dissolution, les solutions sont transférées dans des tubes à essai où 0,5 ml d'acide sulfurique concentré est ajouté. Le test est positif lorsque l'apparition d'un anneau pourpre ou violet devenant bleu puis vert pendant l'interphase.

3.2.2.5. Caractérisation des mucilages

Selon la méthode de Amadou (2006), les mucilages ont été détectés dans les extraits des deux plantes étudiées par la formation d'un précipité floconneux après 10 min d'agitation d'une quantité de 0.05g de chaque extrait dissous dans 2 ml de méthanol.

3.2.2.6. Caractérisation des polyphénols

La présence de polyphénols a été détectée par l'apparition d'une couleur bleu-noirâtre ou verte après l'addition d'une goutte de la solution méthanolique de FeCl_3 à 2% à un volume de 2ml de chaque extrait (dissous dans le méthanol) (N'Guessan et al. 2009).

3.2.2.7. Caractérisation des quinones

Pour la confirmation de la présence des quinones, la méthode de (Dohou et al. 2003) a été suivie avec des petites modifications. Tout d'abord, une quantité de 0.05g de chaque extrait de deux plantes a été préparée à 2 ml de l'éther de pétrole. Les extraits sont filtrés après une agitation manuelle d'une minute et un repos de 24 heures. Le virage d'une couleur jaune, rouge ou violette dans la phase aqueuse après d'ajouter quelques gouttes de la solution de NaOH 10% indique la présence des quinones.

3.2.2.8. Caractérisation des anthra-quinones

Un volume de 2 ml de chloroforme a été ajouté à 0.05g de chaque extrait de *R. tuberculata* et *P. tomentosa*, les solutions ont été filtrées. Après une agitation manuelle et un repos de 24h, nous avons ajouté des gouttes de KOH (10%) et fait une agitation. L'identification des anthraquinones est confirmée par un changement de couleur de la phase aqueuse au rouge (Dohou et al. 2003).

3.2.2.9. Caractérisation des Tanins

Pour la préparation des solutions des extraits, une quantité de 0.02g de chaque extrait a été ajoutée à 2ml du méthanol, après ajout d'un volume de 5ml du réactif de Stiasny (10ml de formaldéhyde + 5ml d'HCl concentré), le mélange est mis au bain-marie pendant 30 min à 80°C.

La présence des tanins catéchiques est détectée lorsque nous avons observé un précipité en gros flocons. Après la filtration du mélange précédent nous avons ajouté 2 à 3 gouttes de FeCl_3 (1%) au filtrat collecté et saturé d'acétate de sodium. Alors que, la présence des tanins galliques a été confirmée par l'observation d'une couleur bleu-noir intense et en brun verdâtre en présence de tanins catéchiques.

3.2.2.10. Caractérisation des flavonoïdes

Selon Aliyu et al. (2011), les flavonoïdes étaient présents dans les parties aériennes des plantes étudiées *P. tomentosa* et *R. tuberculata* et l'apparition d'une couleur rouge après la libération d'hydrogène par la réduction des flavonoïdes aglycones en anthocyanes va

confirmer leur présence. Pour cela, 10 mg de chaque extrait a été dissous dans 2 mL de méthanol (50%) et la solution a été chauffée au bain-marie. Un volume de 5 ml d'HCl et quelques copeaux de magnésium ont ensuite été ajoutés.

3.2.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne de *R. tuberculata* et *P. tomentosa* :

3.2.3.1. Repiquage et purification des souches

A partir des souches isolées et identifiées au niveau de laboratoire El Nour El M'ghair, nous avons fait un repiquage dans un milieu liquide dans des tubes contenant 5 ml de bouillon nutritif. Après l'incubation des tubes dans l'étuve à 37°C pendant 24h, l'observation d'une turbidité dans le bouillon est un signe de la croissance de ces bactéries.

Pour la purification des souches, dans des conditions stériles, toutes les souches ont été purifiées par repiquage successif sur des boîtes de pétri contenant la gélose nutritive (GN) et ensemencées à l'aide d'une anse de platine à partir du bouillon nutritif et incubées à l'étuve à 37 °C pendant 24h. L'homogénéité des colonies bactériennes après l'incubation indique la pureté des souches. Les souches sont conservées à -4° dans les boîtes et les tubes jusqu'à l'utilisation.

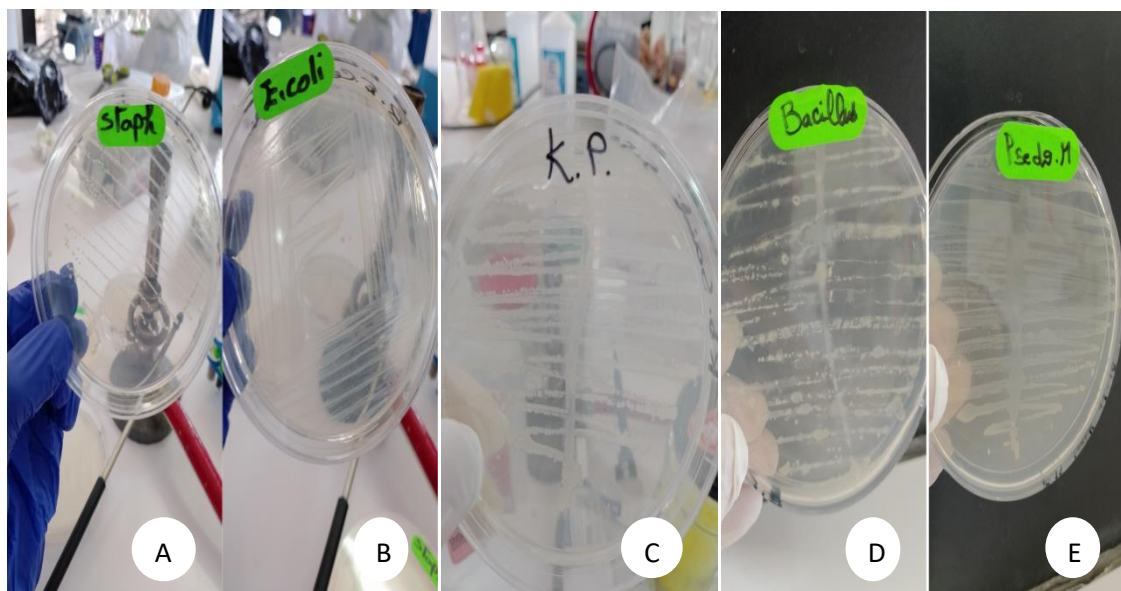


Figure 3 : Souches bactériennes étudiées dans un milieu GN **A :** *S. aureus* ; **B :** *E. coli* ;
C : *K. pneumoniae* ; **D :** *B. subtilis* ; **E :** *P. aeruginosa*

3.2.3.2. Activité antibactérienne

En se basant sur les travaux de Boukhatem et al. (2014); Rahal (2005), l'effet antibactérien des différents extraits des plantes étudiées est déterminé par la méthode de l'aromatogramme, appelée également la méthode de diffusion sur un milieu solide. Cette méthode se fonde sur la diffusion des extraits étudiés, imbibés sur des disques en papier Watman stériles (de 6 mm de diamètre), sur un milieu gélosé (Mueller Hinton) ensemencé par la souche testée. Le diamètre des halos d'inhibitions au tour des disques est le résultat du pouvoir antibactérien des extraits testés et en comparaison avec les témoins, l'activité antibactérienne de l'extrait est plus importante lorsque la zone d'inhibition est plus grande.

Dans ce contexte, les différents extraits des deux plantes étudiées sont dissous dans l'eau physiologique pour l'extrait aqueux (EAQR et EAQP), et dans DMSO pour les autres extraits (EMet, EAc et EAcE) avec des concentrations 150, 300 et 600 mg/ml pour tous les extraits de *P. tomentosa* et les extraits aqueux et méthanoïque de *R. tuberculata*, alors que les concentrations testées des extraits acétonique et d'acétate éthylique de *R. tuberculata* de l'ordre de 100, 200 et 400 mg/ml.



Figure 4 : Préparation des extraits et des boîtes de pétri pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

3.2.3.3. Préparation de l'inoculum

Selon Chabert et al. (2002), la préparation des suspensions bactériennes a été réalisée à partir d'une culture pure et jeune (de 18 à 24h) de chaque souche (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *B. subtilis*) dans des tubes stériles contenant un volume suffisant de l'eau physiologique stérile. Après une homogénéisation manuelle ou à l'aide d'un vortex la

suspension doit être 0.5 de Mc Ferland (10^8 UFC/ml) et la densité a été ajustée à 625nm entre 0.08 et 0.1.



Figure 5 : Préparation des suspensions bactériennes

3.2.3.4. Ensemencement et application des disques

Sur des boîtes de Pétri collant à une gélose de Mueller Hinton, l'ensemencement du tapis bactérien a été réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile ou par l'inondation.

Dans chaque boîte, 4 disques ont été déposés sur la surface de MH ensemencé, puis on a imprégné 3 disques par 10 μ l de différentes concentrations de chaque extrait et un disque imprégné par le même volume de l'eau physiologique stérile (pour EAQ) et par DMSO (pour EMe, EA et EA), ce dernier est considéré comme un témoin négatif. Deux autres boîtes pour chaque souche ont été préparées en déposant des disques des antibiotiques comme des témoins positifs. Les diamètres des zones d'inhibition créées par les extraits étudiés et les antibiotiques testés sont pris en mm après une incubation de 24h à 37°C, plus la zone d'inhibition est grande, plus l'activité antibactérienne est importante (Rahal 2005).

3.2.3.5. Détermination de CMI

Les valeurs des CMI sont définies comme étant les plus faibles des concentrations des extraits testés qui induisent une absence remarquable de la croissance bactérienne (Ozturk et Ercisli. 2007). La détermination de ces valeurs se fait en plusieurs méthodes, dans la présente étude nous avons déterminé la CMI selon la même méthode de diffusion sur un milieu solide, autrement dit la méthode des disques (Jehl et al. 2015 ; Rahal 2005). Dans des boîtes contiennent de MH et écouvillonné par les souches testées, des disques imprégnés par 10 μ l

de l'extrait de partie aérienne de *R. tuberculata* et *P. tomentosa* ont été déposés. Les extraits examinés dans ce cas sont seulement ceux qui ont montré une activité antibactérienne importante contre les souches testées. On a examiné alors des concentrations décroissant (125, 100, 75, 50 et 25 mg/ml) pour certains extraits et (175, 150 et 125mg/ml) pour des autres. La CMI a été déterminée par conséquent à la faible concentration qui montrée une zone d'inhibition.

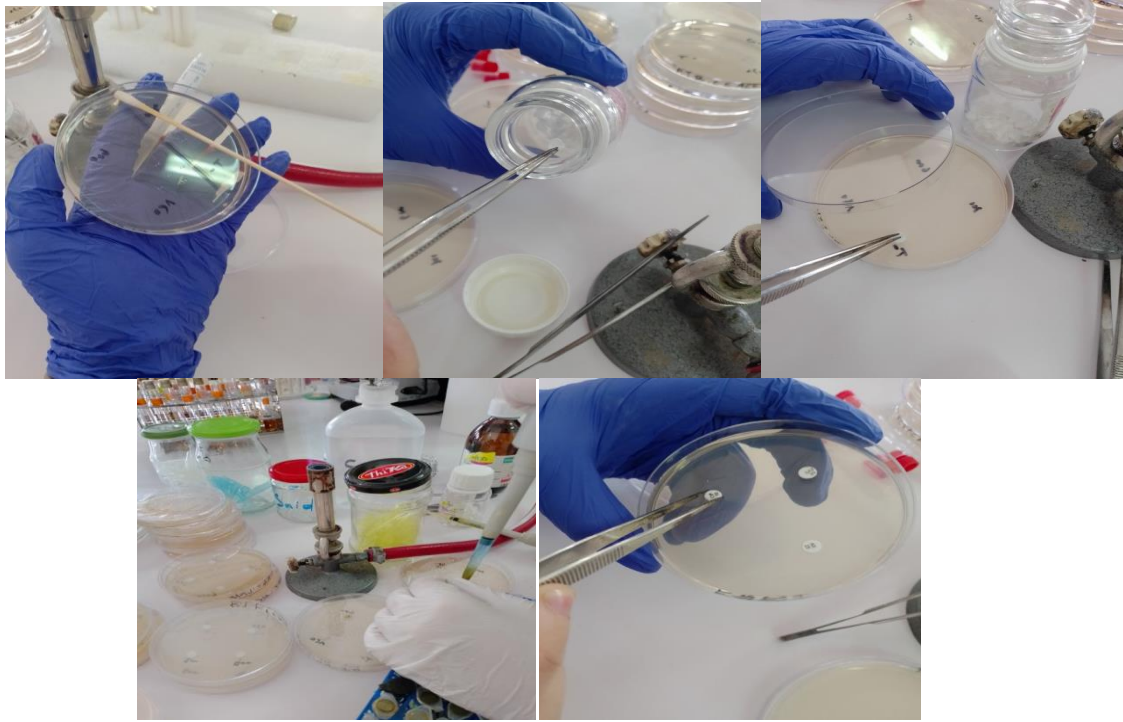


Figure 6: Ensemencement et application des disques et les antibiotiques.

Chapitre 4

Résultats et discussion

4.1.Extraction et calcul de rendement

Afin d'obtenir les différents extraits à partir des plantes étudiées, différentes méthodes ont été réalisées telles que la décoction des parties aériennes de *R. tuberculata* et *P. tomentosa* dans l'eau distillée selon la méthode de (Ratheesh et Helen 2007) pour obtenir des extraits aqueux (EAQR, EAQP). ou la macération dans des solvants à différentes polarités qui sont le méthanol, l'acétate d'éthyle ou l'acétone pour obtenir des extraits méthanoliques (EMetR, EMetP), des extraits d'acétate d'éthyle (EAcER, EAcEP) et des extraits acétoniques (EAcR, EAcP) en basant sur les méthodes de (Bekheet et Hanafy 2011; Khlifi et al. 2013; Kacem et al. 2015), respectivement. Les résultats de rendement d'extraction sont illustrés dans les **Figures 7 et 8**.

En effet, l'extraction aqueuse nous donne le meilleur rendement avec des valeurs de 24,3 % et 12,4% de *R. tuberculata* et *P. tomentosa*, respectivement, suivies par les valeurs respectives des extraits méthanoliques (19,74% et 7,5%). Par contre, les extraits EAcEP et EAcER ont présenté des rendements très faibles de 2 et 0,21%, respectivement. Cependant, les extraits d'acétone EAcR et EAcP des deux plantes sont trouvés avec des rendements de 2,4 et 0,15%, respectivement. D'après ces résultats, nous avons remarqué également que les rendements obtenus de la plante *R. tuberculata* sont les plus élevés surtout pour les extractions aqueuse et méthanolique alors que la plante *P. tomentosa* a donné les rendements les plus importants par les extractions dans de l'acétate d'éthyle et de l'acétone que la plante *R. tuberculata*.

Le rendement de EMetR obtenu dans notre travail (19,74%) est très élevé que celui obtenu (5,7%) par les travaux de Attou (2011). Cependant, il est inférieur à celui trouvé dans l'étude de Zeghouane (2014) qui est égale à 26,49%. En comparaison avec les autres travaux phytochimiques, le rendement obtenu dans notre étude de l'extrait EAQP semble être plus élevé que celui déclaré (10,4 %) par Kacem et al. (2015), alors que le rendement de EMetP de cette plante enregistré (5,6%) dans le travail de Bekheet et al. (2011) est moins faible que celui obtenu dans la présente étude (7,5%).

De nombreuses études ont montré que le rendement d'extraction peut être influencé par plusieurs facteurs notamment les parties de la plante utilisées, le mode et la période de récolte, les facteurs édaphoclimatiques de la région où les plantes ont poussé, la méthode et les conditions d'extraction et le solvant utilisé (Smith et al. 2001; Lee et al. 2003; Tabart et al. 2007). En plus, les propriétés génétiques des plantes et la durée et les conditions de

stockage peut aussi influencer sur le rendement obtenu. Cela a été confirmé également par Bekheet et al. (2011).

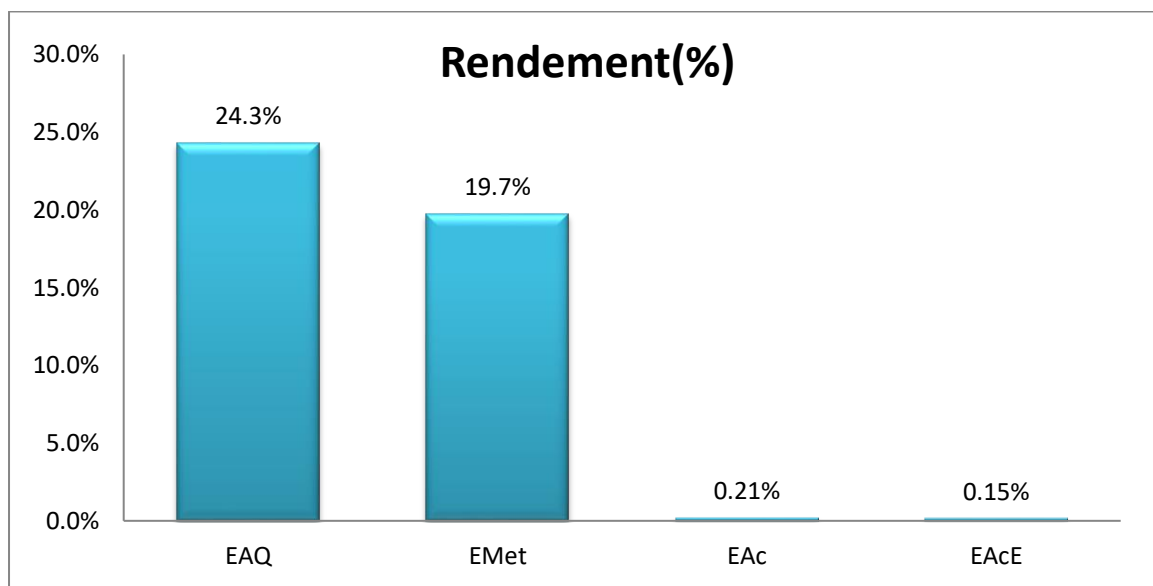


Figure 7: Rendement d'extraction aqueuse, méthanolique, acétonique et par l'acétate éthylique de *Ruta tuberculata*

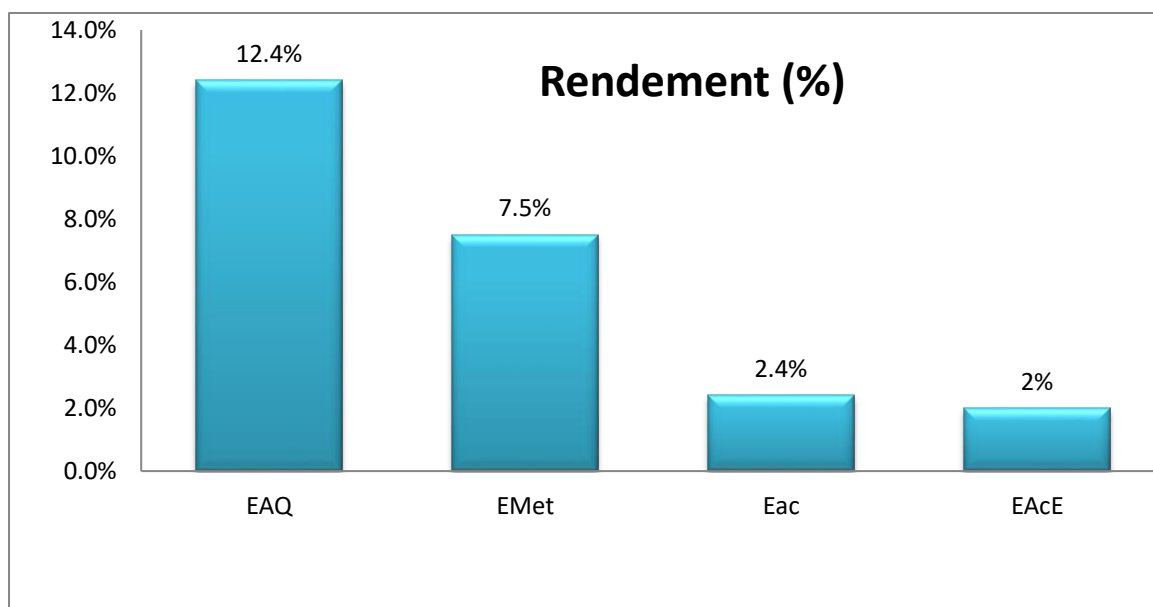


Figure 8 : Rendement d'extraction aqueuse, méthanolique, acétonique et par l'acétate éthylique de *Pergularia tomentosa*

4.2. Screening phytochimique









Dans le but de cribler la présence de différents métabolites secondaires dans chacun des extraits obtenus des parties aériennes d'espèces *Ruta tuberculata* et *Pergularia*

tomentosa, une série des tests phytochimiques ont été réalisées. Les résultats obtenus se fondent sur l'observation, à l'œil nu, d'une variation ou non de la couleur ou la formation d'un précipité.

4.2.1. Saponosides

Les résultats obtenus montrent que EAQ et EMet de deux plantes sont très riches en saponosides, au contraire des extraits EAc et EAcE qui sont totalement pauvres en saponosides dans les deux plantes étudiées comme indiqué dans le tableau.









Tableau 6 : Résultat de test de criblage des saponosides.

	EAQ	EMet	EAc	EAcE
<i>R. tuberculata</i>				
	++	++	-	+
<i>P. tomentosa</i>				
	+++	+	-	-

4.2.2. Coumarines

Pour les deux plantes, les coumarines sont présentes dans tous les extraits testés, et en abondance dans l'EAQR et l'EAQP. Une présence moyenne de ces métabolites a été observée dans les extraits méthanoliques de ces deux plantes, tandis qu'une présence faible de celles-ci a été notée pour les EAc et EAcE, notamment pour la plante *R. tuberculata*, comme indiqué ci-dessous.

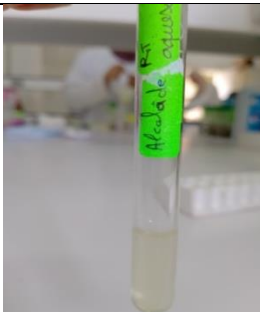



Tableau 7 :Résultat de test de criblage des coumarines.


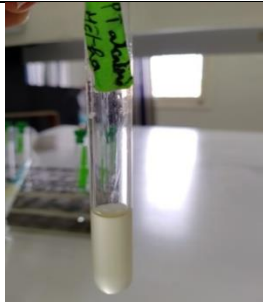
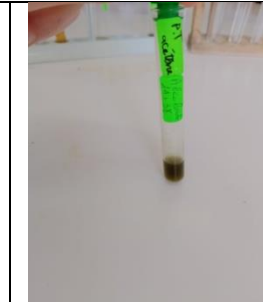

	EAQ	EMet	EAc	EAcE
<i>R. tuberculata</i>				
	+++	++	+	+
<i>P. tomentosa</i>				
	++	++	+	+

4.2.3. Alcaloïdes

La présence des alcaloïdes a été remarquée dans tous les extraits de *R. tuberculata* et uniquement dans EAQ et EMet de *P. tomentosa* avec une absence totale dans EAc et EAcE de ces métabolites (**Tableau8**). En effet, l'abondance des alcaloïdes a été décelée dans les extraits méthanolique.

Tableau 8 :Résultat de test de criblage des alcaloïdes.









	EAQ	EMet	EAc	EAE
<i>R. tuberculata</i>				
	+	++	+	+

<i>P. tomentosa</i>				
	+	++	-	-

4.2.4. Polyterpènes

Les résultats de notre travail ont montré la présence de polyterpènes dans tous les extraits des plantes étudiés, avec une forte présence de ces métabolites secondaires dans les extraits méthanoliques de les deux plants étudiées (**Tableau 9**).

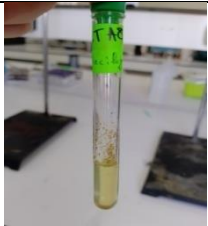
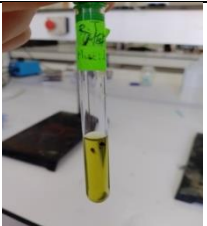
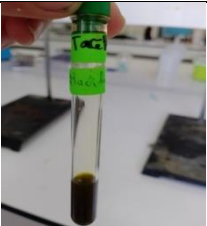
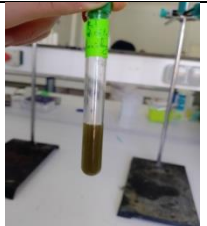
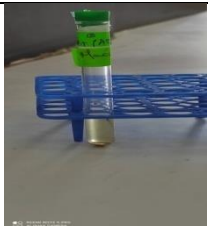

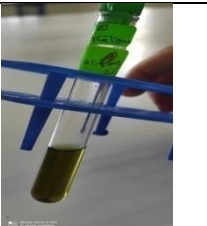

Tableau 9: Résultat de test de criblage des polyterpènes.

	EAQ	EMet	EAc	EAE
<i>R. tuberculata</i>				
	++	+++	++	++
<i>P. tomentosa</i>				
	+	+++	++++	+++

4.2.5. Mucilage

Une existence faible de mucilages a été observée dans les EAQ de deux plantes et l'EMet de *P. tomentosa* avec une absence totale dans les autres extraits (**Tableau 10**).

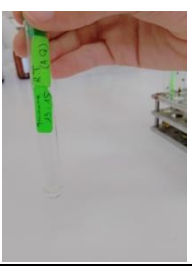




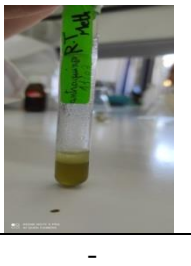

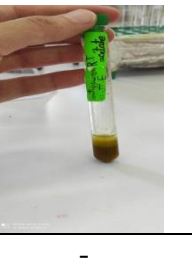
Tableau 10 :Résultat de test de criblage des mucilages.





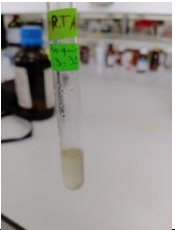
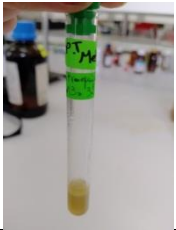


	EAQ	EMet	EAc	EAE
<i>R. tuberculata</i>				
	+	-	-	-
<i>P. tomentosa</i>				
	+	+	-	-

4.2.6. Quinoneset les anthraquinones

Dans notre travail, nous avons observé un absence totale des quinones et des anthraquinones dans tous les extraits des deux plantes comme il est illustré dans le tableau adjacent (**Tableau 11**).

Tableau 11 : Résultat de test de criblage des quinones et des anthraquinones


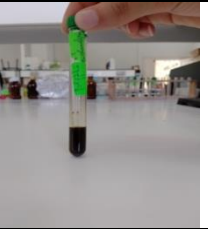
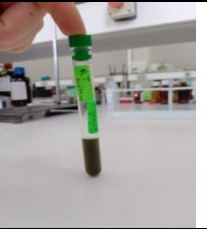

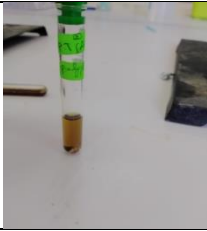
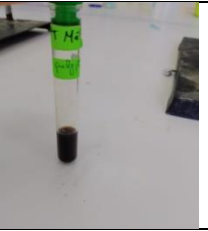


		EAQ	EMet	Eac	EAE
<i>R. tuberculata</i>	quinones				
		-	-	-	-
	anthraquinones				
		-	-	-	-

<i>P. tomentosa</i>	quinones				
		-	-	-	-
	anthraquinones				
		-	-	-	-

4.2.7. Polyphénols

La présence des polyphénols a été détectée dans tous les extraits étudiés presque, alors que leur présence a été forte dans les extraits Eac, EacE et EMet de *Ruta tuberculata* et les extraits EMet et Eac de *Pergularia tomentosa* (**Tableau 12**).





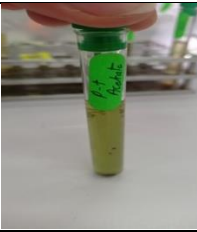

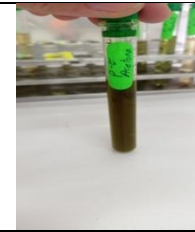

Tableau 12 :Résultat de test de criblage des polyphénols.

	EAQ	EMet	EAc	EAE
<i>R. tuberculata</i>				
	++	+++	+++	+++
<i>P. tomentosa</i>				
	+	+++	+++	++

4.2.8. Flavonoïdes

Le tableau suivant (**Tableau 13**) regroupe les résultats obtenus du test du criblage des flavonoïdes, qui ont montré la richesse des extraits aqueux et acétonique en flavonoïdes a été observée pour les deux plantes étudiées, en présence modeste de ces métabolites dans les extraits méthanoliques et ceux d'acétate d'éthyle.

Tableau 13 :Résultat de test de criblage des flavonoides.

	EAQ	EMet	EAc	EAE
<i>R. tuberculata</i>				
	++	+	-	-
<i>P. tomentosa</i>				
	++	+	-	-

4.2.9. Tanins

Les deux plantes étudiées sont très riches en tanins surtout leurs extraits aqueux et d'acétate d'éthyle qui révèlent une abondance des tanins catéchiques pour *R. tuberculata* et tanins galliques pour *P. tomentosa*. Pour les autres extraits, une présence moyenne et parfois faible de ces métabolites ont été décelées comme l'indiquent les tableaux suivants (Tableaux 14).

Tableau 14 : Résultat de test de criblage des tanins dans les extraits du plant *R. tuberculata*





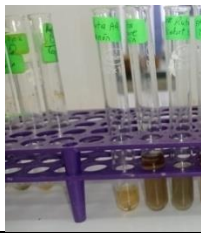

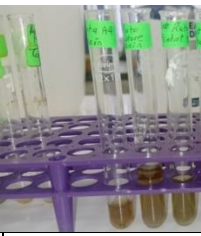


		EAQ	EMet	EAc	EAE
<i>R. tuberculata</i>	Tanins catéchiques				
		+++	++	++	++
	Tanins galliques				
		+	+	+	++

Tableau 15 :Résultat de test de criblage des tanins dans les extraits de la plante *P. tomentosa*

		EAQ	EMet	EAc	EAcE
<i>P. tomentosa</i>	Tanins Catéchiques	++	+	+	+
	Tanins Galliques	+++	++	+	+
					

D'après les données de nombreux rapports, l'espèce *Ruta tuberculata* et ses différents extraits présentent généralement une richesse en divers métabolites notamment en alcaloïdes, en flavonoïdes et en coumarines (Al Yousuf et al. 2005; Al-Burtamani et al. 2005; Al-Yahya et al. 1992). D'une autre part, nos résultats ne sont pas en bien accord avec ceux trouvés par les travaux de Hamdi et al. (2018) qui ont détecté que le contenu le plus important en flavonoïdes a été observé dans l'extrait EAcE, par contre, on a trouvé qu'ils sont présents faiblement dans ce même extrait. Cependant, aucune étude n'a affirmé la présence des quinones et des anthraquinones dans les différents extraits de la plante *R. tuberculata*.

Pour l'espèce *Pergularia tomentosa*, la présence de différents métabolites secondaire a été également notée dans notre étude parmi les quels les saponosides, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins et les coumarines. Ces résultats sont en concordance avec ceux publiés par Laid et al. (2020) sur la richesse de l'extrait aqueux de la même espèce en ces composés bioactifs. Lahmar et al. (2017) et James et al. (2011) ont indiqué également dans leurs études que EAc de espèce *P. tomentosa* est très riche en polyphénols, en tanins et en polyterpènes. Cela est en conformité avec ce que nous avons trouvé dans le présent travail. Les études de (Lahmar et al. 2017) indiquent également que les flavonoïdes sont présents fortement dans l'extrait EAc de cette espèce, ce qui se différencie de ce qu'on a remarqué pour cette classe des métabolites secondaires.

Selon Agour et al. (2022) et Bekheet et al. (2011), la présence des composés phytochimiques dans les plantes médicinales se varie d'une plante à une autre en fonction

principalement de propriétés génotypiques, du matériel végétal utilisé, l'origine géographique et la saison de la récolte des plantes, ainsi que les solvants utilisés et les méthodes d'extraction poursuivies.

4.3. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de différents extraits des deux plantes étudiées *R. tuberculata* et *P. tomentosa* a été évaluée dans le présent travail en appliquant la méthode de diffusion sur milieu solide contre cinq souches, deux à Gram positif qui sont *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* (ATCC 11774), et trois à gram négatif qui sont (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*). En effet, les souches *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et *K. Pneumoniae* sont des cliniques et la souche *B. subtilis* est une souche de référence. Pour évaluer l'efficacité de différents extraits testés, sept antibiotiques avec des modes d'action différents (ATB) qui sont : Ciprofloxacine (CIP5 et CIP10), Amoxicillin (AX25), Ceftazidime (CAZ30), Amoxicilline + acide clavulanique (AMC30), Aztréonam (ATM 30), Acide nalidixique (NA30), Erythromycine (E15).

En effet, l'activité antimicrobienne d'une substance examinée se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition de la croissance de la souche cible autour du disque imprégné par cette substance. Les résultats sont exprimés alors en moyen de diamètres des zones d'inhibition, de la croissance des souches testées, qu'ils exhibent les ATB et les extraits examinés.

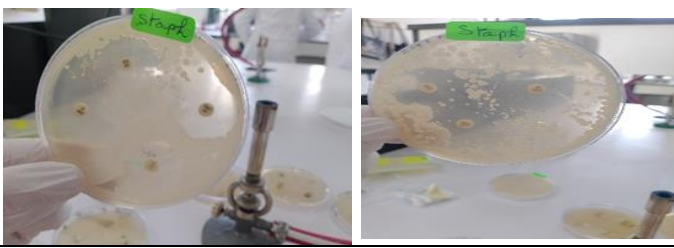
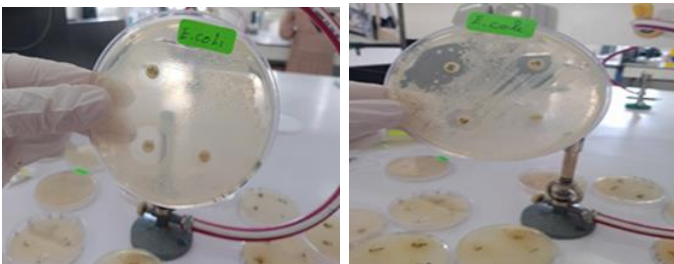
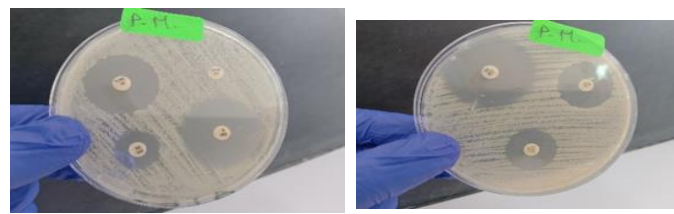

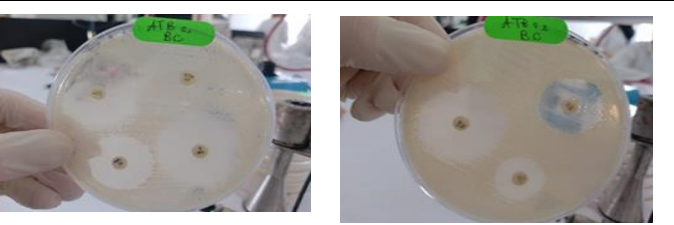
4.3.1. Activité antibactérienne des antibiotique (l'antibiogramme)

Apartir du **Tableau 16**, nous avons remarqué que la souche *S. aureus* est très sensible à la plupart des antibiotiques testés, notamment à CIP5, CIP10 et E15 (en 30,28 et 25mm). La souche *P. aureginosa* a montré une sensibilité moindre, vis-à-vis la quasi-totalité des ATB testés, que celle révélée par la souche *S. aureus* à CIP10, CIP5 et AMC30 (32, 33 et 30mm).

Toutefois, cette souche semble avoir une résistance à ATM30. Tandis que, la souche *K. pneumoniae* a été inhibée par les ATB (CIP10, GAZ30, CIP5, ATM30 et NA30) qui ont l'inhibée avec des diamètres de l'ordre de (21, 19, 17,28 et 23mm). De même, la souche *B. subtilis* a montré une certaine sensibilité vis-à-vis ces ATB (CIP10, GAZ30, AX25, CIP5, E15 et ATM30) qui engendrent les diamètres suivants : 34, 20, 28, 33, 27 et 6mm, respectivement.

Pour la souche clinique *E. coli*, les trois antibiotiques qui ont l'inhibé potentiellement sont AX25, AMC30 et CIP10 avec des diamètres de 19, 14 et 13mm, respectivement.

Tableau 16: Diamètres des zones d'inhibition, de la croissance des souches testées, par les ATB.

	ATB	Diamètre (mm)	Résultats en Photo
<i>S. aureus</i>	CIP10	28	
	CAZ30	16	
	AX25	20	
	CIP5	30	
	E15	25	
	AMC30	23	
	NA30	24	
<i>E. coli</i>	CIP10	13	
	CAZ30	11	
	AX25	19	
	CIP5	12	
	E15	10	
	AMC30	14	
	NA30	12	
<i>P. aureginosa</i>	CIP10	33	
	CAZ30	22	
	AX25	25	
	CIP5	32	
	ATM30	/	
	AMC30	30	
	NA30	19	
<i>K. pneumonie</i>	CIP10	21	
	CAZ30	19	
	AX25	/	
	CIP5	17	
	ATM30	28	
	AMC30	/	
	NA30	23	
<i>B. subtilis</i>	CIP10	34	
	CAZ30	20	
	AX25	28	
	CIP5	33	
	ATM30	6	
	E15	27	
	NA30	/	

/ : pas testée contre la souche.

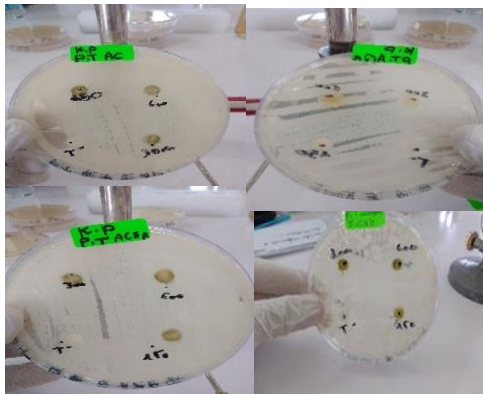
4.3.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *P. tomentosa* et *R. tuberculata*

4.3.2.1. Evaluation de l'effet antibactérien des extraits de *P. tomentosa*

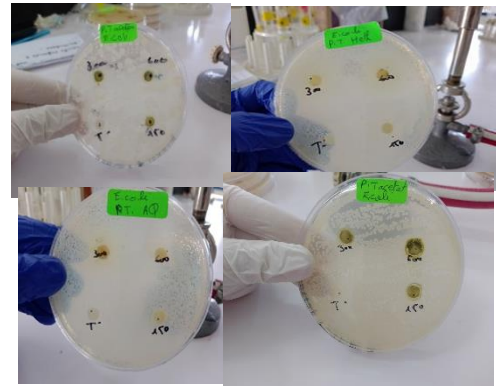
L'activité antimicrobienne de quatre extraits (EAQ, EMet, EAc et EAcE) de la plante médicinale *P. tomentosae* a été évaluée et les résultats obtenus sont marqués dans le tableau ci-dessous (**Tableau 17**).

Tableau 17 : Zone d'inhibition exhibées par les différents extraits de *P.tomentosa*. Les valeurs De diamètres sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3). (-) : inactif.

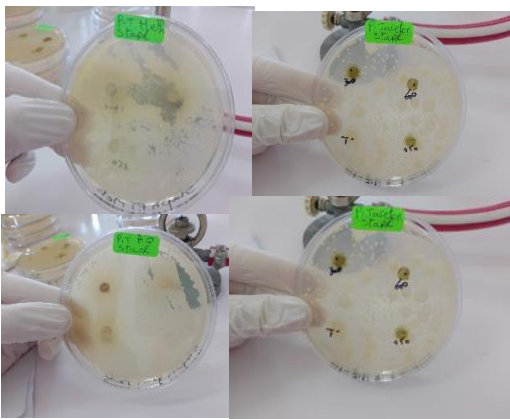
DMSO (Témoi)	EAQ			EMet			EAc			EAce		
	600 (mg/m)	300 (mg/m)	150 (mg/m)	600 (mg/m)	300 (mg/m)	150 (mg/m)	600 (mg/m)	300 (mg/m)	150 (mg/m)	600 (mg/m)	300 (mg/m)	150 (mg/m)
-	7,5 \pm 2,12	7 \pm 1,41	6,5 \pm 0,71	7 \pm 1,41	8 \pm 1,41	7,5 \pm 0,71	7 \pm 2,43	7 (-)	6,5 \pm 0,71	6 (-)	6 (-)	6 (-)
-	8,5 \pm 0,71	8 (-)	8,5 \pm 0,71	7,5 \pm 0,71	6,5 \pm 0,71	6,5 \pm 0,71	8,5 \pm 2	6,5 \pm 0,71	6 (-)	8 (-)	10 (-)	6,5 \pm 0,71
-	16 \pm 8,49	8 (-)	7,5 \pm 0,71	7 (-)	7 (-)	7 (-)	6,5 \pm 0,71	6,5 (-)	8 (-)	7 \pm 1,41	7 \pm 1,41	6,5 \pm 0,71
-	11 \pm 2,83	12 \pm 1,41	16 \pm 0,66	6,5 \pm 0,71	7 \pm 1,41	6,5 \pm 0,71	8,5 \pm 0,71	6,5 \pm 0,71	7,5 \pm 2,12	8 \pm 1,41	7,5 \pm 2,12	8 (-)
-	12 \pm 2,83	13 \pm 1,41	15 \pm 1,41	6,5 \pm 0,71	7 \pm 1,41	6,5 \pm 0,71	8,5 \pm 0,71	8,5 \pm 0,71	7,5 \pm 0,71	8 \pm 1,41	8,5 \pm 2,12	8 (-)
-	6 (-)	7,5 \pm 0,71	7 (-)	7 (-)	7 (-)	7 (-)	6,5 \pm 0,71	6,5 (-)	7 (-)	8 \pm 1,41	8,5 \pm 2,12	8 (-)
-	8 \pm 1,41	8 (-)	7,5 \pm 0,71	7,5 \pm 0,71	6,5 \pm 0,71	6,5 \pm 0,71	8,5 \pm 2	6 (-)	6,5 \pm 0,71	7 \pm 1,41	7 \pm 1,41	7 (-)
-	7,5 \pm 0,71	7 \pm 1,41	6,5 \pm 0,71	7 \pm 1,41	8 \pm 1,41	7,5 \pm 0,71	7 \pm 2,43	7 (-)	6,5 \pm 0,71	6 (-)	6 (-)	6 (-)
-	11 \pm 2,83	12 \pm 1,41	16 \pm 0,66	6,5 \pm 0,71	7 \pm 1,41	6,5 \pm 0,71	8,5 \pm 0,71	8,5 \pm 0,71	7,5 \pm 0,71	8 \pm 1,41	8,5 \pm 2,12	8 (-)
-	12 \pm 2,83	13 \pm 1,41	15 \pm 1,41	6,5 \pm 0,71	7 \pm 1,41	6,5 \pm 0,71	8,5 \pm 0,71	8,5 \pm 0,71	7,5 \pm 0,71	8 \pm 1,41	8,5 \pm 2,12	8 (-)
-	6 (-)	7,5 \pm 0,71	7 (-)	7 (-)	7 (-)	7 (-)	6,5 \pm 0,71	6,5 (-)	7 (-)	8 \pm 1,41	8,5 \pm 2,12	8 (-)



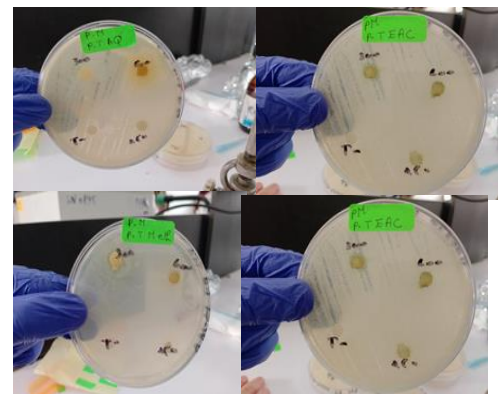
K. Pneumoniae



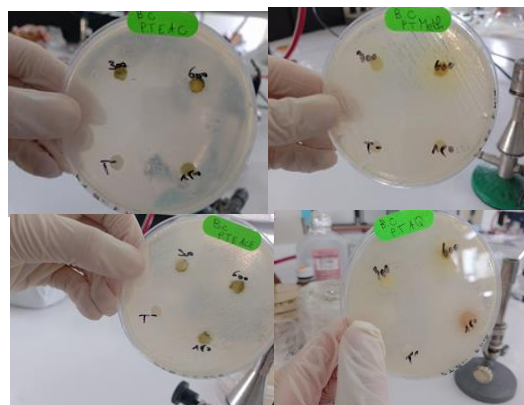
E. coli



S. aureus



P. aeruginosa



B. subtilis

Figure 9: Zones d'inhibition de la croissance de différentes souches ciblées induites par les extraits (EAQ, EMeT, EAc et EAcE) de *P. tomentosa*.

D'après les résultats résumés dans le **Tableau 17** et la **Figure 9**, on a constaté que les diamètres des zones d'inhibition qu'ils exhibent les différents extraits de la plante *P. tomentosa* ont reflété l'effet antimicrobien remarquable de cette plante contre les germes cibles dans cette étude, qui sont responsables de nombreuses pathologies infectieuses telles que citer ici des exemples des maladies provoquées par les souches testées dans votre travail (références).

Le DMSO, comme un solvant approprié, ne présente aucun effet inhibiteur sur la croissance normale des souches microbiennes testées, de ce fait, il est employé comme un témoin négatif. En comparaison avec ce témoin négatif, la quasi-totalité des souches testées semblent intéressement être sensibles aux différents extraits (EAQ, EAc, EAcE et EMet) de la partie aérienne, de cette plante, à l'exception de la souche *B. subtilis* agglomérant qui était très résistante aux extraits testés, notamment envers l'extrait acétate d'éthyle était inactif (diamètre = 6mm). Effectivement, les extraits (EAQ et EMet) de *P. tomentosa* induisent une inhibition significative de la multiplication de la souche bactérienne *S. aureus* avec des diamètres, enregistrés à la concentration testée la plus faible de 150 mg/ml, de 16 et 15mm, respectivement. Il convient de noter que cette inhibition était indépendante à la concentration testée (**Figure 9**). Nous avons également remarqué l'effet antibactérien important de tous les extraits de cette plante sur les souches *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *B. subtilis*, à l'exception de son extrait d'acétate d'éthyle (EAcE) qui n'a montré aucun effet inhibiteur contre la souche *B. subtilis*, même à sa concentration la plus élevée (600mg/ml).

En comparaison avec le puissant effet antibactérien (30 mm) de l'antibiotique CIP5 contre la souche *S. aureus*, les extraits aqueux et méthanolique de la plante *P. tomentosa* ont inhibé remarquablement la croissance de cette souche avec des larges zones d'inhibition de 16 et 15 mm, respectivement, à leur concentration 150 mg/ml. Cela indique que le pouvoir antibactérien de ces extraits contre la souche mentionnée est moins important que celui de CIP. Cependant, leur activité antibactérienne semble être similaire à celle enregistrée par l'antibiotique Gaz30 où sa zone d'inhibition est équivalente à 16mm. L'antibiotique CIP10 a exhibé également un excellent effet antibactérien (33 mm) contre la souche *P. aeruginosa*, ce qui est presque le triple de celui exercé par l'extrait aqueux de *P. tomentosa* à sa concentration 600mg/ml. Toutefois, ce dernier extrait présente une activité antibactérienne semblable à celle recordée par l'antibiotique Na30 qui a engendré une zone d'inhibition de diamètre approximatif de 9 mm. De plus, la zone d'inhibition causée par la concentration 600mg/ml de

l'extrait EAQ (9 mm) contre la souche *E. coli* est similaire à celles exhibées par les antibiotiques AX25(9 mm) et E15(10 mm), ce qui montre l'efficacité antibactérienne de notre extrait contre la souche *E. coli*. Par contre, les zones d'inhibition effectuée par les extraits de plante *P. tomentosa* contre le reste des souches, *K. pneumoniae* et *B. subtilis*, reste toujours plus faible par rapport aux antibiotiques testés

En effet, l'activité antibactérienne qu'ils montrent les différents extraits de l'espèce *P. tomentosa* est probablement due à leur composition chimique en métabolites secondaires à effet antimicrobien tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins qui sont des métabolites secondaires réputés pour leurs pouvoirs antimicrobiens (Xia et al. 2011). Lestravaux de Mezouar, (2013) ont montré que l'extrait d'alcaloïdes de cette plante était très actif sur *E. coli*.

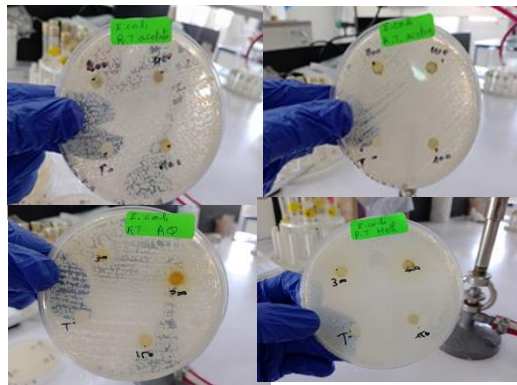
4.3.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *R. tuberculata*

Le **Tableau 18** et la **Figure 10** représentent les résultats obtenus de l'évaluation de l'effet antibactérien de différents extraits de la plante *R. tuberculata* sur les cinq souches cibles en déterminant les diamètres des zones d'inhibition qu'ils ont engendré ces extraits, en comparaison avec le témoin négatif (DMSO).

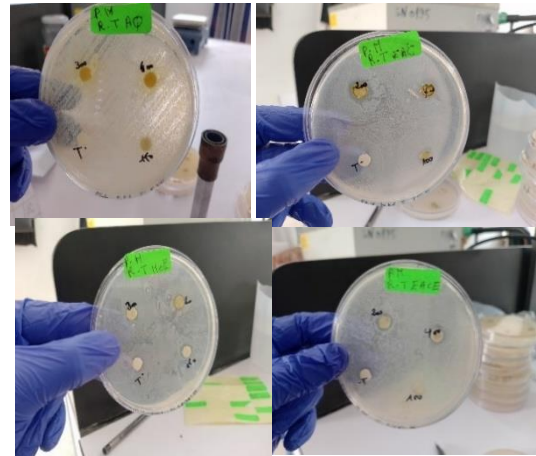
Tableau 18 : Zone d'inhibition exhibées par les différents extraits de *R. tuberculata*. Les valeurs De diamètres sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3). (-) : inactif.

Souches	EAQ			Emet			EAc			EAce		
	600 (mg/m)	300 (mg/m)	150 (mg/m)	600 (mg/m)	300 (mg/m)	150 (mg/m)	400 (mg/m)	200 (mg/m)	100 (mg/m)	400 (mg/m)	200 (mg/m)	100 (mg/m)
<i>S. aureus</i>	9,5 \pm 2,12	9,5 \pm 0,71	9,5 \pm 0,7	6(-)	6(-)	6(-)	6(-)	6(-)	6(-)	6(-)	6(-)	6(-)
<i>E. coli</i>	8 (-)	7,5 \pm 0,71	7,5 \pm 0,71	8 (-)	6(-)	6(-)	6(-)	6(-)	6(-)	6(-)	6(-)	6(-)
<i>P. aeruginosa</i>	8 \pm 1,41	7 \pm 1,41	7 \pm 1,41	7(-)	7 (-)	7,5 \pm 0,71	8 (-)	8 \pm 2,83	7 \pm 1,41	9,5 \pm 0,71	7,5 \pm 2,12	7,5 \pm 0,71

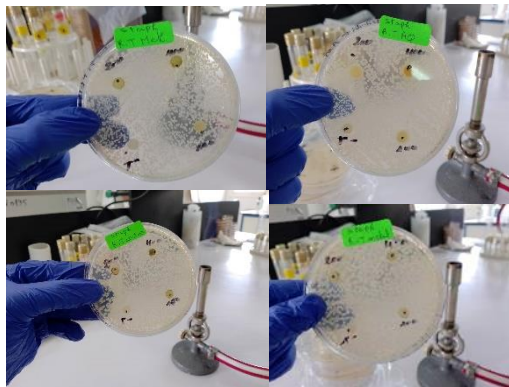
DMSO (Témoi)	<i>B. subtilis</i>	<i>K. pneumoniae</i>
-	6(-)	9,5 ±0,71
-	6(-)	8 (-)
-	6(-)	8 (-)
-	6(-)	9,5 ±0,71
-	6(-)	7,5± 2,12
-	6(-)	7 1,41
-	6,5± 0,71	9,5± 0,71
-	6,5± 0,71	8 (-)
-	6(-)	8,5 ±0,71
-	6(-)	9,5 ±3,54
-	6(-)	8,5 ±2,12
-	6(-)	6(-)



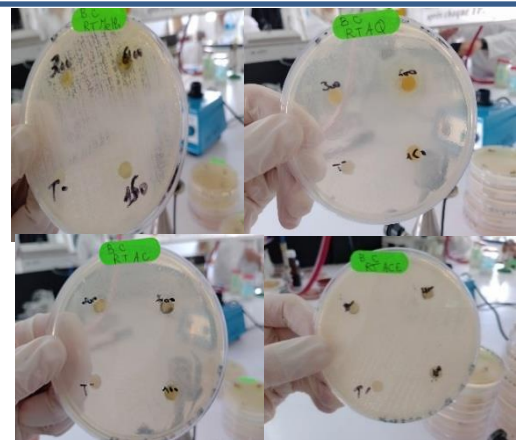
E. coli



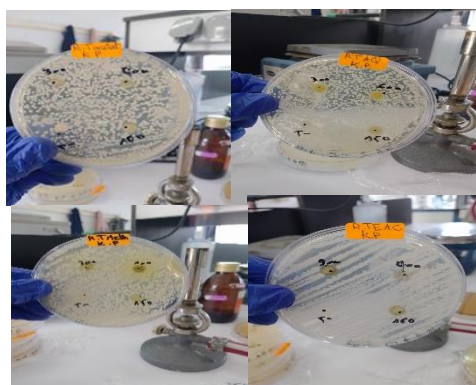
P. aeruginosa



S. aureus



B. subtilis



K. pneumoniae

Figure 10: Zones d'inhibition de la croissance bactérienne exhibée par les différents extraits (EAQ, EMet, EAc et EAcE) de l'espèce *Rutatuberculata*

D'après les résultats mentionnés dans le **Tableau 18** et qui sont confirmés par la **Figure 10**, on a constaté que les diamètres des zones d'inhibition enregistrés pour les extraits de la plante *R. tuberculata* sont généralement faibles par rapport à ceux mesurés pour les extraits de la plante *P. tomentosa*, ce qui peut indiquer que cette dernière plante est plus efficace contre les infections bactériennes induites par les bactéries cibles dans ce travail que l'espèce *R. tuberculata*. Nous notons également que l'extrait aqueux de *R. tuberculata* était le meilleur qui a exercé un effet inhibiteur modeste contre la prolifération à la fois sur les souches *S. aureus* et *K. pneumoniae* à différentes concentrations (600, 300 et 150 mg/ml), par contre, le reste des extraits de cette espèce n'a eu aucun effet sur les souches cibles à l'exception des extraits EAc et EAE qui ont inhibé la croissance des souches *B. subtilis* et *K. pneumoniae* à dose de 400 mg/ml avec des diamètres > 9 mm. Une étude récente menée par Coimbra et al. (2020), a démontré l'activité antimicrobienne de certaines espèces du genre *Ruta*, telles que l'espèce *Ruta angustifolia* *S. aureus* et *E. coli*. Toutefois, cette étude a enregistré la résistance des souches *E. coli* et *S. aureus* en présence de l'extrait méthanolique de cette espèce *R. angustifolia*.

Haddouchi et al. (2013), ont fait une autre étude visant à évaluer l'activité antimicrobienne de nombreuses espèces du genre *Ruta* contre 12 souches bactériennes pathogènes telles que *S. aureus*, *S. typhi*, *B. subtilis*, *A. baumannii*, *B. cereus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. pneumoniae* et *S. typhi*. Cette étude a montré que les extraits des espèces étudiées avaient généralement un faible potentiel antibactérien contre les 12 bactéries testées et que l'activité antibactérienne la plus élevée a été observée contre les souches *S. aureus* et *S. typhi* avec des zones d'inhibition les plus importantes de 17 et 15 mm, respectivement, des huiles essentielles de *R. chalepensis* var. *bracteosa*. En deuxième ordre, les huiles essentielles de cette espèce ont inhibé les souches *B. subtilis* et *A. baumannii* à la même dose, avec des zones d'inhibition de 12 mm de diamètres. Tandis que, les huiles essentielles de *R. graveolens* présentaient des faibles zones d'inhibition sur *B. cereus*, *S. aureus* et *S. typhi* (<12 mm). Alors que, les huiles volatiles de *R. tuberculata* révélaient une activité antimicrobienne significative contre la souche *E. faecalis* (14 mm). Pour l'huile de *R. angustifolia*, aucune activité antibactérienne n'a été détectée sur toutes les souches testées.

Les résultats obtenus dans la présente étude ont indiqué que les extraits testés des plantes étudiées, notamment ceux de la plante *P. tomentosa*, sont en évidence actifs sur les bactéries gram positives et gram négatives. Cette importante bio-activité est similaire à l'effet des alcaloïdes étudiée par Iwasa et al. (2001), qui ont trouvé que l'effet antimicrobien est en relation avec leur teneur élevée en alcaloïdes iso-quinoléiques qui peuvent causer des

dommages au niveau de la membrane externe des bactéries à gram négatif, ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité membranaire permettant ainsi la pénétration des alcaloïdes à l'intérieur de la bactérie. L'effet des alcaloïdes sur les souches gram positifs et gram négatifs est confirmé par les travaux de Iannello et al.(2014) qui ont révélé que les alcaloïdes représentent une activité antibactérienne importante contre les gram positifs qui se sont avérés plus sensibles que les gram négatifs. Brantner et al. (1996) ont rapporté que les composés phénoliques, les flavonoïdes et les stéroïdes à une certaine concentration peuvent inhiber la croissance des microorganismes. De plus, Il est démontré que les flavonoïdes à caractère lipophile peuvent détruire les lipides membranaires microbiennes en augmentant la fluidité de ces membranes. Le nombre et la position des groupements hydroxyles qu'il présente le noyau aromatique favorise alors cette destruction (Cowan1999).

4.4 Détermination de CMI

Pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits étudiés sur les souches bactériennes testées en basant sur la méthode de diffusion sur un milieu solide. Après l'obtention des résultats d'activité antimicrobienne, nous avons choisi les extraits les plus efficaces contre la croissance des souches testées et qui ont engendré une zone d'inhibition, correspondant à un diamètre de plus de 9 mm, pour déterminer leurs CMI. Pour cela, l'effet antibactérien de la gamme de concentrations (125, 100, 75,50 mg/ml) a été examiné pour les extraits qui ont montré une activité antibactérienne à dose de 150mg/ml. Pour les extraits qui ont montré inhibition à 150mg/ml on a examiné les concentrations (125, 100, 75, 50mg/ml).

Pour les extraits qui ont inhibé la croissance bactérienne à concentration de 200 mg/ml, on a préféré d'évaluer l'effet antibactérien aux concentrations de (175, 150, 125 et 100mg/ml). Cependant, les extraits qui ont exhibé une inhibition bactérienne à 100mg/ml, leurs faibles doses (75, 50, 25mg/ml) ont été examinées. Les résultats obtenus sont illustrés dans le **Tableau 19** et les figures suivantes (**Figure9**).

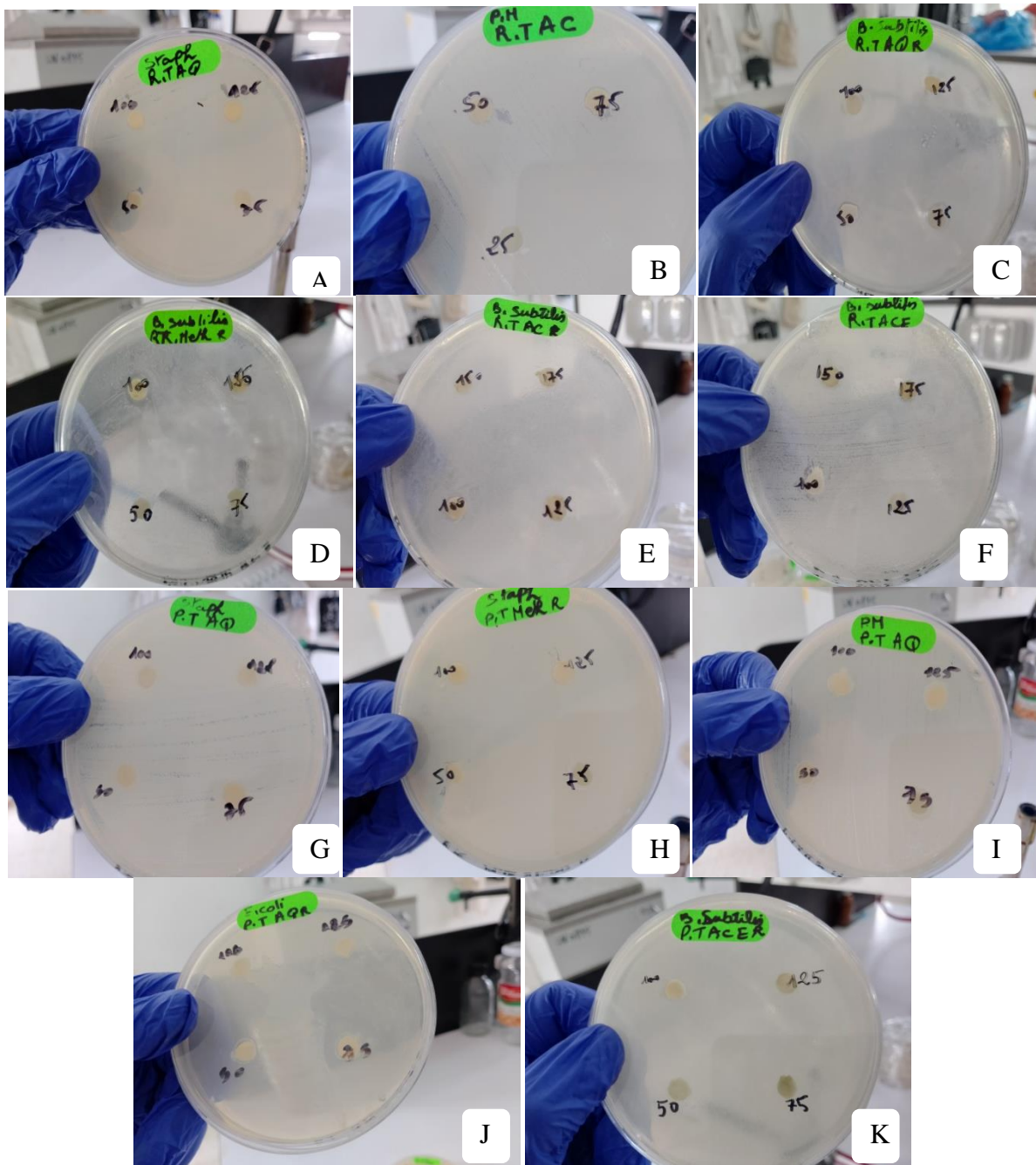


Figure 11 : Détermination de CMI de différents extraits des plantes étudiées par la méthode de bactériogramme les résultats de *R. tuberculata* (A : EAQ contre les *S. aureus* ; B : EAc contre les *P. aeruginosa* ; C : EAQ, D : EMet, E : EAc et F : EAcE tous contre les *B. subtilis*). Les résultats de *P. tomentosa* (G : EAQ ; H : EMet les deux contre les *S. aureus* ; I :EAQ contre les *P. aeruginosa* ; J : EAQ contre les *E. coli* ; K : EAcE contre les *B. subtilis*).

Tableau 19 : Valeurs de diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne enregistrées par les différents extraits des plantes étudiées vis-à-vis les souches testées

Souche	Plante	Extrait	CMI (mg/ml)
<i>S. aureus</i>	<i>R. tuberculata</i>	EAQ	50
	<i>P. tomentosa</i>	EAQ	50
		EMet	50
<i>E. coli</i>	<i>P. tomentosa</i>	EAQ	50
<i>P. aeruginosa</i>	<i>R. tuberculata</i>	EAc	25
	<i>P. tomentosa</i>	EAQ	25
<i>B. subtilis</i>	<i>R. tuberculata</i>	EAQ	50
		EMet	50
		EAc	100
		EAcE	100
	<i>P. tomentosa</i>	EAcE	100

Dans la présente étude nous avons trouvé que les extraits EAQ et EMet de *P. tomentosa* et EAQ de *R. tuberculata* inhibent effectivement la souche *S. aureus* avec des valeurs de CMI inférieur à 50mg/ml. Par contre, la souche *B. subtilis* semble être sensible a tous les extraits de *R. tuberculata* où sa croissance a été potentiellement inhibée par une dose de CMI < 50 mg/ml pour les extraits EAQ et EMet de *P. tomentosa* et une dose CMI de 100mg/ml pour les EAc et EAcE de cette espèce. De plus, l'extrait EAQ de *P. tomentosaa* inhibé la souche gram négatif *E. coli* a partir d'une concentration CMI égale à 50mg/ml. En outre, la souche *P. aeruginosa* était la plus sensible à l'extrait EAc de *R. tuberculata* et l'extrait EAQ de *P. tomentosa*, qui ont l'inhibé à dses faible concentrations CMI < 25mg/ml par rapport aux autres extraits et en comparaison avec les autres souches testées.

(Elsayed et Sabry. 2016)ont rapporté que l'extrait éthanoïque des parties aériennes de l'espèce *R. tuberculataa* inhibé potentiellement les souches *S. aureus* et *E.coli*avec des valeurs de CMI de 7,81 et 3,9 µg/ml respectivement. Leurs résultats ont bien donfirmé notre suggestion que l'inhibition de la prolifération de la *S. aureus* par l'EAQ de cette espèce peut effectuer à une dose CMI< 50mg/ml, et cela est dû probablement à son contenu en métabolites secondaires qui sont connu par leur effets antibactériens tels que lesalcaloides et les polyphénols(AI-Snafi,2018); (Raissi et al.,2016). Selon les résultats rapportés par ces chercheurs AI-Snafi (2018) et Raissi et al.(2016), les alcaloides, les polyphénols et les polyterpènes extraits de *Ruta tuberculata* ont inhibé effectivement la croissance bactérienne de nombreuses souches, en particulier la *B. subtilis*, la *S. aureus* et la *P. aeruginosa* en récordant des valeurs de CMI très faibles de 0,625 mg/ml à 10 mg/ml pour les alcaloïdes et 5 mg/ml à 20 mg/ml pour les polyphénols, où cette dernière est très proche à la CMI estimée

(25mg/ml) pour l'extrait EAc de la même espèce contre la souche *P. aeruginosa*. Notant que le criblage phytochimique de cet extrait EAc a montré sont riches en alcaloïdes et polyterpènes.

Récemment, l'étude de Belakehal et al.(2021). ont montré que l'extrait éthanolique de *Pergularia tomentosaa* inhibé les souches *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa* avec des valeurs de CMI de 0,60 ; 0,451 et 25mg/ml, respectivement. En comparaison avec ces résultats, nous suggérons que les différents extraits de cette espèce peuvent exhiber une bonne activité antibactérienne à des concentrations plus faibles que celles examinées dans notre étude.

Les résultats de travail de TLILI (2015), ont confirmé l'effet antimicrobien des extraits de *Pergularia tomentosa* qui peut être attribué aux métabolites secondaires qu'il contient la plante, principalement les alcaloïdes. Ces molécules bioactives sont réputées pour leurs effets antimicrobiens et antifongiques. Il a été rapporté que les alcaloïdes peuvent agir contre des bactéries (Chebili 2012).

Ruta tuberculata est une plante riche en métabolites secondaires tels que les mono terpènes et les alcaloïdes qui fournissent à cette espèce ses activités biologiques, parmi lesquelles les effets antibactériens (Al-Rehaily et al.2001 ; Schmelzer et al.2013). Cette espèce présente une teneur remarquable d'un autre métabolite secondaire qui est connu par son potentiel antimicrobien, c'est les huiles essentielles. Ces huiles volatiles ont une activité antibactérienne importante. En effet, leurs constituants exhibent divers mécanismes d'action contre la croissance des microbes, en ciblant particulièrement la membrane cellulaire et le cytoplasme de la cellule bactérienne, et dans certains cas, en changeant complètement la morphologie cellulaire, voire l'expression des gènes (Bouyahya et al.2018).

Conclusion

Conclusion

La valorisation des ressources naturelles telles que celles du règne végétal ne cessent de susciter l'intérêt des chercheurs dans le monde de façon général. Dans la présente étude, nous sommes intéressés par l'évaluation de activités antibactériennes des différents extraits de deux plantes médicinales, *P. tomentosa* et *R. tuberculata*, collectées à partir de la zone semi-aride (la wilaya de Biskra) de territoire algérien.

Ces plantes sont incorporées dans la médecine traditionnelle dans le traitement de différentes maladies. Le criblage phytochimiques et l'activité antibactérienne des extraits aqueux, méthanolique, d'acétone et d'acétate éthylique ont été investigués où cinq souches bactériennes de Gram + et Gram- sont testées : *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *B. subtilis*.

D'après les résultats obtenus dans ce modeste travail, nous permettons de conclure que les deux espèces *P. tomentosa* et *R. tuberculata* sont des plantes prometteuses importantes en révélant une richesse en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les stérols et les poly terpènes, les coumarines, en absence des quinones et des anthraquinones.

Ainsi que, les résultats soient préliminaires et nous concluons que les deux plantes, notamment l'espèce *P. tomentosa*, ont un effet inhibiteur remarquable contre les souches bactériennes testées qui peuvent causer des maladies infectieuses, mais le degré d'efficacité antibactérienne se varie d'un extrait à un autre, en raison de la différence dans leur contenu chimique en molécules bioactives.

Nous espérons que cette étude a clarifié l'effet antibactérien des extraits de *P. tomentosa* et de *R. tuberculata*. Des études approfondies sont nécessaires pour :

- Evaluer l'activité antibactérienne sur d'autres bactéries liées aux maladies infectieuses graves.
- Evaluer l'activité antifongique possible de ces plantes.
- Quantifier, identifier et purifier les métabolites secondaires contenus dans ces plantes qui sont les principes actifs contribuant à leurs activités biologiques

Déterminer le mode d'action de leurs composés vis-à-vis les germes pathogènes.

Bibliographia

Bibliographie

- Abdelkhalek, Ahmed et al. 2020. « The Phytochemical, Antifungal, and First Report of the Antiviral Properties of Egyptian Haplophyllum Tuberculatum Extract ». *Biology* 9(9): 248
- Acheuk, Fatma, Michel Cusson, et Bahia Doumandji-Mitiche. 2012. « Effects of a Methanolic Extract of the Plant Haplophyllum Tuberculatum and of Teflubenzuron on Female Reproduction in the Migratory Locust, *Locusta Migratoria* (Orthoptera: Oedipodinae) ». *Journal of Insect Physiology* 58(3): 335-41.
- Adelaïde N. 2008. Évaluation de l'aérocontamination fongique dans les environnements intérieurs :Sciences agricoles. Thèse de Doctorat, Université Paris XII VAL DE MARNE, Français, p.189
- Agour, Abdelkrim et al. 2022. « The Antioxidant, Analgesic, Anti-Inflammatory, and Wound Healing Activities of Haplophyllum Tuberculatum (Forsskal) A. Juss Aqueous and Ethanolic Extract ». *Life (Basel, Switzerland)* 12(10): 1553.
- Al Yousuf, Maryam H. et al. 2005. « Essential oil of Haplophyllum tuberculatum (Forssk.) A. Juss. from the United Arab Emirates ». *Journal of Essential Oil Research* 17(5): 519-21.
- Al-Brashdi, Aziza Salim, Hebbatallah Al-Ariymi, Maha Al Hashmi, et Shah Alam Khan. 2016. « Evaluation of antioxidant potential, total phenolic content and phytochemical screening of aerial parts of a folkloric medicine, Haplophyllum tuberculatum (Forssk) A ». *Juss. J. Coast. Life Med* 4: 315-19.
- Al-Burtamani, Suad Khamis S. et al. 2005. « Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the essential oil of Haplophyllum tuberculatum from Oman ». *Journal of ethnopharmacology* 96(1-2): 107-12.
- Aliyu, A. B. et al. 2008. « Phytochemical analyses and mineral elements composition of some medicinal plants of Northern Nigeria ». *Nigerian Journal of Pharmaceutical Sciences* 7(1): 119-25.
- Aliyu, Salihu, et Muntari Bala. 2011. « Brewer's spent grain: A review of its potentials and applications ». *African Journal of Biotechnology* 10(3): 324-31.
- Al-Muniri, Raqiya Mohsin Said, et Mohammad Amzad Hossain. 2017. « Evaluation of Antioxidant and Cytotoxic Activities of Different Extracts of Folk Medicinal Plant Haplophyllum Tuberculatum ». *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences* 4(2): 101-6.
- Alsafran, Mohammed, Kokila Wickramanayake, Kamal Usman, et Talaat Ahmed. 2022. « Efficient Shoot Regeneration of Medicinal Plant Haplophyllum Tuberculatum by Direct and Indirect Organogenesis and Genetic Fidelity Assessment Using Inter Simple Sequence Repeats Markers ». *Frontiers in Plant Science* 13: 995825.

- Al-Said, Mansour S., Mohamed S. Hifnawy, Andrew T. McPhail, et Donald R. McPhail. 1988. « Ghalakinoside, a cytotoxic cardiac glycoside from *Pergularia tomentosa* ». *Phytochemistry* 27(10): 3245-50.
- Al-Snafi, Ali. 2018. « Pharmacological importance of *Haplophyllum* species grown in Iraq-A review ». 8.
- Al-Yahya, Mohammad A. et al. 1992a. « New alkaloids from *Haplophyllum tuberculatum* ». *Journal of Natural Products* 55(7): 899-903.
- Amadou, J. et al. 2006. « Synthesis of a carbon nanotube monolith with controlled macroscopic shape ». *Carbon* 44(12): 2587-89.
- assistant stérilisation. P 8-14.
- ATTOU, Amina. 2011. « Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent ». 8.
- Babaamer, Zohra et al. 2013. « Extraction and identification of triterpenoids from *Pergularia tomentosa* L ». *Hawliyat al-'Ulum wa-al-Tiknūlijyā* 281(1764): 1-10.
- Bactériologie médical. Press universitaires lyon. P176, 177, 178,180.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, pp.71-79.
- antimicrobienne. International Journal of Innovation and Applied Studies , pp. 1418-1431.
- Bekheet, S. A., et M. S. Hanafy. 2011. « Towards Sex Determination of Date Palm ». In *Date Palm Biotechnology*, éd. Shri Mohan Jain, Jameel M. Al-Khayri, et Dennis V. Johnson. Dordrecht: Springer Netherlands, 551-66. https://doi.org/10.1007/978-94-007-1318-5_26 (5 juin 2023).
- Bekheet, Souad HM, Fatma F. Abdel-Motaal, et Usama A. Mahalel. 2011. « Antifungal effects of *Ficus sycomorus* and *Pergularia tomentosa* aqueous extracts on some organs in *Bufo regularis* treated with *Aspergillus niger* ». *Tissue and Cell* 43(6): 398-404.
- Belakehal, Souad et al. 2021. « In Vitro Comparative Study on the Antibacterial and the Antioxidant Activity of *Pergularia tomentosa* L. »
- Benchelah, A. C. et al. 2001. *Sahara Flowers: Ethnobotany Travel with Touaregs of Tassili*. Ibis Press, Paris, France.
- Benhouhou, S. 2005. *A guide to medicinal plants in North Africa*. IUCN.
- Boukhatem, Mohamed Nadjib et al. 2014. « Valorisation de l'essence aromatique du Thym (*Thymus vulgaris* L.) en aromathérapie anti-infectieuse [Potential application of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil as antibacterial drug in aromatherapy] ». *International Journal of Innovation and Applied Studies* 8(4): 1418.

- Brantner A., Males Z., Pepeljnjak S. et Antolic A., 1996- Antimicrobial activity of
- Bruneton J., 1999- Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition :Technique et documentation Lavoisier. Paris. 1120p
- Bruneton J., 1999- Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition :Technique et documentation Lavoisier. Paris. 1120p
- Burkill, H. M. 1995. « The Useful Plants of West Tropical Africa, Vols. 1-3. » *The useful plants of west tropical Africa, Vols. 1-3. (2. ed.)*.
<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19986770347> (30 mai 2023).
- Chabasse D., Bouchara J.P., Gentile L., Brun S., Cimon B., et Penn P. 2004. Cahier de formation Biologie médicale No 31, Les dermatophytes, France: Bioforma. 158p.
- Chabasse D., Contet-Audonneau N., Bouchara J.P., et Basile A.M. 2008. Moisissures, dermatophytes, levures, du prélèvement au diagnostic. Edition Biomérieux. 186p
- Chabasse D.2013. Apport de l'examen direct dans les mycoses superficielles et profondes. *Journal de Biologie Médicale*. 1(4) : 250-255.
- Chabert, J. et al. 2002. « Role and activation of type III secretion system genes in *Pseudomonas aeruginosa*-induced *Drosophila* killing ». *Microbialpathogenesis* 32(6): 287-95. Chemical composition. and in vitro antibacterial and antifungal activity of an alkaloid
- Coimbra, A. T., Ferreira, S., & Duarte, P. (2020). Genus *Ruta*: A natural source of high value products with biological and pharmacological properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 23p.
- Coimbra, A. T., Ferreira, S., & Duarte, P. (2020). Genus *Ruta*: A natural source of high value products with biological and pharmacological properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 23p.
- Cowan M.M., 1999- Plant Products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology de la Population et de la Réforme Hospitalière*.
- Dellars C.2007. Microbiologie pratique pour la laboratoire d'analyse ou de control sanitaire. Technique et Documentation. Edition. LAVOISIER, Paris, 476p.
- Djouahra, Djamilia. 2012. « Alcaloïdes et polyphénols d'*Haplophyllum tuberculatum* (Forssk): Effet antimicrobien et antioxydant ». univ-bouira. dz; université bouira; univ bouira.
- Dohou, R. et al. 2003. « Screening phytochimique d'une endémique iberomarocaine, *Thymelaea lythroides* ». *Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux* 142(1/4): 61-78.

- Dutertre, Julie Marie-Josèphe. 2011. « Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion: à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste ».
- Duveyrier, Henri. 1864. *Les Touareg du Nord*. Challamel Ainé.
- Elsayed, Abeer, et Omar Sabry. 2016. « Evaluation of antimicrobial, anti-inflammatory and antioxidant activities of *Halpophyllum tuberculatum* A. Juss (Rutaceae) Growing in Libya ». *Journal of pharmacognosy and Natural products* 2: 116.
- extract from *Crinum angustum* Steud. *Natural product research*, 28(10) : 704-710.
- F.K., Cosentino M., Kozuka M. et Lee H.K., 2001- Simple isoquinoline and benzulisoquinoline alkaloids as potential antimicrobial. Antimalarial. Cytotoxic and AntiHIV agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 9 : 2871-2884.
- Falleh, Hanen et al. 2008. « Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities ». *Comptes rendus biologies* 331(5): 372-79.
- Fauvarque, M.-O. et al. 2002. « Role and activation of type III secretion system genes in *Pseudomonas aeruginosa*-induced *Drosophila* killing ». *Microbial pathogenesis* 32(6): 287-95.
- Flandrois J. P., Courcol R., Lemeland J. F., Ramuz M., Sirot J., Soussy C.J. 1997. from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(2) : 622-646.
- Garcia-Ruiz, A., Bartolomé, B., Martinez-Rodriguez, A. J., Pueyo, E., Martinez-Alvarez, P. J., & Moreno-Arribas, M. V. (2008). Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*, 19, 835-841
- Gohar, Ahmed et al. 2000. « Cardenolides and B-Sitosterol Glucoside from *Pergularia tomentosa* L. » *Natural Product Sciences* 6: 142-46.
- Gonzalez, A. G., V. Darias, et G. Alonso. 1979. « Cytostatic lignans isolated from *Haplophyllum hispanicum* ». *Planta Medica* 36(07): 200-203.
- Hadjadj, Soumia et al. 2015. « Ethnobotanical study and phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine in the Northeastern Sahara of Algeria (area of Ouargla) ». *Journal of medicinal plants research* 9(41): 1049-59.
- Hahn, M. W., Lunsdorf, H., Wu. Q., Schauer, M., Hofle, M. G., Boenigk, J., Stadtler, P., 2003 . Prescott. L. M, Harley. J. P, Klein. D. A. 2010. *Microbiologie*. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition Pp: 1088
- Hamdi, Assia, Johan Viane, et al. 2018. « Polyphenolic Contents, Antioxidant Activities and UPLC-ESI-MS Analysis of *Haplophyllum Tuberculatum* A. Juss Leaves Extracts ». *International Journal of Biological Macromolecules* 106: 1071-79.

- Hamdi, Assia, Kaouther Majouli, et al. 2018. « Pharmacological Activities of the Organic Extracts and Fatty Acid Composition of the Petroleum Ether Extract from *Haplophyllum Tuberculatum* Leaves ». *Journal of Ethnopharmacology* 216: 97-103.
- Hamed, Arafa I. et al. 2006. « Cardenolide glycosides from *Pergularia tomentosa* and their proapoptotic activity in Kaposi's sarcoma cells ». *Journal of natural products* 69(9): 1319-22.
- Hammiche, Victoria, et Khadra Maiza. 2006a. « Traditional Medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer ». *Journal of Ethnopharmacology* 105(3): 358-67.
- Hassan, S. W. et al. 2007. « Nutritive value, phytochemical and antifungal properties of *Pergularia tomentosa* L.(Asclepiadaceae) ». *Int. J. Pharmacol* 3(4): 334-40.
- Hindumathy, C. K. 2011. « In vitro study of antibacterial activity of *Cymbopogon citratus* ». *International Journal of Biotechnology and Bioengineering* 5(2): 48-52.
- Iannello C., Bastida J., Bonvicini F., Antognoni F., Gentilomi G.A. et Poli F., 2014-
Iwasa K., Moriyasu M., Tachibana Y., Kim H.S., Wataya Y., Wiegrede W., Bastow
Jehl, F., A. Chabaud, et A. Grillon. 2015. « L'antibiogramme : diamètres ou CMI ? » *Journal des Anti-infectieux* 17(4): 125-39.
- Joly-Guillou, M.-L. (2006). Intérêt du E-test dans le suivi de l'antibiothérapie. *Réanimation* , pp.237-240.
- Kacem, Mohamed et al. 2015. « Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Ruta chalepensis* L. extracts on LPS-stimulated RAW 264.7 cells ». *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal* 51: 128-41.
- Kassah-Laouar, A. (2020). Les antibiotiques De la définition princeps à la totorésistance. *Revue Aurassienne du Laboratoire* , 136p.
- Kempf , S., &Zeitouni. (2009). Coût biologique de la résistance aux antibiotiques: analyse et conséquences Pathologie biologie. article in press.
- Khalid, Sami Ahmad, et Peter G. Waterman. 1981. « Alkaloid, lignan and flavonoid constituents of *Haplophyllum tuberculatum* from Sudan ». *Planta medica* 43(10): 148-52.
- Khlifi, Daycem et al. 2013. « Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalpensis* L. and *Peganum harmala* L. » *Food and chemical toxicology* 55: 202-8.
- Lahmar, Imen, Hafedh Belghith, Ferjani Ben Abdallah, et Karima Belghith. 2017. « Nutritional Composition and Phytochemical, Antioxidative, and Antifungal Activities of *Pergularia Tomentosa* L. » *BioMed Research International* 2017: 1-9.
- Laid, TLILI Mohammed, Rokaia HAMMOUDI, et Karima DEHAK. 2020. « ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE ET ANTIMICROBIENNEDES EXTRAITS DE FEUILLES DE ». *Revue des BioRessources* 10.

- Lee, Ki Won, Young Jun Kim, Hyong Joo Lee, et Chang Yong Lee. 2003. « Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine ». *Journal of agricultural and food chemistry* 51(25): 7292-95.
- Lindley, John. 1846. *Orchidaceae Lindenianae; or, Notes upon a Collection of Orchids Formed in Colombia and Cuba by Mr. J. Linden*. Bradbury and Evans.
- Médail, Frédéric. 2004. « Flore et végétation du Sahara, P. Ozenda, Paris (2004) ». *Ecologia Mediterranea* 30(2): 247-247.
- Mohamed, A H, M B Ali, A K Bashir, et A M Salih. 1996. « Influence of *Haplophyllum tuberculatum* on the Cardiovascular System ». *International Journal of Pharmacognosy* 34(3): 213-17.
- Mossa, J.S. et al. 1987. « Aromatic Plants of Saudi Arabia - Part 8-* GC/MS Analysis of Essential Oils of *Pulicaria arabica* and *P. undulata* ». *International Journal of Crude Drug Research* 25(2): 113-19.
- Mossallam, H. A., et S. A. BaZaid. 2000. « An illustrated guide to the wild plants of Taif ». *Kingdom of Saudi Arabia. Publication Committee For Tourism Activation-Taif, Saudi Arabia*.
- N'Guessan, Koffi et al. 2009. « Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire) ». *Sciences & Nature* 6(1).
- Nationale selon les recommandations de l'OMS, 4ème édition, éd Ministère de la Santé,
- Nicolle, C. (2013). *Destin des maladies infectieuses*. Presses Électroniques de France.
- Ozenda, Paul. 1991. *Flora and vegetation of the Sahara*. CNRS.
- Ozturk S and Ercisli S (2007). Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides*. *Food Control*, 18, 535–540
- Ozturk, Suzan, et Sezai Ercisli. 2007. « Antibacterial activity of aqueous and methanol extracts of *Althaea officinalis*. And *Althaea cannabina*. From Turkey ». *Pharmaceutical biology* 45(3): 235-40.
- Paliurus spina-christi* Mill (Christ's thorn). *Journal of Ethnopharmacology*, 52 (2) : 119-122.
- Perscott M. L., Harley., Klein., Willey., Sherwood., Wodverton. 2010. *Microbiologie*.
- Petignat C., Blanc D., Bally F. 2006. *Microbiologie pathogénèse de l'infection*. Cours
- Rahal K (2005). *Standardisation de L'antibiogramme en Médecine Humaine à l'Echelle*
- Rahal, K. 2005. « Standardisation de L'antibiogramme en Médecine Humaine à l'Echelle Nationale selon les recommandations de l'OMS, 4ème édition, éd Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière ».

- Raissi, Abdolshakoor, Mina Arbabi, Javad Roustakhiz, et Masih Hosseini. 2016. « Haplophyllum tuberculatum: An overview ». *Journal of HerbMed Pharmacology* 5(4): 125-30.
- Ratheesh, M., et A. Helen. 2007. « Anti-Inflammatory Activity of Ruta Graveolens Linn on Carrageenan Induced Paw Edema in Wistar Male Rats ». *African Journal of Biotechnology* 6(10). <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/57401> (6 juin 2023)..
- Reviews, 12 (4) : 564-582.73. Cushnie T.P.T. et Lamb A.J Rizk, Maha Z., Nadia S. Metwally, Manal A. Hamed, et Azza M. Mohamed. 2012. « Correlation between Steroid Sex Hormones, Egg Laying Capacity and Cercarial Shedding in Biomphalaria Alexandrina Snails after Treatment with Haplophyllum Tuberculatum ». *Experimental Parasitology* 132(2): 171-79.
- Salvo, Gabriele et al. 2011. « Phylogeny, morphology, and biogeography of Haplophyllum (Rutaceae), a species-rich genus of the Irano-Turanian floristic region ». *Taxon* 60: 513-27.
- Schaechter, M., Medoff, G., & Eisenstein, B. I. (1999). *Microbiologie et pathologie infectieuse*. De Boeck Supérieur.
- Schmelzer, G. H., et A. Gurib-Fakim. 2013. « Plant Resources of Tropical Africa 11(2): Medicinal Plants 2. » *Plant resources of tropical Africa 11(2): medicinal plants 2*. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20163198829> (21 mai 2023).
- Shabana, M. M. et al. 1990. « Study into wild Egyptian plants of potential medicinal activity. Ninth communication: hypoglycaemic activity of some selected plants in normal fasting and alloxanised rats. » *Archiv fur experimentelle Veterinarmedizin* 44(3): 389-94.
- Shinkafi, S. A. 2013. « Antidermatophytic activities, phytochemical screening and chromatographic studies of Pergularia tomentosa L. and Mitracarpus scaber Zucc.(Leaves) Used in the treatment of dermatophytoses ». *Int Res J Microbiol* 4: 29-37.
- Smith-Palmer, A., J. Stewart, et Lorna Fyfe. 2001. « The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese ». *Food microbiology* 18(4): 463-70.
- Sofowora, Abayomi. 2010. *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*. KARTHALA Editions.
- Tabart, Jessica et al. 2007. « Optimisation of extraction of phenolics and antioxidants from black currant leaves and buds and of stability during storage ». *Food chemistry* 105(3): 1268-75.
- Xia E.Q., Deng G.F., Guo Y.J. et Li H.B., 2011- Biological activities of polyphenols
Zeghouane, H. 2014. « Essai de caractérisation phytochimique des extraits de quelques plantes médicinales du Sahara septentrional Est-Algérien ». *Mémoire Master*. Université Kasdi Merbah, Ouargla, Algérie: 17.

Annexes

Annexes 01 : composition des milieux de culture

Gélose nutritive :

- ✓ Extraction de viande 0,1g
- ✓ Extraction de levure 02g
- ✓ Peptone 05g
- ✓ Chlorure de sodium 05g
- ✓ Agar 15g
- ✓ Ph=7,5

Muller Hinton :

- ✓ Infusion se viande de bœuf 300em
- ✓ Peptone de caséine 17,5g
- ✓ Amidon de maïs 1,5g
- ✓ Agar 17g
- ✓ Ph=7,4

Annexes 02 : Préparation des réactifs pour tests Phytochimiques

Réactif de Mayer

- Solution A : 1.358g de chlorure de mercure $HgCl_2$ sont dissous dans 60 ml d'eau distillée ;
- Solution B : 5g d'iodure de potassium KI sont dissous dans 10ml d'eau distillée
Les solutions A et B sont mélangées extemporanément et le volume final est ajusté à 00 ml avec d'eau distillée

Solution	Préparation
KOH10%	on dissoudre 10g dans 100 ml d'eau distillé
réactif de Stiasny	10ml de formaldéhyde +5ml d'HCL concentré
FeCl ₃ (1%)	on dissoudre 0.1g dans 100 ml d'eau distillé
méthanol 50%	50% 50 ml méthanol pure +50ml eau désilé
NaOH 10%	10% on dissoudre 10g dans 100 ml d'eau distillé
FeCl ₃ (2%)	on dissoudre 0.2 g dans 100 ml d'eau distillé

المخلص

يُدرج عملنا هذا ضمن تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للنبتين الطبيتين *Pergularia tomentosa* و *Ruta tuberculata* التي تم قطفهما من مناطق شبه جافة في بسكرة. تم تحضير مستخلصات النبتين بواسطة الغلي في الماء بالنسبة للمستخلص المائي، وعن طريق النقع في الميثانول 80 %، والأسيتون وإيثيل الأسيتات، بالنسبة إلى EAE وEMet, EAc على التوالي. أظهرت نتائج الفحص الكيميائي النباتي أن النبتتين المدروستين غنيتان بالعديد من المستقلبات الثانوية، وخاصة البوليتربينات والبوليفينول والعفص. أكد تقييم النشاط المضاد للبكتيريا أن كلا النبتتين تمتاز بنشاط مضاد للبكتيريا معتبر ضد السلالات التي تم اختبارها، حيث كانا فصل تثبيط بواسطة EAQ لـ *P.tomentosa* و *R.tuberculata* ضد *S. aureus* بتركز 150 مغ/مل، بقطر 9.5 و 16 مم على التوالي، إضافة أن ليهما نفس (50مغ/مل) CMI

الكلمات المفتاحية: *Ruta tuberculata, Pergularia tomentosa*; النشاط المضاد للبكتيريا

Résumé

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'évaluation de l'activité antibactérienne de *Ruta tuberculata* et *Pergularia tomentosa* récoltées des régions de Biskra. Pour cela les extraits de deux plantes sont préparés par la décoction dans l'eau pour EAQ et par macération dans méthanol 80%, acétone et acétate éthylique pour EMet, EAc et EAcE respectivement. Les résultats de screening phytochimique ont montré que les deux plantes étudiées sont riches en plusieurs métabolites secondaires, principalement les polyterpènes, les polyphénols et les tanins. L'évaluation de l'activité antibactérienne a confirmé que les deux plantes sont présentées une activité antibactérienne significative contre les souches testées, où la meilleure inhibition a été par EAQ de *R. tuberculata* et *P. tomentosa* contre *S. aureus* à dose 150mg/ml, à diamètre 9.5 et 16mm respectivement, En plus et ils ont la même CMI (50mg/ml).

Mots clés : *Ruta tuberculata ; Pergularia tomentosa*; activité antibactérienne

Abstract

Our work is part of the evaluation of antibacterial activity of *Ruta tuberculata* and *Pergularia tomentosa* harvest areas of Biskra. For this purpose the extracts of two plants are prepared by decoction in water for EAQ and by maceration in methanol 80%, acetone and acetate ethyl for emission, EAc and EAcE respectively. Phytochemical screening results showed that the two plants studied are rich in several secondary metabolites, mainly polyterpenes, polyphenols and tannins. The antibacterial activity assessment confirmed that both plants are presented with a significant antibacterial activity against the strains tested, where the EAQ inhibition was *R.tuberculata* and *P. tomentosa* against *S. aureus* at 150mg/ml dose, at 9.5 and 16mm diameter respectively, and they have the same MIC (50mg/ml).

Keywords: *Ruta tuberculata; Pergularia tomentosa*; antibacterial activity

