

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie



MÉMOIRE

Présenté par

BENTABET Fatima Zohra

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Sciences biologiques

Option : Microbiologie Fondamentale

Thème

Effet antimicrobien de quelques extraits de *Atriplex halimus*

Soutenu le 21 Juin 2023, devant le jury composé de :

| | | | |
|-----------|-------------|--------|-----------------------|
| Président | MKEDDER I | M.C.A | Université de Tlemcen |
| Encadrant | BOUALI W. | M.C.A | Université de Tlemcen |
| Examineur | MEDJDOUB H. | M.C.B. | Université de Tlemcen |

Année Universitaire 2022/2023

REMERCIEMENT

Avant tout, nous remercions le Dieu tout puissant qui nous a donné le courage et la force pour mener à terme ce travail

J'exprime ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements à Mme BOUALI Waffa, Maître de conférences classe « A », à l'Université d'Aboubekr Belkaïd, Tlemcen qui m'a honoré en acceptant de diriger ce travail, pour ces encouragements, ses conseils, sa disponibilité et sa patience pour la correction de ce mémoire.

Merci de m'avoir guidé avec gentillesse et bienveillance.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance aux membres du jury d'avoir accepté de consacrer de leur temps pour lire et évaluer ce travail.

Mes sincères remerciements et ma plus profonde gratitude à Mme MKKEDER Ilhem Maître de conférence classe « A » à L'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury.

J'adresse ma plus profonde gratitude à Mme MEDJDOUB Houria, Maître de Conférences classe «B» à l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail en examinant ce mémoire, pour son aide et ses précieux conseils.

Un remerciement particulier à ma chère collègue Mme Zekraoui Fatema qui m'a énormément aidé , à Mme ZIANE Hanane, doctorante en biochimie, et à Mme BEY Faiza, enseignante en microbiologie à notre université, pour leur aide précieuse et leur soutien

À tous ceux qui m'ont encouragé.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents pour
l'éducation qu'ils m'ont prodiguée avec tous les moyens
et au prix de tous les sacrifices qu'ils ont consentis à
mon égard, pour leur patience, leur amour, leurs
encouragements , leurs aides et soutien inépuisable.

À mon marie qui m'a beaucoup aidé et soutenu
A mes enfants Abdessamie ,Ines et Abdelmonaim
A mes sœurs et mon cher frère

A mes chère collègues

ملخص

تعتبر النباتات الطبية مصدرًا أساسيًا للمادة الخام لاكتشاف جزيئات جديدة. نتيجة لذلك، حظي استخدام النباتات الطبية في طب الأعشاب باهتمام كبير في الأبحاث الطبية الحيوية.

الهدف من هذه الدراسة هو تعزيز وتقييم القوة المضادة للبكتيريا للمستخلص الهيدروأسيونوني لنبات طبي القطف تم حصاده من منطقة النعامة في الجزائر، وهو يستخدم في الطب التقليدي في الجزائر لعلاج أمراض مختلفة مثل السكري وتكيس المبيض والرحم وأمراض المغص (مضاد الألم، مضاد الروماتيزم، إلخ)، هي شجيرة تنتمي إلى عائلة **Amaranthaceae**، عفوية في السهوب شبه القاحلة والقاحلة.

بعد الحصاد، تم الاستخلاص بالنقع للجزء الهوائي للقطف في خليط أسيتون- ماء (70/30). يتم تجفيف المستخلص الناتج واستخدامه لتقييم نشاطه المضاد للبكتيريا.

تم تنفيذ طريقة الانتشار على الأغار (الأقراص والأبار) بالإضافة إلى تحديد الحد الأدنى من التركيز المثبط والحد الأدنى من التركيز البكتيري القاتل لتقييم النشاط المضاد للبكتيريا في المختبر مقابل سبعة سلالات بكتيرية مرجعية:

Klebsiella pneumoniae, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Esherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Enterococcus faecalis*.

يحتوي مستخلص الأسيتون المائي على عائد مثير للاهتمام بنسبة 10٪.

تظهر النتائج أن مستخلص الأسيتون المائي له نشاط مضاد للبكتيريا فقط لسلالتين: المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* والمكورات المعوية البرازية *E. faecalis* مع منطقة تثبيط 10 مم و 8 مم على التوالي. كان لدى *S. aureus*

أقل MIC عند 12.5 ملجم/مل. وجدنا أيضًا أن مستخلصنا له نشاط بكتيري قاتل لكل من السلالتين البكتيريتين السابقتين. بناءً على النتائج التي تم الحصول عليها نستنتج ان القطف هو نبات يحتوي على مركبات طبيعية نشطة بيولوجيًا فعالة

ضد بعض السلالات البكتيرية المسببة للأمراض، ويمكن أن يكون لهذا النبات آثار علاجية ودوائية خاصة ومثيرة للاهتمام .

الكلمات الرئيسية : نشاط مضاد للبكتيريا- الحد الأدنى من التركيز القاتل CMB - الحد الأدنى من التركيز المثبط CMI - استون ماء - القطف

Abstract

Medicinal plants are considered an essential source of raw material for the discovery of new molecules. Thus, the use of medicinal plants in herbal medicine has received a great interest in biomedical research.

The objective of this study is to enhance and evaluate the antibacterial power of the hydroacetic extract of a medicinal plant *Atriplex halimus* harvested from the Naama region of Algeria, it is used in traditional medicine in Algeria to treat various diseases such as diabetes, ovarian and uterine cysts, colic diseases (antispasmodic, antirhumatisme, etc.), it is a shrub belonging to the family Amaranthaceae, spontaneous in semi-arid and arid steppes.

After harvest, the aerial part was macerated in a water-acetone mixture (30/70). The resulting extract is dried and used to evaluate its antibacterial activity.

The method of diffusion on agar (discs and wells) as well as the determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (BMC) were carried out to assess the antibacterial activity *in vitro* against Seven reference bacterial strains: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*.

The water acetone extract has an interesting yield of 10%.

The results show that the water-acetone extract has antibacterial activity only for two strains: *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* with an inhibition zone of 10 mm and 8 mm respectively. *S. aureus* had the lowest MIC at 12.5 mg/ml. We also found that our extract has bactericidal activity for both strains.

Based on the results obtained, we conclude that *Atriplex halimus* is a plant that contains natural bioactive compounds effective against certain bacterial pathogenic strains, this plant can have particular and very interesting therapeutic and pharmacological implications.

Keywords: *Atriplex halimus*, antibacterial activity, CMI, CMB, water-acetone

Résumé

Les plantes médicinales sont considérées comme une source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules. De ce fait, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale.

Cette étude a pour objectif la valorisation et l'évaluation du pouvoir antibactérien de l'extrait hydroacétonique d'une plante médicinale l'*Atriplex halimus* récoltée de la région de Naama de l'Algérie, elle est utilisée dans la médecine traditionnelle en Algérie pour traiter diverses maladies telle que le diabète, les kystes ovariens et de l'utérus, les affections coliques (antispasmodique, antirhumatismale...), c'est un arbuste appartenant à la famille des Amaranthacées, spontanée dans les régions steppiques semi-arides et arides.

Après la récolte, la partie aérienne a été macérée dans un mélange eau-acétone (30/70). L'extrait ainsi obtenu est séché et utilisé pour évaluer son activité antibactérienne.

La méthode de diffusion sur gélose (des disques et des puits) ainsi que la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) ont été effectuées pour évaluer l'activité antibactérienne *in vitro* vis-à-vis de sept souches bactériennes de référence : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*.

L'extrait eau- acétone présente un rendement intéressant de 10%.

Les résultats montrent que l'extrait eau-acétone a une activité antibactérienne seulement pour deux souches: *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* avec une zone d'inhibition de 10 mm et 8 mm respectivement.

S aureus a enregistré la plus faible CMI avec une concentration de 12.5 mg/ml. L'extrait eau-acétone testé dans cette étude présente une activité bactéricide pour les deux souches bactériennes.

Sur la base des résultats obtenus, nous concluons que l'*Atriplex halimus* contient des composés bioactifs naturels efficaces contre certaines souches bactériennes pathogènes, cette plante peut avoir des implications thérapeutiques et pharmacologiques particulières et très intéressantes.

Mots clés : *Atriplex halimus*, activité antibactérienne, CMI, CMB , eau- acétone.

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1: <i>Atriplex halimus</i> dans son environnement | 8 |
| Figure 2: Image plan de racines, fleurs, branches et graines d' <i>Atriplex halimus</i> | 9 |
| Figure 3: <i>Atriplex halimus</i> | 24 |
| Figure 4: Les différentes étapes de l'extraction (A: Macération, B: Filtration, C: Evaporation, D: l'extrait après séchage dans l'étuve, E : Extrait récupéré)..... | 26 |
| Figure 5: Effets inhibiteurs de l'extrait <i>Atriplex halimus</i> sur les différentes souches bactériennes (A : <i>S.aureus</i> ;B : <i>E.faecalis</i> ;C : <i>B.cereus</i> ;D : <i>K.pneumoniae</i> ;E : <i>E.coli</i> .F : <i>P.aeruginosa</i> ;G : <i>S.typhimurium</i>)..... | 34 |
| Figure 6: Les zones d'inhibition des souches bactériennes (A : <i>S.aureus</i> ;B : <i>E.faecalis</i> ;C <i>E.coli</i> ;D : <i>B.cereus</i> ;E : <i>K.pneumoniae</i> ;F : <i>S.typhimurium</i> ;G : <i>P.aeruginosa</i>)vis-à-vis du DMSO et la Gentamicine..... | 36 |
| Figure 7: La concentration minimale inhibitrice de l'extrait hydro acétonique de la partie aérienne d' <i>Atriplex halimus</i> vis-à-vis des souches <i>S.aureus</i> et <i>E.faecalis</i> | 39 |
| Figure 8 : Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) | 40 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1:Composition minérale d'un <i>Atriplex halimus</i> | 12 |
| Tableau 2: Type et forme des souches bactériennes testées. | 25 |
| Tableau 3:Equipements et produits utilisés | 25 |
| Tableau 4:Caractéristiques de l'extrait d' <i>Atriplex halimus</i> obtenu..... | 32 |
| Tableau 5:Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'extrait d' <i>Atriplex halimus</i> | 35 |
| Tableau 6: Diametre des zone d'inhibition de la Gentamycine et du DMSO pour les sept souches bactériennes | 36 |
| Tableau 7:Concentration minimale inhibitrice (CMI) (mg/ml) de l'extrait d' <i>Atriplex halimus</i> vis-à-vis des souches bactériennes. | 38 |

Liste des abréviations

- **R** : rendement en extrait brut sec exprimé en %.
- **M1** : masse en grammes de l'extrait brut sec.
- **M2** : masse en grammes du matériel végétal broyé.
- **DMSO** : Dimethyl sulfoxide
- **MH** : Muller Hinton
- **BMH** : Bouillon Muller Hinton
- **GN** : Gélose Nutritive
- **M.F** : Mac Farland
- **UFC** : Unité Formant colonie
- **nm** : nanomètre
- **µl** : microlitre
- °C : degré celsius
- **mn** : minutes
- **h** : heures
- **v/v** : volume/volume
- **mm** : millimètre
- **ml** : millilitre

Table de matières

| | |
|---|-----------|
| Résumé | |
| Remerciement | |
| Dédicaces | |
| Liste des figures | |
| Liste des tableaux | |
| Liste des abréviations | |
| Table de matières | |
| Introduction | 1 |
| Partie I : Synthèse Bibliographique | 2 |
| Chapitre I : Les Plantes Médicinales <i>Atriplex Halimus</i> | 3 |
| I. Plantes médicinales | 4 |
| I.1 Généralité | 4 |
| I.2 Historique..... | 4 |
| I.3 Définition | 5 |
| I.4 Mode d'utilisation des plantes médicinales | 6 |
| Infusion | 6 |
| Décoction | 6 |
| Macération | 6 |
| I.5 Phytothérapie | 6 |
| I.6 Intérêt des plantes médicinales | 7 |
| II. Etude botanique de <i>Atriplex halimus</i> | 8 |
| II.1 Généralités sur l'espèce <i>Atriplex halimus</i> | 8 |
| II.2 Description botanique..... | 9 |
| II.3 Distribution géographique | 10 |
| II.4 Taxonomie | 10 |
| II.5 Nomenclature | 10 |
| II.6 Usage thérapeutique | 11 |
| II.7 Composition chimique de <i>Atriplex halimus</i> | 12 |
| II.7.1 Composition organique | 12 |
| II.7.2 Composition minérale | 12 |
| II.8 Effet indésirable de l' <i>Atriplex halimus</i> | 12 |
| II.9 Conservation | 13 |
| Chapitre II :Métabolites Primaire Et Secondaire Des Plantes Médicinales..... | 14 |
| I. Généralités sur les métabolites primaires et secondaires des plantes médicinales | 15 |

| | | |
|--------|---|-----------|
| I.1 | Métabolites Primaires | 15 |
| I.1.1 | Les Glucides..... | 15 |
| I.1.2 | Les Acides aminés et organiques | 16 |
| I.1.3 | Les Lipides..... | 16 |
| I.2 | Métabolites Secondaires | 16 |
| I.2.1 | Les Alcaloïdes..... | 17 |
| I.2.2 | Les Composés phénoliques..... | 17 |
| | Les Flavonoïdes | 18 |
| | Les Tanins..... | 19 |
| | Les Acides phénoliques | 20 |
| | Les Alcools phénoliques..... | 20 |
| | Les Lignines..... | 20 |
| I.2.3 | Les Terpènes | 20 |
| I.2.4 | Les Saponosides | 21 |
| | Partie II : Partie Expérimentale | 22 |
| | Matériel Et Méthodes | 23 |
| I. | Objectif | 24 |
| II. | Matériels | 24 |
| II.1 | Matériels végétal | 24 |
| II.2 | Matériels biologique..... | 25 |
| II.3 | Equipements et produits utilisés..... | 25 |
| III. | Préparation de l' extrait d' <i>Atriplex halimus</i> | 26 |
| III.1 | Préparation de l'extrait eau-acétone | 26 |
| III.2 | Calcul du rendement de l'extrait | 27 |
| III.3 | Préparation des dilutions..... | 27 |
| IV. | Evaluation de l'activité antibactérienne des différentes concentrations de l'extrait d' <i>Atriplex halimus</i> | 27 |
| IV.1 | Préparation des milieux de cultures..... | 27 |
| IV.2 | Stérilisation du matériel..... | 28 |
| IV.3 | Préparation des suspensions bactériennes | 28 |
| IV.3.1 | Revivification des souches | 28 |
| IV.3.2 | Repiquage | 28 |
| IV.4 | Préparation de l'inoculum..... | 28 |
| IV.5 | Application de la méthode de diffusion sur gélose | 29 |
| IV.5.1 | Méthode des disques | 29 |
| IV.5.2 | Méthode des puits | 29 |

| | | |
|--|---|----|
| IV.6 | Application de la méthode de micro dilution en milieu liquide (CMI)..... | 29 |
| IV.7 | Application de la méthode de concentration minimal bactéricide (CMB)..... | 30 |
| Résultats Et Discussion | | 31 |
| I. | Rendement de l'extraction | 32 |
| II. | Etude de l'activité antibactérienne | 33 |
| II.1 | Méthode des disques..... | 33 |
| II.2 | Méthode des puits..... | 33 |
| II.3 | Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB)..... | 38 |
| Conclusion | | 42 |
| Références Bibliographiques | | 45 |

INTRODUCTION

L'utilisation des plantes médicinales a conservé une large place malgré le développement de la chimie de synthèse, du fait de leur efficacité dans diverses procédures thérapeutiques. Leur utilisation actuellement, occupe une place primordiale dans la vie de l'homme. En effet, les connaissances ancestrales sont transmises de générations en générations, permettant ainsi la conservation de ce savoir (**Lazli et al., 2019**).

Les recherches scientifiques n'ont fait que confirmer le bien-fondé des vertus thérapeutiques de la majorité de plantes médicinales utilisées depuis des millénaires. Elles constituent un groupe vaste et contiennent des composants actifs utilisés dans le traitement de diverses maladies. On les emploie également dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique (**Volak et Stodola, 1984**).

La région méditerranéenne et l'Algérie précisément comporte une flore intéressante des plantes médicinales à usage thérapeutique important, l'*Atriplex halimus* fait partie des plantes médicinales qui contiennent une diversité de composés différents qui peuvent exercer une activité biologique. C'est un arbuste appartient à la famille des Amaranthaceae, pousse sur un large éventail de sols, cette plante est largement répandue dans les zones arides et semi-arides.

Cette étude a été menée dans le cadre d'une évaluation du pouvoir antibactérien de l'extrait hydro acétonique de l'*Atriplex halimus* par la méthode de diffusion des disques et puits sur gélose et méthode de microdilution pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB), vis-à-vis de trois souches bactériennes de référence à Gram positif et quatre souches bactériennes à Gram négatif.

Notre travail est structuré en deux parties comme suit :

- La première partie englobe la synthèse bibliographique divisée en deux chapitres ; le premier chapitre concerne des données générales sur les plantes médicinales, et l'*Atriplex halimus* en particulier (taxonomie, description botanique...), le second chapitre est réservé aux métabolites primaires et secondaires des plantes médicinales.
- La deuxième partie concerne l'étude expérimentale : préparation de l'extrait d'*Atriplex halimus*, repiquage des souches et préparation de l'inoculum ensuite l'application des méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne ; cela est suivie par les résultats et discussion, enfin une conclusion et les perspectives de ce travail.

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Les plantes médicinales *Atriplex halimus*

I. Plantes médicinales

I.1 Généralité

Depuis longtemps l'utilisation des plantes médicinales était connue pour améliorer et guérir la santé de l'homme, aujourd'hui elles sont exploitées à tous les niveaux, notamment au niveau thérapeutique. Au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques n'ont fait que confirmer le bien-fondé des vertus thérapeutiques de la plupart des plantes médicinales utilisées de façon empirique depuis des millénaires. Malgré le développement de la chimie de synthèse, l'utilisation des plantes médicinales a conservé une large place du fait de leur efficacité dans diverses procédures thérapeutiques. Elles constituent un groupe numérique vaste et contiennent des composants actifs utilisés dans le traitement de diverses maladies. Outre leur utilisation comme remède direct, on les emploie aussi dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique (**Volak et Stodola, 1984**).

I.2 Historique

La médecine par les plantes remonte à l'aube de l'humanité. Aux temps préhistoriques, les chasseurs-cueilleurs ne se limitaient pas à consommer des plantes, ils s'en servaient aussi pour se soigner (**Sanogo, 2006**).

Pas d'écrits bien sûr, mais des fouilles archéologiques ont dévoilé qu'il y a 35000 ans les hommes de Cro-Magnon connaissaient certaines plantes comme la camomille, le chanvre, l'ortie, l'achillée millefeuille, le lin, le pavot et la valériane. Les premiers « sorciers » datent de cette lointaine époque où l'usage des plantes médicinales revêtait pour les hommes un caractère sacré (**Adenot, 2009**).

Les plus anciens écrits remontent à la Chine, à la Mésopotamie, à l'Égypte et à l'Inde. Les Arabes conservèrent pendant des millénaires le monopole du commerce des herbes et contribuèrent largement au progrès des techniques d'extraction des huiles et parfums. Un progrès décisif dans l'histoire de la pharmacie est apporté un siècle plus tard par Galien (médecin des empereurs). La galénique (mode de préparation des médicaments) est instaurée par lui. A cette époque, les plantes étaient de toutes fêtes et aucun plat n'était servi sans accompagnement d'épices et condiments. Les Gaulois avaient un bon herbier, le gui plante rituelle utilisée par les druides côtoyait dans la vie quotidienne les simples aromatiques locaux (ail, armoise, fenouil, laurier, menthe, thym ...) et d'autres apportées par les conquérants romains. En Amérique, les Aztèques, les Mayas, les Incas et les habitants de la forêt tropicale avaient une parfaite connaissance des plantes médicinales et aussi des drogues et plantes toxiques (**Bruneton, 1999**).

En Chine, la médecine traditionnelle repose sur une riche tradition ancestrale tirant ses origines de nombreux empereurs. La pharmacopée chinoise regroupe 15000 formules concernant 20000 plantes, comme le haricot, le safran, le datura, la rhubarbe, l'ergot de seigle, le gingembre, la cannelle, le poivre, le grenadier... etc., La médecine traditionnelle chinoise reste omniprésente et en coexistence avec la médecine occidentale, conventionnelle et fait partie du système de santé chinois (**Zeghlache et Zid elkhir, 2021**).

En Afrique la médecine traditionnelle utilise depuis des millénaires les plantes médicinales. Plusieurs milliers des produits ont été recensés. Au moyen âge, après la chute de l'empire romain, l'Europe connaît un retour à la barbarie, un déclin général du savoir et une longue période d'obscurantisme. Il faudra attendre l'apport des Arabes pour assister à une véritable renaissance (**Bruneton, 1999**).

Vers le 12ème siècle, les croisades relancent les échanges entre l'Europe et le Moyen-Orient et contribue à la renaissance Italienne, le commerce des épices renaît. Concernant les arabes et les musulmans en particulier, ils ont développé la médecine d'une façon très surprenante. Rappelons : DJABER IBN HAYAN et RAZI puis IBN SINA (980-1037) qui avait décrit plusieurs traités à ce sujet, le plus célèbre était « KANOUN EL TIB (les lois de la médecine) (**Belakhder, 1997**).

I.3 Définition

Selon l'OMS, toute plante qui contient une substance qui peut être utilisée en thérapie ou qui est précurseur en chimio pharmacie semi-synthétique est référencée comme plante médicinale (**Jain et al., 2019**). Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important, malgré l'existence et l'influence de système sanitaire moderne, environ 35000 espèces des plantes sont utilisées dans le monde à des fins médicinales ce qui forme le plus important éventail de la biodiversité utilisé par les êtres humains (**Fransworth et al., 1986**).

Ces plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et la synthèse des médicaments non seulement lorsque leurs constituants sont utilisés directement comme agent thérapeutique mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou modèle pour les composés pharmacologiquement actifs (**Amenah, 2006**). Elles ont deux origines : En premier lieu les plantes spontanées dites "sauvages" ou de cueillette, puis en second les plantes cultivées (**Chabrier, 2010**).

On peut distinguer deux types de plantes médicinales, en premier lieu, on trouve l'allopathie dans laquelle les plantes ont une action importante et immédiate. Certaines plantes utilisées dans ce mode de traitement peuvent s'avérer toxiques. Puis on différencie les

plantes dépourvues d'effet iatrogène mais ayant une activité faible. Elles sont utilisées en l'état ou dans des fractions réalisant le totum de la plante, soit la totalité des constituants (Zahalka, 2005)

I.4 Mode d'utilisation des plantes médicinales

- **Infusion**

L'infusion est la forme de préparation la plus simple, on l'applique généralement aux organes délicats de la plante. Cette forme permet d'assurer une diffusion optimale des substances volatiles : essences, résines, huiles La formule consiste à verser de l'eau bouillante sur une portion d'organes végétaux : fleurs, feuilles, tiges (Baba Aïssa, 2018)

- **Décoction**

Elle convient pour l'extraction de matières végétales dur ou très dur : bois, écorce, racines, ou des plantes avec des constituants peu solubles (Benzeggouta, 2014). Elle consiste à faire bouillir les organes indiqués dans de l'eau, pendant plusieurs minutes (environ 20 à 30 minutes) pour bien extraire les principes médicinales. Pour cela il est recommandé d'utiliser des ustensiles et des récipients en verre pyrex (Baba Aïssa, 2018).

- **Macération**

Solution obtenue en traitant, pendant un temps plus ou moins long, une plante par immersion dans l'eau froide et alcool, pour obtenir les principes solubles (Beloued, 1998). Selon le cas de la plante, on obtient la solution en quelques heures à plusieurs jours, parfois plusieurs semaines (Valent, 2001). Cette méthode s'applique pour les plantes riches en huiles essentielles (Delille, 2007). Elle concerne principalement les plantes dont les principes actifs sont dégradés par la chaleur (Fleurentin et Hayon, 2016). Une filtration sera nécessaire avant la consommation. Grâce à ces techniques, les principes actifs hydrosolubles sont extraits (Bertrand, 2010).

I.5 Phytothérapie

Le terme "phytothérapie" se compose de deux mots grecs : phuton et therapeia qui signifient respectivement "plante" et "traitement". On peut donc définir la phytothérapie comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes entières, de parties de

plantes ou de préparations à base de plantes utilisées soit par voie externe ou consommées. (Wichtl et Anton, 2003).

La phytothérapie s'attache donc à analyser les systèmes constitutifs de l'organisme : systèmes neuroendocrinien, hormonal, immunitaire, système de drainage... (Devoyer, 2012).

On distingue deux types de phytothérapies. En premier lieu se place la phytothérapie traditionnelle. C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une affection. Ses origines sont très anciennes et elle se base sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement (Redaction, 2007).

La seconde forme est la phytothérapie clinique. C'est une médecine de terrain dans laquelle le malade passe avant la maladie. Une approche globale du patient et de son environnement est nécessaire pour déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet. Son mode d'action est basé sur un traitement à long terme (Moreau, 2003).

I.6 Intérêt des plantes médicinales

L'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement malgré les progrès de la pharmacologie (Chabrier, 2010). L'importance des plantes médicinales peut être déterminée en plusieurs domaines notamment le domaine économique surtout avec la tendance mondiale à aller vers la nature et donc une augmentation de la demande de ces plantes, en plus du domaine pharmaceutique et la production des huiles (Bellakhdar, 2006). Les plantes médicinales ont contribué de manière importante dans l'évolution de la médecine moderne (Telefo *et al.*, 2012). Cette médecine traditionnelle est le précurseur de la phytothérapie et de l'aromathérapie (Bastien *et al.*, 2010).

II. Etude de la plante *Atriplex halimus*

II.1 Généralités sur l'espèce *Atriplex halimus*

Atriplex est une plante arbustive appartenant à la famille des *Amarantaceae* qui comprend environ 417 espèces dans le bassin méditerranéen (Le Houerou, 1992). L'*Atriplex* a plusieurs noms communs : pourpier de mer, arroche marine, arroche des sables, sea orache, méditerranéen salta bush ou shrabby orache et en arabe G'utef ou Raghl (Ould-kadour, 2019).

Les espèces d'*Atriplex* sont nombreuses, on peut citer : *Atriplex halimus*, *Atriplex nummularia*, *Atriplex lentiformis*, *Atriplex amnicola*, *Atriplex canescens* (Ould-kadour, 2019).

L'*Atriplex* est un type fréquent dans beaucoup de régions arides et semi-arides, dans les zones sèches dans le monde, surtout dans les habitats qui combinent la salinité et la sécheresse des sols, et forme donc un matériel utile à tous les mécanismes physiologiques impliqués dans la résistance au stress salin (Kachout *et al.*, 2016). Il pousse sur différentes variétés de sols de texture fine à grossière avec différents degré de salinité. (Walker *et al.*, 2014) (Figure 1).



Figure 1: *Atriplex halimus* dans son environnement (Walker *et al.*, 2014)

II.2 Description botanique

Atriplex halimus est un arbuste de 1 à 3 m de haut, très rameux, formant des touffes pouvant atteindre 1 à 3 m de diamètre (Al-turkis *et al.*, 2000). Les feuilles sont alternes, brièvement mais nettement pétiolées, plus ou moins charnues, luisantes, couvertes de poils vésiculeux blanchâtres (trichomes), ovales, entièrement ou légèrement sinuées, de 0,5 à 1 cm de large sur 2 à 4 cm de long. Les plantes sont monoïques et portent des inflorescences en panicules d'épis, terminales, avec des fleurs mâles au sommet et des fleurs femelles à la base. La floraison - fructification se déroule de mai à décembre. Il existerait deux types d'architecture florale de base, l'une est constituée de fleurs mâles pentamères et l'autre de fleurs femelles munies d'un unique carpelle inséré entre deux bractées opposées (Talamali *et al.*, 2003) (Figure 2)

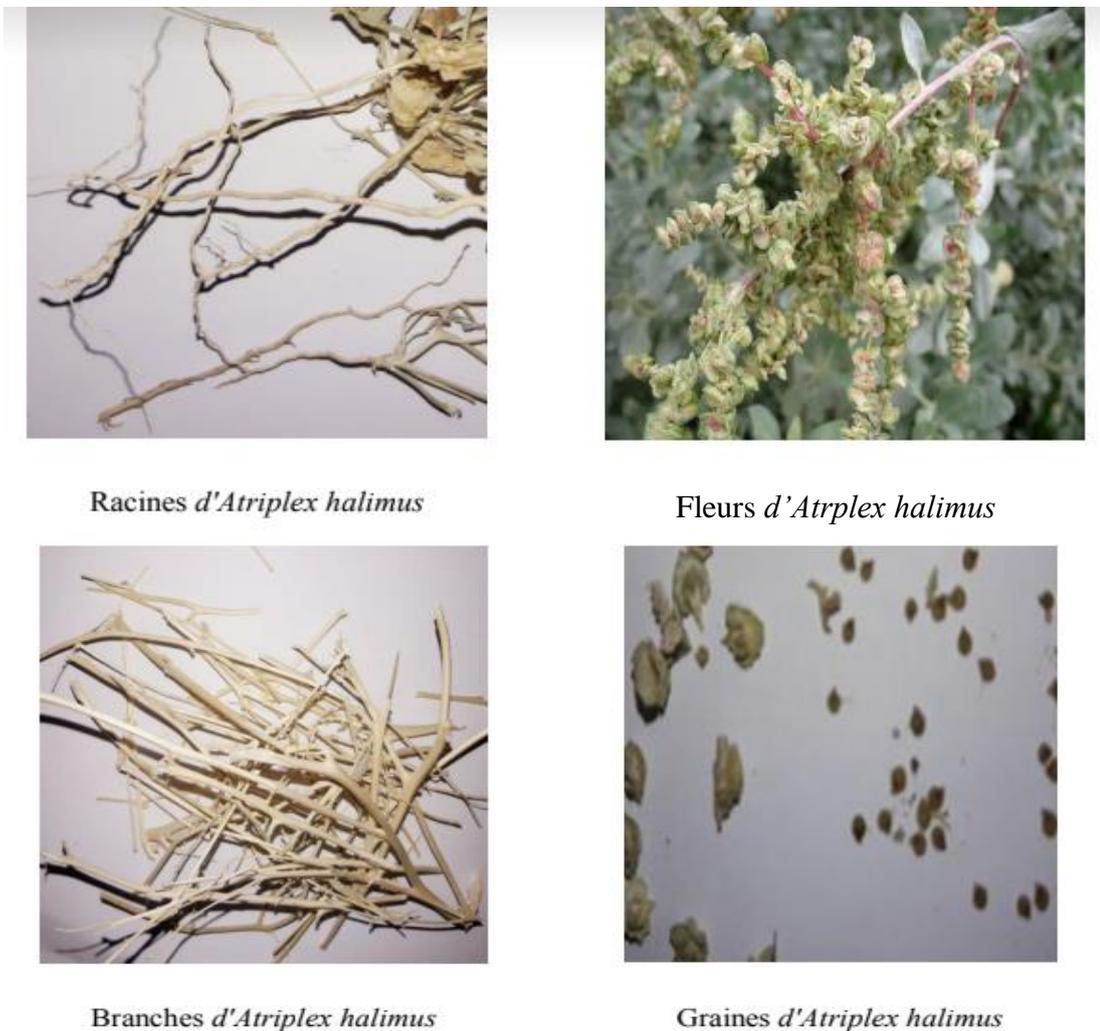


Figure 2: Image plan de racines, fleurs, branches et graines d'*Atriplex halimus* (Guettoche, 2021)

II.3 Distribution géographique

Le genre *Atriplex* est rencontré partout dans le monde, d'Alaska à la Patagonie, de la Bretagne à la Sibérie et de la Norvège à l'Afrique du sud (**Francllet et le Houerou, 1971**). On le trouve également en Europe sur toute la côte nord de la Méditerranée, ainsi qu'en Bulgarie (**Berri, 2009**), et inclut 48 espèces dans le bassin méditerranéen (**Maalem, 2002**). En Algérie, il pousse spontanément dans les zones arides et semi-arides notamment les steppes (Batna, Biskra, Msila, Djelfa, Saida, Tbessa et Tiaret) (**Pouget, 1980**).

L'*Atriplex Halimus* L, se trouve souvent dans le nord du désert, dans les montagnes centrales, dans les sols rocheux, les pentes argileuses et les zones très salées (**Ortiz-Dorda et al., 2005**).

Ce genre renferme plusieurs espèces intéressantes, mais celles qui figurent parmi les plus communes en Algérie sont : *A. littoralis* L, *A. patula* L, *A. rosea* L, *A. hastata* L, *A. halimus* L (**Quèzel et Santa, 1963**).

II.4 Taxonomie

D'après **Quèzel et Santa (1962)**, la classification d'*A. Halimus* est comme suit:

Règne : Végétale

Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes

Sous-Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Préastéridées

Ordre : Caryophyllades

Sous-ordre : Chénopodiales

Famille: Amaranthacées

Genre : *Atriplex*

Espèce : *halimus*

II.5 Nomenclature

Selon **Medjekal et Bousseboua (2016)**, il est connu en plusieurs noms,

En Algérie: G'ttaf (L'egttef),

En Français: Arroche halime ou Pourpier de mer ;

En Anglais: Saltbuch

II.6 Usage thérapeutique

La phytothérapie est utilisée depuis toujours dans le domaine de la médecine traditionnelle. Les pharmacopées s'inspirent principalement de la médecine arabe classique et de l'expérience locale des populations en matière de soins. Aujourd'hui les plantes jouent encore un rôle très important dans les traditions médicales, mais les règles de leur utilisation manquent de rigueur et ne tiennent pas compte des nouvelles exigences thérapeutiques modernes (**Belkhoudja and Bidai, 2007; Bellakhdar, 2006**).

L'usage traditionnel dans la région d'Ouargla de l'*Atriplex halimus* est préconisé à sec en adition soit avec du miel, sel avec miel, huile, lait ou beurre local (Dhan), pour différents symptômes: Catarrhe stomacal, constipation, diarrhée, gaz, ballonnement, kyste hydatique, fibrome, hypertension, brulures, diabète, fièvre, jaunasse, anémie, maladie cardiaque, otites, rhumatisme, toux, obésité, tumeur, fatigue, vermifuge, urine involontaire, vomissement, blessures et ulcères, angines et goitres, maladie des vésicules biliaires, calmant, fortifiant de la gencive, stérilité, prostate, chute du placenta, lithiase rénale, hypercholestérolémie (**Hadjadj et al., 2015**).

Au Sahara occidental, les cendres d'*A. halimus* potentialisent l'effet de l'insuline (**Mirsky et Nitsa, 2001; McKell et al., 1994; Mertz et al., 1973; Shani et al., 1972**) aussi elles sont utilisées dans le traitement de l'acidité gastrique.

Les racines découpées en lanières à la manière du siwak, servent pour les soins de la bouche et des dents. Les feuilles sont utilisées pour le traitement des maladies cardiaques et de diabète (**Said et al., 2000; Bellakhdar, 1997**).

Comme usage alimentaire, dans de nombreuses régions d'Algérie et de Tunisie, les populations locales cueillent les jeunes pousses et les cuisent comme des épinards (**Francelet et Le Houérou, 1971**).

Comme arbustes fourragers elle est considérée comme une plante très riche en protéines, ce qui en fait une source importante d'azote pour le bétail, c'est pourquoi les populations locales utilisent cette plante comme aliment pour le bétail en raison de sa valeur nutritive et de sa résistance à la sécheresse (**El-Shatnawi et turuk, 2002**).

II.7 Composition chimique d'*Atriplex halimus*

II.7.1 Composition organique

Elle dépend de plusieurs paramètres, tels que le climat, l'âge de plante et la saison. Cette matière végétale est très riche en protéines, fibres, en vitamine A, C et D. (Ouldkadour, 2019; Abbade *et al.*, 2004). Les études phytochimiques ont montré également qu'elle est riche en composés phénoliques, phénols, saponines glycosides, alcaloïdes, tannins, résines, betaines et flavonoïdes dont les flavonols (Benhammou *et al.*, 2009 ; Erdman *et al.*, 2006 ; Bylka *et al.*, 2004 ; Bylka *et al.*, 2001).

II.7.2 Composition minérale

La composition minérale de la plante *Atriplex halimus* est riche en oligo-éléments (fer, magnésium, potassium, sodium, phosphore et calcium) dans toute la plante (Laouedj, 2017). La teneur en quelques minéraux est défini dans le tableau 01.

Tableau 1:Composition minérale de l'*Atriplex halimus* (Ouldkadour, 2019).

| Espèce minérale | Teneur en g/kg |
|-----------------|----------------|
| Calcium (Ca) | 21.5 |
| Phosphore (P) | 1.92 |
| Magnésium (Mg) | 20.3 |
| Sélénium (Se) | 22 |
| Zinc (Zn) | 103 |
| Manganèse (Mn) | 395 |

II.8 Effet indésirable de l'*Atriplex halimus*

La consommation de cette plante ne cause pas de dommage au corps humain. Cependant lorsqu'elle est fertilisée avec des engrais anormaux, la substance de tartrate qui est présente dans les feuilles se concentre plus et devient toxique. Les graines sont toxiques car elle contient des saponines, mais l'absorption de cette substance est minime. La plante contient un pourcentage élevé d'oxalite. Pour cette raison les personnes souffrant de problèmes rénaux ne doivent pas se multiplier de consommation, car la combinaison du calcium et d'oxalite, endommage les reins (Gourri *et al.*, 2014).

II.9 Conservation

De manière générale, plusieurs facteurs influent sur la conservation des plantes médicinales, les principaux à prendre en compte sont la lumière, la température, le degré d'humidité, l'importance de la fragmentation et le type de récipient utilisé pour le stockage. Pour cela, le stockage doit donc privilégier un endroit sec bénéficiant d'une température et d'une humidité plus ou moins constante. On conserve dans des récipients fermés hermétiquement, éventuellement munis d'un moyen de dessiccation adapté, on utilise en général le gel de silice. Il faudra surveiller l'apparition de tous insectes et se débarrasser rapidement des lots infestés. L'usage de boîtes en carton est préférable à celui de récipients en matières plastiques qui absorbent les substances volatiles comme les huiles essentielles. La durée de conservation dépend du type de drogue, et aussi des conditions de stockage et de l'emballage. Les fleurs, feuilles et tiges herbacées se conserveraient en théorie un maximum de deux ans. Pour les racines, écorces et tiges, plus coriaces, la durée serait allongée à quatre ans. Il faut noter que les plantes à huiles essentielles se conserveraient un an (Chabrier, 2010).

CHAPITRE II :
Métabolites primaires et secondaires des plantes médicinales

I. Généralités sur les métabolites primaires et secondaires des plantes médicinales

La notion de métabolites primaires et secondaires, introduites par Albrecht Kossel en 1891, est encore largement utilisée, la frontière entre les deux apparaissant souvent peu évidente. Parler de « métabolisme hautement intégré et évolué » pour les métabolites primaires et de « métabolisme spécialisé » pour les métabolites secondaires serait plus conforme à la réalité de la complexité de la « raison d'être » de ces substances. Les métabolites primaires (acides aminés, sucres...) participent principalement aux processus vitaux indispensables au développement normal (production d'énergie, reproduction...), par contre aux métabolites secondaires, sont impliqués dans des voies métaboliques hautement évoluées et efficaces, ce sont des molécules, le plus souvent de petite taille, ne participant pas directement aux processus vitaux, produites par les organismes vivants de façon spécifique et contribuant à leur adaptation à l'environnement (par exemple moyens de défense, de communication intra- ou interspécifique), les métabolites secondaires sont en fait produits par tous les êtres vivants. Caractérisés par des voies de biosynthèse particulières, ils offrent une diversité moléculaire (alcaloïdes, polyphénols, terpènes...), d'un intérêt considérable pour l'Homme, ils sont en particulier à l'origine de la découverte de nombreux médicaments. De nombreux facteurs abiotiques peuvent affecter les métabolismes primaire et secondaire comme la température, la lumière, la nutrition minérale... Les principales molécules issues des métabolismes primaire et secondaire sont formées essentiellement de carbone et d'azote. Les disponibilités en C et N font donc partie des facteurs impactant le plus fortement ces métabolismes (**Ruiz *et al.*, 2003**).

I.1 Métabolites primaires

Ce sont des composés produits dans toutes les cellules de bas poids moléculaire et qui jouent un rôle essentiel dans le métabolisme et la reproduction de ces cellules. Ces molécules comprennent les acides nucléiques, les acides aminés, les acides gras et les sucres (**Lei *et al.*, 1996**).

I.1.1 Les glucides

Sont des molécules indispensables à la survie des organismes vivants car ils sont à la base des mécanismes énergétiques et de la biosynthèse des autres métabolites. Chez les végétaux on les retrouve sous différentes formes: polymères énergétiques (amidon) ou structuraux (cellulose, pectines...), sucres simples et hétérosides (**Lei *et al.*, 1996**).

Constituants de métabolites (les enzymes, acides nucléiques...), des précurseurs d'autres métabolites (**Bruneton, 1999**).

I.1.2 Les acides aminés et organiques

Ces métabolites sont présents dans différentes parties des plantes (**Lei et al., 1998**). Des acides organiques sont également présents tels que l'acide malique, l'acide citrique (**Lei et al., 1996**).

Les acides aminés sont des constituants principaux des protéines qui jouent un rôle fonctionnel (les enzymes) et un rôle dans la structure du végétal, sans négliger leur utilisation en pharmacie, dans le domaine médicale et industriel (chimique ou agroalimentaire) (**Bruneton, 1993**).

I.1.3 Les lipides

Ce sont des molécules à caractère hydrophobe c'est-à-dire à solubilité nulle ou faible dans l'eau et solubles dans des solvants organiques (**Venkatramesh et al., 2003**). Ils rentrent dans les constituants de structures cellulaires tels : les glycolipides, les phospholipides membranaires, ils peuvent aussi être des éléments de revêtement comme les cires, toutefois aussi des substances de réserves, sources d'énergies (**Bruneton, 1999**). On distingue :

- **Les lipides simples**, encore appelés homolipides sont des corps ternaires (C, H, O) que l'on classe en fonction de l'alcool en acylglycérols (ou glycérides), cérides et stérides (**Venkatramesh et al., 2003**).
- **Les lipides complexes**, sont des lipides qui contiennent (en plus du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène) du phosphore, de l'azote, du soufre ou des oses. On distingue les phosphoglycérolipides (ou phospholipides), les galactoglycérolipides (ou galactolipides) et les sphingolipides (**Ackman, 1989**).

I.2 Métabolites secondaires

Ce sont des composés synthétisés naturellement par les végétaux mais qui ne participent pas directement au métabolisme végétal (**Hostettmann et Marstonn, 1995**). Ils constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour des propriétés anti oxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses (**Epifano et al., 2007**).

Les plus grands groupes sont les alcaloïdes, les terpénoïdes, et les composés phénoliques (Alilou, 2012).

Ils sont considérés comme étant l'expression d'une spécialisation des cellules, initiée par le processus de différenciation au cours du développement de la plante, ils trouvent leur origine dans des produits du métabolisme des glucides, des lipides et des acides aminés. Ces métabolites s'accumulent dans les plantes en petites quantités, parfois dans des cellules spécialisées, ce qui rend leur extraction difficile. De nombreux métabolites secondaires intéressants pour l'Homme, sont produits actuellement à l'échelle industrielle par culture de cellules végétales dans des bioréacteurs. Ces produits relèvent principalement des domaines pharmaceutiques, agroalimentaire, cosmétique (Marouf *et al.*, 2007)

I.2.1 Les alcaloïdes

Sont des composés d'origine naturelle azoté plus ou moins basique (Mergham, 2009). Ils figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine (William, 2003). Ils ont une structure complexe, leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique, pour certains auteurs, ils sont issus du seul règne végétal, en général, ils portent le nom du végétal qui les contient (Kunkele et Lobmeyer, 2007).

Les alcaloïdes ont donné naissance à de nombreux médicaments (Ali-Delille, 2013). Ils possèdent des effets thérapeutiques variés, action dépressive (morphine, scopolamine...) ou stimulante (caféine, strychnine) sur le système nerveux centrale ; action sympathomimétique (éphédrine) ou sympatholytique comme certains alcaloïdes de l'ergot de seigle, parasympathomimétique (physostigmine, pilocarpine), anti cholinergique (atropine, hyoscyamine) ou ganglioplégique (nicotine, spartéine) sur le système nerveux autonome ; action anti tumorale (vinblastine, ellipticine) ; action curarisante, anesthésique locale (cocaïne) ; action antifibrillante (quinidine) ; antipaludique (quinine) et amibicide (émétine). Tous ces actions conduisent à une large utilisation des plantes à alcaloïdes dans différents traitements soit sous forme de préparations galéniques ou comme matières premières pour les extractions industrielles, mais un usage qui reste délicat suite à leurs puissants effets (Bruneton, 1999).

I.2.2 Les Composés phénoliques

Ces composés sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (He *et al.*, 2008; Mompon *et al.*, 1998). On les trouve dans

toutes les parties de la plante. Ils ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant, ils jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement **(Richter, 1993)**.

Le terme «phénol» englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés **(Druzyńska et al., 2007; Martin et Andriantsitohaina, 2002)**. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside **(Balasundram et al., 2006 ; Bruneton , 1999)**.

Les composés phénoliques ont un rôle dans la protection contre de nombreuses pathologies grâce à leurs propriétés antioxydantes, anti-tumorales, anti-inflammatoires, anti-radicalaires, antiallergiques, antibactériennes, antivirales, anti-estrogéniques, antiathérogènes et anti-thrombotiques. Ce ci est due à leur capacité d'interagir avec certaines enzymes, hormones, neurotransmetteurs et d'autres facteurs impliqués dans la genèse de ces maladies **(Chew et al., 2009; Falleh et al.,2008; Ali et al.,2007 ; Martin et Andriantsitohaina, 2002)**

✓ Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composées appartenant à la famille des polyphénols de formule fondamentale C6-C3-C6 trouvée dans tous les hauts organes des plantes **(HadjSalem, 2009)**. Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines **(Chira et al, 2008)**.

Ils sont à l'origine de la coloration des feuilles, fleur, fruit ainsi que d'autres parties végétales. Les flavonoïdes sont des antibactériens **(Wichtl et Anton, 2003)**. Les propriétés des flavonoïdes sont aujourd'hui largement étudiées dans le domaine médical : activité antivirale, anti tumorale, anti inflammatoire, anti allergique et anticancéreuse, antioxydants d'où leur usage pour le maintien d'une bonne circulation veino-trope et protecteurs capillaires, hépatoprotecteurs et antithrombotiques **(Bessas et al.,2008)**.

Les flavonoïdes sont également présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, assurant ainsi la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet **(Bruneton, 1999)**, retrouvés généralement dans les plantes vasculaires où ils peuvent se localiser dans différentes parties de la plante telle que les racines, tiges, feuilles, fleurs et les fruits **(Laurant-Berthoud, 2013)**.

Un nombre très important des flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune, de ce fait, possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement 2-

phénylchromane. Ils peuvent être regroupés en une douzaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, lequel peut être ouvert et re-cyclisé en un motif furanique (**Bruneton, 1999**).

✓ Les tanins

Le terme tanin provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux (**Hopkins, 2003**).

Ce sont des polyphénols complexes qui représentent une classe très importante (**Aguilera *et al.*, 2008**). Ils ont des propriétés de fusion avec les protéines (**Catier et Roux, 2007**).

Dans le règne végétal, les tannins sont largement répandus et peuvent être trouvés dans divers organes. Ils sont divisés en deux groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Linden et Lorient, 1994**). Encore appelés (tanins galliques et ellagiques) qui diffèrent par leur structure chimique et l'origine biogénique. Cette substance possède en outre des propriétés antiseptiques mais également antibiotiques, astringentes, anti-diarrhéiques, anti-inflammatoires, hémostatiques et vasoconstrictrices (diminution du calibre des vaisseaux sanguins). Le chêne est parmi les plantes contenant du tanin hydrolysable (peut être hydrolysé par hydrolyse chimique acide ou alcaline ou par hydrolyse enzymatique) (**Kunkele et Lobmeyer, 2007**). Les tannins condensés sont très abondants dans certains organes végétaux consommés ou utilisés par l'homme, par exemple de nombreux fruits (pomme, prune, fraise...) ou des boissons fermentées ou non (thé, vin, cidre...) (**Jean-Jacques *et al.*, 2005**)

La majorité des propriétés biologiques des tanins sont liées au pouvoir de former des complexes avec les macromolécules particulièrement avec les protéines (enzymes digestives et autres protéines fongiques ou virales), ils peuvent poser donc des problèmes dans l'industrie agroalimentaire (trouble dans les bières), ou en agriculture (valeur nutritive des fourrages, formation des acides humiques). Sur la voie externe, ils rendent les couches externes de la peau et des muqueuses imperméables protégeant ainsi les couches sous-jacentes ; ils ont un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels également. Les tanins favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlures (**Kunkele et Lobmeyer, 2007**).

La matière première végétale de départ, les traitements technologiques et les conditions de conservation du produit influencent fortement la capacité tannante donc ses propriétés organoleptiques (**Jean-Jacques *et al.*, 2005**).

✓ Les acides phénoliques

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (**Bruneton, 2008**). Ce groupe comporte: les acides benzoïques, les acides cinnamiques et les coumarines (**Charnay et Tourmeau, 2006**).

✓ Les alcools phénoliques

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. Les principales molécules de cette classe sont : tyrosol (4-hydroxyphenyl ethanol) et hydroxytyrosol (3,4-dihydroxyphenyl ethanol) (**Silva et al., 2010; Micol et al., 2005**).

✓ Les lignines

C'est un groupe biologiquement actif de produits naturels formé par l'union de deux phénylpropnoïdes (C6-C3) par couplage oxydatif. Ces composées sont des métabolites secondaires qui représentent un moyen de protection contre les herbivores et les microorganismes pour les plantes qui les synthétisent (**Lonkova, 2011**).

La lignine a un caractère hydrophobe marqué et s'accumule au niveau des parois des cellules du bois ou du sclérenchyme où elle peut être mise en évidence par des colorants (phloroglucinol chlorhydrique, réactif de Maïle...), chacun de ces réactifs révélant des fonctions chimiques bien définies dans la molécule (**Jean-Jacques et al., 2005**).

I.2.3 Les terpènes

Les terpènes présentent un vaste groupe de produits naturels largement répandu dans le règne végétal et animal, renfermant des molécules très volatiles. Ils ont une structure de base non aromatique renfermant du carbone, de l'oxygène ainsi que de l'hydrogène, ils ont aussi un point commun essentiel formés par l'assemblage d'un nombre entier d'unités pentacarbonnées ramifiées dérivées du 2-méthylbutadiène (**Bruneton, 1999**).

Les terpènes sont des hydrocarbonées naturelles utilisées comme des antispasmodiques, anticonvulsivants, règle le battement cardiaque, possèdent également les propriétés anti-stressantes, et anti-oxydantes (**Cherifi et al., 2016; Zakkad, 2016**).

Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) (**Malecky, 2008**).

L'étude des structures, des réactions et des synthèses des terpénoïdes a joué un rôle extrêmement important dans le développement de la chimie organique, de transposition du squelette, de synthèse stéréospécifique, d'analyse conformationnelle, de polymérisation des oléfines, etc. Ceux-ci constituent l'une des bases des industries des parfums, des arômes, des colorants alimentaires. En outre, ils possèdent parfois des propriétés physiologiques puissantes et spécifiques : vitamines, hormones ou phéromones d'invertébrés, substances de croissance des végétaux (**Malecky, 2008**).

I.2.4 Les saponosides

Egalement appelés saponines, qui vient du latin « sapo » signifie savon et « oside » signifie sucre. Ce sont des substances glucosidiques végétales, ayant la particularité de se mousser en présence de l'eau et ce par leur effet tensioactif (diminution de la tension superficielle entre les particules d'eau). Les saponines constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensio-actives, ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes. C'est d'ailleurs sur leur tensioactivité qu'est fondée l'utilisation multiséculaire de certaines drogues qui en referment : la saponaire (*Saponaria officinalis* L.) saponis (le savon), pendant longtemps, constitué dans nos régions un détergent ménager d'usage courant.

La plupart des saponosides possèdent des propriétés hémolytiques et sont toxiques à l'égard des animaux, principalement les poissons, leur propriété hémolytique leur permet d'interagir avec les stérols de la membrane érythrocytaire, cette interaction induit une augmentation de la perméabilité membranaire et un mouvement des ions, le sodium et l'eau entrent, le potassium fuit, la membrane éclate, permettant ainsi la fuite de l'hémoglobine, mais cela n'empêche qu'ils assurent la défense du végétal contre l'attaque microbienne ou fongique (**Bruneton, 1999**).

Partie II : Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I. Objectif

Notre travail expérimental a été réalisé au niveau de laboratoire de Biochimie et de Microbiologie de la faculté SNV/STU de l'Université Abou-BekrBelkaid Tlemcen.

L'objectif de ce travail est de tester *in vitro* l'activité antibactérienne de la plante *Atriplex halimus* récoltée de la wilaya de Nàama vis-à-vis de sept souches bactériennes de référence.

Le choix de cette plante est basé sur son intérêt médical et sur sa fréquence d'emploi par les tradi-thérapeutes, et les personnes utilisant ou vendant les plantes médicinales. Notre plante a été identifiée par Dr. BABA Ali Maitre de conférences classe A au niveau de la faculté SNV/STU.

II. Matériels**II.1 Matériel végétal**

Le matériel végétal utilisé est constitué de la partie aérienne de la plante *Atriplex halimus* récoltée au mois de Février 2023 dans la wilaya de Naama, fraîchement collectée et séchée à l'ombre, à température ambiante et dans un endroit sec à l'abri de l'humidité (Figure 3)



Figure 3: *Atriplex halimus*

II.2 Matériel biologique

Sept souches bactériennes de référence ont été utilisées pour déterminer l'activité antibactérienne de notre extrait. Les souches proviennent du laboratoire Antibiotique Antifongique : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique de la faculté des sciences de la nature et de vie de l'université d'Abou Bekr-Belkaid Tlemcen. Les souches sont représentées dans le tableau 02.

Tableau 2: Type et forme des souches bactériennes testées.

| Souches bactériennes | Type des bactéries | Forme des bactéries |
|--|--------------------|---------------------|
| <i>Esherichiacoli</i> ATCC 8739 | Gram négatif | Bacille |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 | | |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603 | | |
| <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311 | | |
| <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452 | Gram positif | Cocci |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | | |
| <i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876 | | Bacille |

II.3 Equipements et produits utilisés

Tout le matériel, consommable, équipements et produits dont nous avons besoin pour réaliser notre travail sont cités dans le tableau 03 comme suit

Tableau 3: Equipements et produits utilisés

| | |
|-----------------------------|--|
| Verrerie | Eprouvettes, erlenmeyers, béchers, entonnoirs, flacons, fioles, tubes à essai, pipettes Pasteur |
| Autres matériels | Boîtes de Pétri, microplaques 96 puits, tube endorf, papier filtre stérile, anse de platine, écouvillons, disques en papier stériles, bec benzène, micropipettes réglable, disques d'antibiotiques Gentamicine |
| Appareillages | Balance de précision, agitateur magnétique, vortex, pH mètre, evaporator, colorimètre étuve, autoclave, plaque chauffante |
| Milieux de culture utilisés | Gélose Muller Hinton, bouillon nutritif, Gélose nutritif, bouillon Muller Hinton |
| Solvants | Eau distillée, acétone, DMSO, eau physiologique |

III. Préparation de l'extrait d'*Atriplex halimus*

III.1 Préparation de l'extrait eau-acétone

L'extraction se fait selon la méthode décrite par **Hajaji *et al.* (2017)**

- 10 g de la matière végétale sèche est mélangée avec 100 ml de solvant eau-acétone 30 :70 (v/v). Le mélange repose pendant 24 heures à l'obscurité avec une répétition (extraction par macération).
- Filtration de la solution.
- Evaporation du filtrat à l'aide d'un rotavapor
- Séchage à l'étuve à 40°C pendant 24 h.
- Récupération du produit.
- Conserver dans des flacons sombres à + 4 ° C jusqu'à utilisation (Figure 4)



Figure 4: Les différentes étapes de l'extraction (A: Macération, B: Filtration, C: Evaporation, D: l'extrait après séchage dans l'étuve, E : Extrait récupéré).

III.2 Calcul du rendement de l'extrait

Le rendement en extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait brut sec et la masse du matériel végétal broyé.

$$R = (M1/M2) \times 100$$

R : rendement en extrait brut sec exprimé en %.

M1 : masse en grammes de l'extrait brut sec.

M2 : masse en grammes du matériel végétal broyé

III.3 Préparation des dilutions

L'extrait obtenu a été dissout dans le DMSO pour obtenir une solution mère de 200 mg/ml. Des dilutions^{1/2} ont été effectuées pour obtenir des différentes concentrations: 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml et 12.5mg/ml.

IV. Evaluation de l'activité antibactérienne des différentes concentrations de l'extrait

d'*Atriplex halimus*

L'activité antibactérienne de l'extrait hydro acétonique vis-à-vis les souches bactériennes est évaluée par différentes méthodes :

- Méthode de diffusion sur gélose: méthode des disques et méthode des puits.
- Méthode de micro dilution en milieu liquide (Concentration Minimal Inhibitrice « CMI »)
- Méthode de Concentration Minimal Bactéricide (CMB)

Il est à noter que les tests réalisés ont été répétés trois fois.

IV.1 Préparation des milieux de cultures

Les milieux de cultures dont le bouillon Muller Hinton (BMH), la gélose Muller Hinton (GMH), la gélose nutritive (GN) et le Bouillon nutritif (BN) ont été préparés à partir de poudre déshydratées on ajoutant la quantité nécessaire en poudre dans un erlenmeyer contenant de l'eau distillée convenable à la quantité du milieu, puis déposer le tout sur une plaque chauffante jusqu'à ébullition.

Les milieux de cultures ont été coulés dans des boîtes de Pétri stériles ou conservés dans des flacons stériles avant leur emploi.

L'eau physiologique a été aussi préparée.

IV.2 Stérilisation du matériel

Les milieux de cultures, l'eau distillée, l'eau physiologique, le DMSO, les tubes endorphs, les tubes à hémolyse, les disques en papier, les tubes à essai utilisés pour la préparation des solutions bactériennes, les embouts ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes.

IV.3 Préparation des suspensions bactériennes

Les tests antibactériens sont effectués à partir de colonies jeunes en phase de croissance, pour cela les souches ont été revivifiées puis repiquer afin d'avoir des colonies bien isolées.

IV.3.1 Revivification des souches

Des souches bactériennes déjà conservées ont étéensemencées dans des tubes contenant 5ml de bouillon nutritif. Ces derniers sont incubés à une température de 37°C pendant 24h. Cette étape contribue à l'enrichissement et la revivification des souches.

IV.3.2 Repiquage

Les différentes souches ont été repiquées sur des boîtes de Pétri contenant la gélose nutritive par la méthode des stries, pour obtenir des colonies isolées, puis incubées à 37°C pendant 24 heures. Cette étape permet la purification des souches bactériennes.

IV.4 Préparation de l'inoculum

Pour une bonne reproductibilité, une standardisation de l'inoculum des bactéries testées doit être réalisée. La suspension bactérienne est homogénéisée à l'aide d'un vortex et sa turbidité est ajustée à 0,5 Mac Farland, soit une densité optique égale à 0,08 à 0,10 (10^8 UFC/ml) à une longueur d'onde de 580.

La densité de la suspension bactérienne est ajustée en ajoutant de l'eau physiologique si la valeur est supérieure à la limite maximale ou en ajoutant des colonies si elle est inférieure à la limite minimale.

L'opération de standardisation se répète avec toutes les souches bactériennes qu'on a choisit.

IV.5 Application de la méthode de diffusion sur gélose

IV.5.1 Méthode des disques

La gélose Muller-Hinton a été coulé dans les boîtes de Pétri stériles. Les suspensions bactériennes standardisées sont ensemencées par la suite par écouvillonnage. Ensuite, des disques en papier stériles sont déposés sur la gélose déjà ensemencée puis imbibés de 20µl d'extrait eau- acétone d'*Atriplex halimus*.

Dans d'autres boîtes ensemencées à part, un disque d'antibiotique qui est la Gentamicine est déposé avec un disque en papier imbibé de 20µl de DMSO comme témoin négatif.

Les boîtes sont laissées pendant une heure à température ambiante afin de permettre une bonne diffusion de l'extrait avant qu'elles soient incubées à 37°C pendant 24 h.

IV.5.2 Méthode des puits

Après la standardisation de l'inoculum bactérien, l'ensemencement est fait par écouvillonnage sur la surface du milieu Muller- Hinton préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Après 15 mn, des puits ont été perforés à l'aide de pipettes Pasteur. Un volume de 20µl de l'extrait est distribué dans chaque puits.

Les boîtes ont été ensuite laissées à température ambiante pour la pré-diffusion puis incubées à 37°C pendant 24 heures.

IV.6 Application de la méthode de micro dilution en milieu liquide (CMI)

Le bouillon MH est utilisé comme milieu standard pour la micro dilution en plaque, la microplaque à 96 puits permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice de notre extrait. Il est à noter que cette méthode a été utilisée uniquement avec deux souches, qui sont *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus fecalis*. Le bouillon MH a été ensemencé et standardisé.

Pour chaque souche, une ligne de puits a été réservée. Huit puits ont été remplis à l'aide d'une micropipette par 50µl de notre extrait et 50µl de l'inoculum standardisé (10⁶ UFC/ml) dont la première concentration de l'extrait était de 100mg/ml. Le facteur ½ est pris en considération dans les calculs de concentrations des produits à tester.

Deux puits en fin de ligne ont été consacrés pour le témoin positif qui contient du MH inoculé par la souche bactérienne (100µl) et le témoin négatif qui contient 100µl de MH uniquement. Chaque puits reçoit un volume final de 100µl.

La microplaque est couverte et incubée à 37°C pendant 24 h. La lecture se fait à l'œil nu sachant que la CMI est la plus faible concentration d'extrait testé, à laquelle aucun trouble visuel n'est observé. Tous les tests ont été effectués en bouillon et répétés deux fois.

IV.7 Application de la méthode de détermination de la Concentration Minimal

Bactéricide (CMB)

Selon la méthode de **Briand (1986)**, deux boites de Pétri contenant la gélose MH ont été ensemencées en spots par des différentes dilutions de l'extrait à partir de la microplaque inoculée jusqu'au CMI, une boite a été ensemencée avec *Staphylococcus aureus* et l'autre avec *Enterococcus faecalis*. La lecture des résultats se fait après une incubation à 37°C pendant 24h.

Résultats et discussion

I. Rendement de l'extraction

La préparation de l'extrait à partir de la partie aérienne d'*Atriplex Halimus* sous forme de broyat est effectué afin d'augmenter la surface de contact avec le solvant et de faciliter le processus d'extraction, ce qui l'améliore. Les solvants organiques (acétone) sont également connus pour leur capacité à augmenter la perméabilité à l'intérieur de la cellule et à augmenter la vitesse d'extraction, notamment pour les molécules polaires à faible polarité (**Satyajit et al., 2006**).

Après extraction et élimination de toute trace de solvant, le rendement de l'extrait est calculé par la formule déjà citée.

Les résultats obtenus par la technique d'extraction ont montré que l'extrait obtenu est récupéré sous forme de pâte brillante légèrement collante d'une couleur verte (vert bouteille) selon le tableau 04.

Tableau 4: Caractéristiques de l'extrait d'*Atriplex halimus* obtenu.

| Caractéristiques | Aspect | Couleur | Rendement(%) | Solubilité (v /v) |
|---------------------|-----------------|---------|--------------|-------------------|
| Extrait eau/acétone | Brillant pâteux | Verte | 10 | DMSO |

L'extrait eau-acétone dans la présente étude présente un rendement intéressant de 10% **Guettoche (2021)**, a trouvé une valeur de rendement de l'extrait d'éther de pétrole de l'*Atriplex halimus* de l'ordre de 8%, une valeur proche à notre résultat.

En général, le rendement d'extraction dépend de l'espèce de la plante, des conditions environnementales, des parties de la plante utilisées dans l'extraction, de la durée d'extraction et du type du solvant utilisé (**Daoudi et al., 2015**)

II. Etude de l'activité antibactérienne

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antibactérien de l'extrait obtenu d'*Atriplex halimus* par différentes méthodes; la méthode de diffusion sur gélose (méthode des puits et des disques), la détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMI), la concentration minimale bactéricide (CMB).

Plusieurs travaux basés sur l'activité antibactérienne des extraits de la plante *Atriplex halimus*, montrent que cette plante est très efficace contre plusieurs souches bactériennes pathogènes à Gram positif et à Gram négatif (**Ounaissia et al., 2020; Ziane et al.,2020 ;**

Abdel Rahman *et al.*, 2011), cela confirme l'utilité d'exploitation étendue de cette plante en médecine traditionnelle .

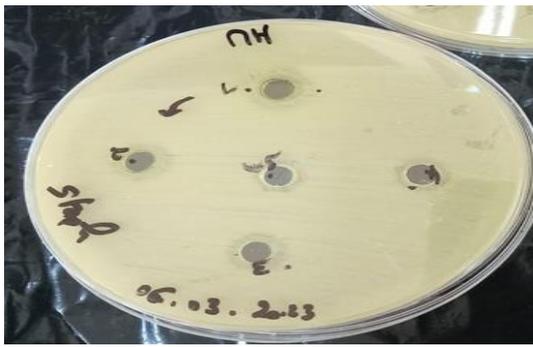
II.1. Méthode des disques

L'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait d'*Atriplex halimus* a été faite par la méthode de diffusion sur disques, mais cette méthode n'a donné aucun résultat, cela est due probablement à la faible diffusion de l'extrait.

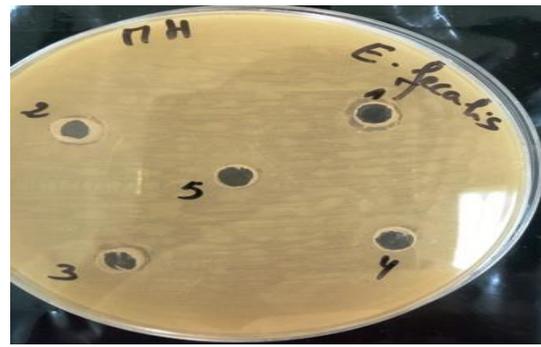
II.2. Méthode des puits

Cette technique de diffusion sur milieu solide est une technique qualitative basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition en mm, qui diffèrent d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. L'extrait obtenu a été testé sur des souches bactériennes de référence.

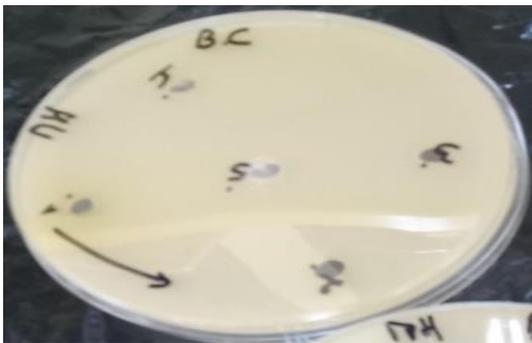
Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait d'*Atriplex halimus* obtenu par cette méthode sont regroupés dans le tableau 05 et la figure 5.



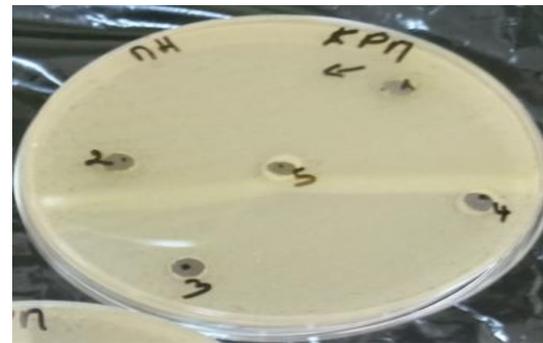
A



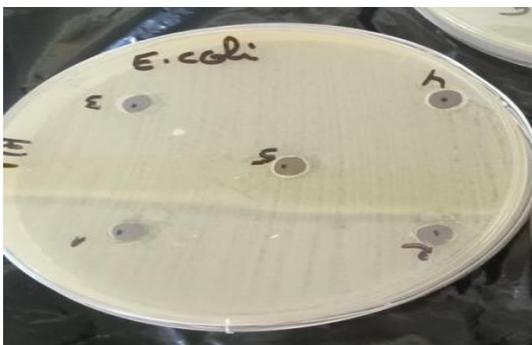
B



C



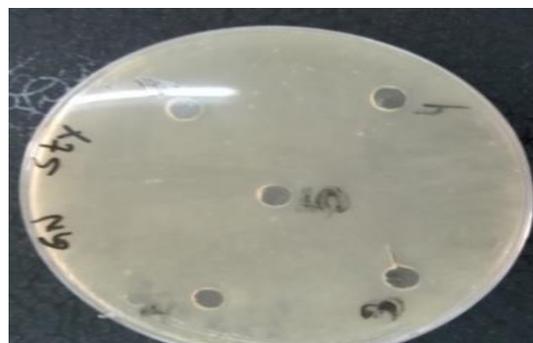
D



E



F



G

Figure 5: Effets inhibiteurs de l'extrait *Atriplex halimus* sur les différentes souches bactériennes (A :*S.aureus* ;B :*E.faecalis* ;C :*B.cereus* ;D :*K.pneumoniae* ;E :*E.coli* .F : *P.aeruginosa* ;G :*S.typhimurium*)

Tableau 5: Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'extrait d'*Atriplex halimus*.

| Souches bactériennes | Concentration (200 mg/ml) | Concentration (100 mg/ml) | Concentration (50 mg/ml) | Concentration (25mg/ml) | Concentration (12,5 mg/ml) |
|---|---------------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 10 | 10 | 9 | 8 | 8 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452 | 8 | 8 | / | / | / |

Les résultats montrent que l'extrait eau-acétone a une activité antibactérienne seulement vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* avec des zones d'inhibition de 10 et 08 mm respectivement pour la concentration 200mg/ml, cependant l'extrait eau-acétone ne présente aucun effet sur les autres souches bactériennes. La partie aérienne de l'*Atriplex halimus* est douée des propriétés antibactériennes vis-à-vis des bactéries à Gram positif.

En général, les bactéries à Gram positif sont considérées comme étant plus sensibles aux extraits que les bactéries à Gram négatif en raison de la présence de lipopolysaccharides hydrophobes dans la membrane externe de ces dernières qui peuvent les protéger contre différents agents.

La zone d'inhibition de la souche *Staphylococcus aureus* est 10 mm pour les concentrations 200mg/ml et 100mg/ml, 9 mm pour la concentration 50mg/ml et 8 mm pour les concentrations 25mg/ml et 12,5mg/ml, enfin la zone d'inhibition de *Enterococcus faecalis* est 8 mm pour la concentration 200mg/ml et 100mg/ml, cependant aucune zone d'inhibition n'a été observée pour les autres concentrations.

Il apparaît que la souche *Staphylococcus aureus* présente la plus grande zone d'inhibition 10 mm par rapport aux autres souches.

Toutes les souches bactériennes n'ont présentées aucune sensibilité vis-à-vis du DMSO brut (témoin négatif), par contre elles sont toutes sensibles à l'antibiotique utilisé qui est la Gentamicine (témoin positif) avec différentes zones d'inhibition (tableau 06 et figure 6).

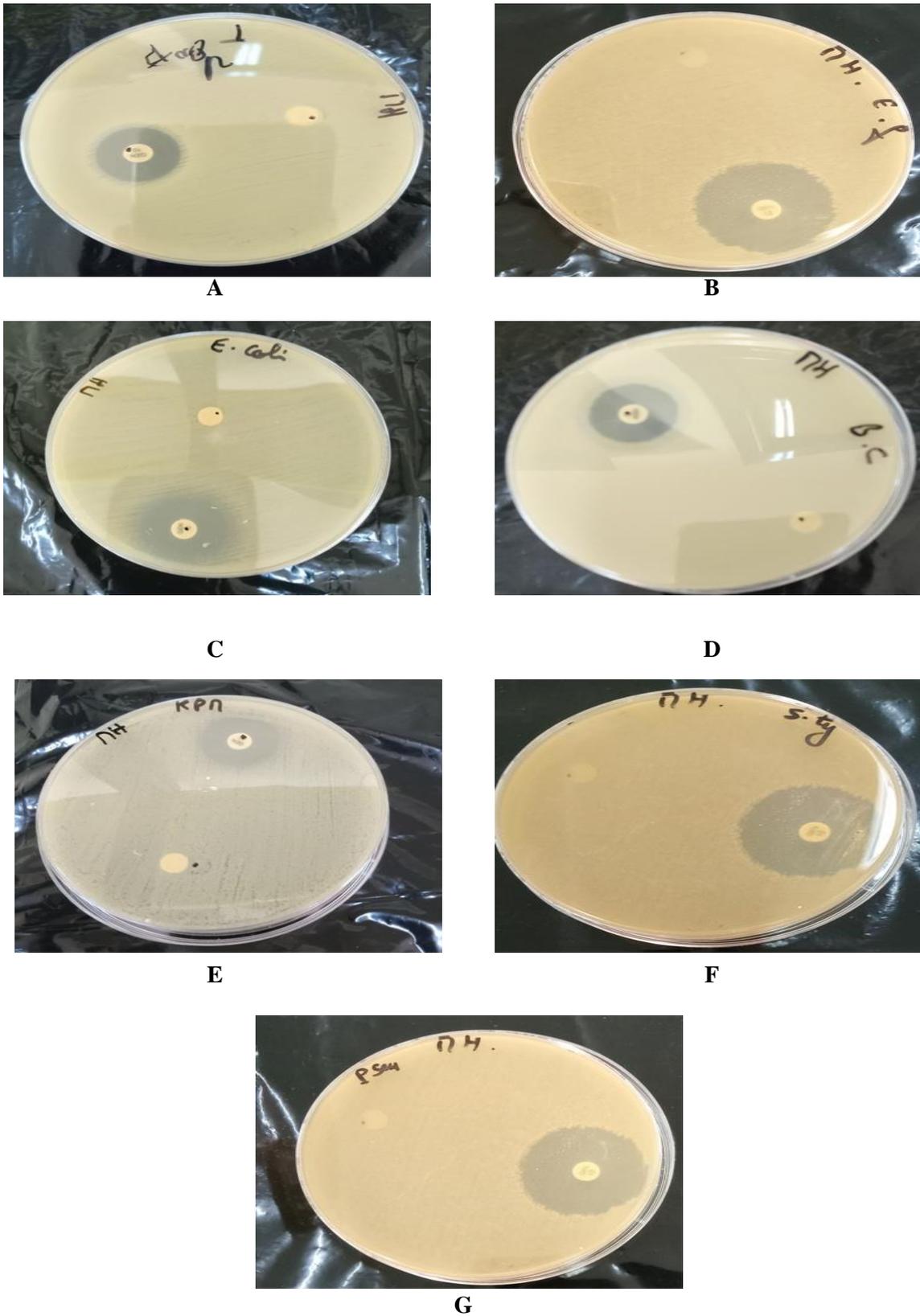


Figure 6: Les zones d'inhibition des souches bactériennes (A : *S.aureus* ;B : *E.faecalis* ;C *E.coli* ;D :*B.cereus* ;E :*K.pneumoniae* ;F :*S.typhimurium* ;G :*P.aeruginosa*) vis-à-vis du DMSO et la Gentamicine.

Tableau 6: Diamètre des zones d'inhibitions de la Gentamicine et DMSO pour les Sept souches bactériennes

| Souches | Diamètres des zones DMSO | Diamètres des zones du Gentamicine |
|-------------------------------|--------------------------|------------------------------------|
| <i>Bacillus cereus</i> | / | 20 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | / | 18 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | / | 25 |
| <i>Escherichia coli</i> | / | 25 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | / | 20 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | / | 22 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | / | 18 |

Il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la bibliographie, car il y'a une diversité de résultats dans d'autres travaux similaires, qui ont utilisé presque les mêmes souches mais avec d'autres solvants. Pour cela, les résultats de cette étude ont été comparés à ceux obtenus pour d'autres solvants (méthanolique et éthanolique).

Charef et Rezgui (2020), ont trouvé des résultats similaires à nos résultats pour *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*, avec des diamètres des zones d'inhibition de 13.5 et 9mm respectivement, proches des diamètres trouvés dans nos résultats,

Tarek et al. (2011) ont testé plusieurs souches dont *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* font partie, aucune souche n'a donné une activité antibactérienne vis-à-vis des extraits méthanolique et éthanolique utilisés.

Dans un autre travail, **Guettoche (2021)** a montré la présence d'activité antibactérienne pour toutes les souches testées avec différents solvants à différentes concentrations, cette étude a montré que les souches à Gram positif sont plus sensibles que les souches à Gram négatif qui contiennent des lipopolysaccharides hydrophobes dans la membrane externe qui peuvent les protéger contre différents agents.

Selon **Djahra et al. (2012)**, les résultats obtenus indiquent l'existence de composés antibactériens dans les différents extraits, et la différence d'activité antibactérienne entre ces derniers, issue de la plante *Atriplex halimus* peut s'expliquer par la nature des molécules contenues dans chaque extrait. En effet il existe des différences de solubilisations des composés phénoliques dans les solvants polaires ou apolaires au cours de l'extraction, cela

est confirmé par **Ounaissia et al. (2020)** qui ont expliqué que les caractéristiques des extraits dépendent du type du solvant utilisé dans l'extraction.

Toty et al. (2012) ont expliqué également que les phytomolécules antibactériennes sont réparties dans les solvants en fonction de leur polarité.

Il existe d'autres facteurs qui influencent l'activité antibactérienne, dont la méthode d'extraction qui joue un rôle très important dans cela (**Markham, 1982**), les propriétés génétiques de l'espèce étudiée (**Bruneton, 1999**), l'origine géographique (**Narayana et al., 2001**), ainsi que les conditions de récolte du matériel végétal (**Lin et Weng, 2006**).

II.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMI est un critère très important, c'est la concentration la plus basse de l'extrait pour donner une inhibition complète des souches testées après 24 heures d'incubation. Cette méthode a été décrite par **Rahman et al. (2013)**.

D'après les résultats obtenus par la technique de diffusion des puits sur gélose, nous avons sélectionné les souches bactériennes *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* qui ont montré une sensibilité vis à vis de l'extrait hydro acétonique pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) (figure 7), et la concentration minimale bactéricide (CMB) (figure 8).

La lecture a été faite grâce aux dépôts de croissance observés dans les puits qui nous ont permis de déterminer la CMI. Les résultats sont regroupés dans le tableau 7.

Tableau 7: Concentration minimale inhibitrice (CMI) (mg/ml) de l'extrait d'*Atriplex halimus* vis-à-vis des souches bactériennes.

| Souches bactériennes | CMI (mg/ml) |
|---|-------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 12.5 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452 | 25 |

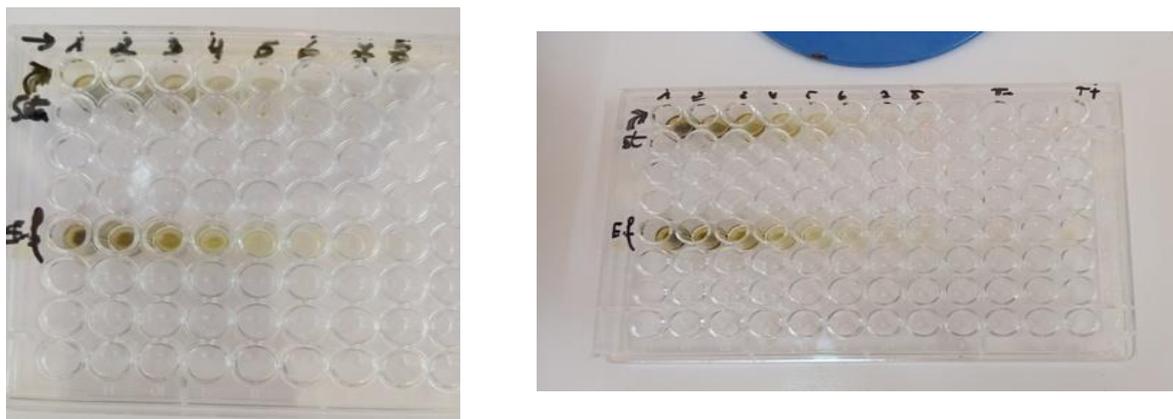


Figure 7: La concentration minimale inhibitrice de l'extrait hydro acétonique de la partie aérienne d'*Atriplex halimus* vis-à-vis des souches *S.aureus* et *E.faecalis*

En raison du manque d'études sur l'activité antibactérienne de l'extrait eau-acétone par cette méthode, nos résultats ont été comparés à ceux obtenus par d'autres extraits.

Selon le travail de **Charef et Rezgui (2020)**, la CMI des souches *S.aureus* et *E.faecalis* se situe dans un intervalle de concentrations un peu plus élevé que notre résultat avec deux solvants différents (méthanol et acétate d'éthyle).

Dans les travaux de **Chaouche et al. (2021)**, l'extrait méthanolique d'*Atriplex halimus* de la région d'El Oued possède une activité antibactérienne contre la souche *Staphylococcus aureus* (15 mm) avec une valeur de CMI 2.5 mg/ml.

Abdel Rahman et al. (2011) ont obtenu des résultats similaires pour *Staphylococcus aureus* avec les extraits méthanoliques et l'hexanique alors que **Ounaissia et al. (2020)** ont obtenu des résultats similaires seulement pour *Enterococcus faecalis* pour l'extrait méthanolique.

Messaoudi et al. (2020), indiquent que de nombreux facteurs pourraient influencer l'activité antibactérienne notamment la composition chimique d'une plante, la nature du solvant et le mode d'extraction.

D'après **Lewis et Ausubel (2006)**, l'activité inhibitrice de la croissance bactérienne d'une molécule bioactive est déterminée par des valeurs de CMI qui provoquent l'inhibition de la prolifération bactériennes. L'extrait aqueux exerce un effet inhibiteur avec une concentration de 100 à 200 $\mu\text{l/ml}$, alors que l'extrait méthanolique est actif avec des concentrations plus faibles de l'ordre de 25 à 100 $\mu\text{l/ml}$.

La figure ci dessous présente les résultats de l'évaluation de la concentration minimale bactéricide(CMB).

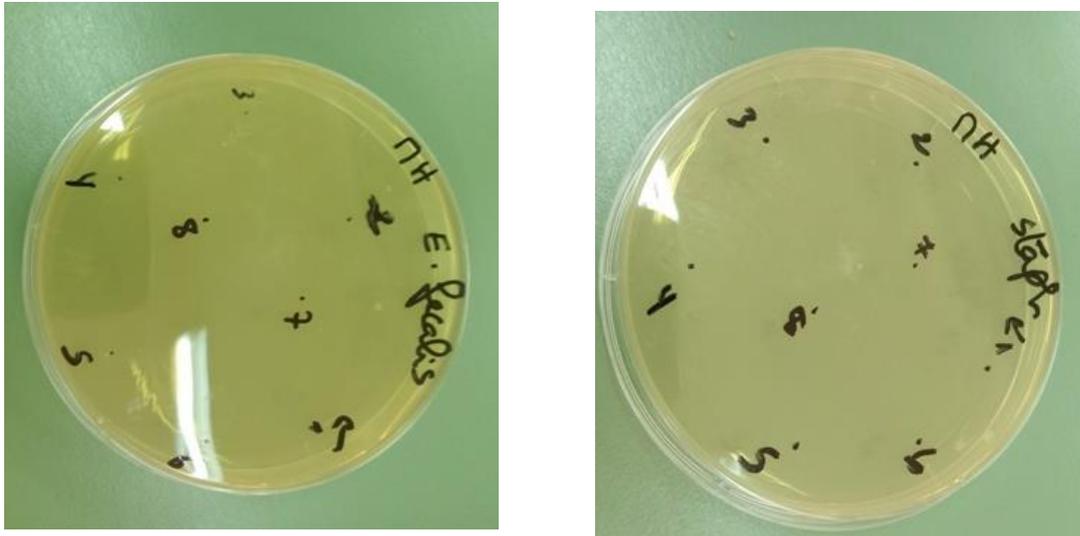


Figure 8 : Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

Après 24h d'incubation, aucune croissance bactérienne dans les deux boîtes ensemencées n'a été observée (figure 8), selon les résultats obtenus dans cette étude les valeurs de CMI et les CMB sont identiques pour les deux souches bactériennes, notre extrait exerce un effet bactéricide, un résultat assez proche à celle de **Zine et al. (2012)** sur l'*Atriplex semibaccata* qui présente des valeurs identiques de CMI et CMB pour *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*.

Cette étude a été comparée avec une étude de **Obame Engonga (2009)** réalisée par différentes plantes, différents extraits et différentes huiles essentiels, mais avec les mêmes souches bactériennes que nous avons étudié.

Les CMI et les CMB varient d'une bactérie à l'autre et d'un extrait à un autre. L'ensemble des résultats suivants concernent *Distemonanthus benthamianus*, un arbre appelé commercialement au Gabon : **movingui**. L'huile essentielle présente une activité bactéricide sur *Enterococcus faecalis*, tandis que l'extrait aqueux n'a pas cet effet contre les autres souches bactériennes. L'extrait chloroformique a une action bactéricide sur *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus*, ce qui est le cas pour l'extrait méthanolique.

L'activité bactéricide est due à la composition chimique des extraits riches en composés phénoliques qui sont à l'origine des propriétés antibactériennes (**Obame Engonga, 2009**).

Il ressort de cette étude que la partie aérienne de l'*Atriplex halimus* est efficace et les composés agissent différemment sur les souches bactériennes. De ce fait, une étude plus approfondie sera nécessaire sur la purification du principe actif de cet extrait.

Conclusion

Les plantes médicinales possèdent des propriétés biologiques très importantes qui ont de nombreuses applications en médecine, pharmacies, cosmétique et agriculture.

La médecine moderne a pour objectif de développer les médicaments à base des plantes médicinales traditionnelle.

Dans cette étude, nous avons étudié les propriétés antibactériennes de la plante d'*Atriplex halimus*, largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter différentes pathologies. Cette plante présente un bon potentiel en tant que source d'agents antibactériens naturels pour le traitement des infections bactériennes.

Ce présent travail a pour but d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait eau-acétone de la partie aérienne de l'*Atriplex halimus* vis à vis de sept souches bactériennes par la méthode de diffusion sur gélose (des disques et des puits) et par la méthode de microdilution pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) ainsi que la concentration minimale bactéricide (CMB).

D'après notre étude, l'extrait hydro acétonique obtenu a donné un bon rendement de 10%.

L'évaluation de l'activité antibactérienne a révélé que seulement *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* ont présenté une sensibilité vis-à-vis cet extrait, avec des zones d'inhibition de 10 et 8 mm respectivement à une concentration de 200mg/ml.

Les CMI obtenus contre *S aureus* et *E faecalis* sont de l'ordre de 12.5mg/ml et 25mg/ml respectivement, les résultats de CMB ont montré que notre extrait présente une activité bactéricide pour ces mêmes souches testées.

L'*Atriplex halimus* est une source intéressante de composés bioactifs naturels comportant des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières, qui sont responsables de ses activités antibactériennes, cette plante peut offrir des perspectives intéressantes pour de futures recherches. De ce fait, il est souhaitable de préserver et valoriser la richesse de la flore Algérienne en plantes médicinales pour le développement de nouveaux principes actifs à intérêt thérapeutique.

En termes de perspectives, Cette étude nécessite une poursuite par de nouvelles approches à savoir :

- ✓ L'identification exacte des composés actifs de la plante *Atriplex halimus*
- ✓ L'identification des différentes activités biologiques de cette plante.
- ✓ Faire des études sur la toxicité de la plante.
- ✓ Réaliser l'extraction avec d'autres solvants de polarité différente.
- ✓ L'application *in vivo* des activités biologiques

Références bibliographiques

- Abbade A., El Hadrami A., El Hadrami I et Ben chaabane A. (2004). Seasonal chemical composition of leaves of three *Atriplex halimus* (Chenopodiaceae) natural populations grown in a common garden. *Pakistan.Journal of Biological Sciences*, 7(2), pp. 203-208.
- Abdel Rahman S.M., Abd-Ellatif S.A., Deraz S.F., Khalil A.A. (2011). Antibacterial activity of some wild medicinal plants collected from western Mediterranean coast, Egypt: Natural alternatives for infectious disease treatment. *AfricanJournal of Biotechnolog.* 10(52), 10733-10743.
- Abdelkader Beloued. *Plantes médicinales d'Algérie*. 5 ème édition, 1998
- Ackman, R. G. (1989). Fatty acids. *Marine biogenic lipids, fats and oils*, 1, 103-137.
- Adenot, I. (2009). Dossier pharmaceutique. De l'idée à l'expérimentation et à la généralisation. *Médecine*, 5(3), 126–139.
- Aguilar, C. N., Aguilera-Carbo, A., Robledo, A., Ventura, J., Belmares,R., Martinez, D., ... & Contreras, J. (2008). Production of antioxidant nutraceuticals by solid-state cultures of pomegranate (*Punica granatum*) peel and creosote bush (*Larrea tridentata*) leaves. *Food Technology and Biotechnology*, 46(2), 218.
- Ali, M. B., Hahn, E. J., & Paek, K. Y. (2007). Methyl jasmonate and salicylic acid induced
- Ali-Delille, L. (2013). *Les plantes médicinales d'Algérie*. Berti éditions.
- Alilou, H. (2012). Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du Sud du Maroc: *Asteriscus graveolens* subsp. *odorus* (Schousb.) Greuter et *Asteriscus imbricatus* (Cav.) DC.
- AL-TURKIS T.A., OMER S., GHAFoor A. (2000) : "A synopsis of the genus *Atriplex* L. (Chenopodiaceae) in Saudi Arabia", *Feddes Repert*, 111, 261-293.
- AMENAH G-F., 2006 - *Medecinal plants: tradition of yesterday and drugs of Tomorrow* *Molecular Aspects of medicine*, 27:1-93.
- Baba aissa F. (2018). *Guide de botanique médicale de la flore méditerranéenne et nord africaine*. Alger: Hibr éditions.19-228p.
- Balasundram N., Sundram K et Samman S., (2006). Phenolic compounds in plants and agri industrial by- products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. 99, 191–203.
- Belkhouidja.M and Y. Bidai., (2007)" Analyse de proline pour l'étude de la résistance d'une halophyte *Atriplex halimus* L, a la salinité", publication du réseau tesla botanique. Vol 1, pp 0-0.

- Bellakhdar J. (1997). Médecine arabe ancienne et savoirs populaires la pharmacopée marocaine traditionnelle. IBS Presse. 340-341p.
- Bellakhdar.J., (2006)"Plantes médicinales au Maghreb et soins de base (Précis de phytothérapie moderne)", Editions Le Fennec, Casablanca (Maroc)".9 Vol 1, pp.385.
- Benhammou, N., AtikBekkara, F., Kadifkova Panovska, T., (2009 ; 2014). Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. C. R. Chimie. 12, 1259–1266.
- Benzeggouta, N. (2014). Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de Plantes Médicinales Seules et Combinées (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat en pharmacochimie, Université de Constantine. p 118)
- Berri R. (2009). Contribution a la détermination de la biomasse consommable d'une halophyte : *Atriplex*, pp.21.
- Bertrand, B. (2010). Les secrets de l'Ortie.- 7ème édition. Editions de Terran (Collection Le Compagnon Végétal; N : 01), 128.
- Bessas, A., Benmoussa, L., et Kerarma, M. (2008). Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Diplôme d'Ingénieur d'Etat En Biologie, Faculté Des Sciences, Université Djillah Liabes, Sidi Bel Abbes, Algérie, 81.
- Boddupalli, S., & Kishore, G. M. (2003). Expression of a Streptomyces 3-hydroxysteroid oxidase gene in oilseeds for converting phytosterols to phytostanols. *Phytochemistry*, 62(1), 39-46.
- Bruneton J. (1999) .Pharmacognosie - Phytochimie, Plantes médicinales, Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales, 1120 p.
- Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4^e éd.). Tec & Doc/Lavoisier, Paris, 841-842.
- Bruneton, J. (2008). Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. P : 198-260.
- Bruneton, J., (1993). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2ème Ed. Lavoisier, Paris.
- Bylka, W., (2004). A new acylated flavonol diglycoside from *Atriplex littoralis*. *Acta Physiol Plant*. 26(4) 393-398.
- Bylka, W., Stobiecki, M., Frahski, R., (2001). Sulphated flavonoid glycosides from leaves of *Atriplex hortensis*. *Acta Physiol. Plant*. 23(3), 285-290.
- Catier.O.,Roux.D.(2007).Botanique Pharmacognosie Phytothérapie,3^{ème} édition,Wolters Kluwer. p: 7

- Chabrier, J. (2010).Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Nancy: Université Henri Poincaré.1-165p
- Chaouche MC, Haddouchi F, Abbou F, Aissaoui M, Boudjemai O,Ghelai I ,Senhadji S .(2021)."Phytochemical screening and evaluation of the antioxidant and antibacterial activity of *Atriplex halimus* from two regions Algeria (El Oued and Tlemcen)." GABJ 5.2: 59-67
- CHAREF.N et REZGUI.I. (2019-2020).Thème Evaluation del'activité antioxydante, antidiabétique et antibactérienne des extraits de la plante *Atriplex halimus*. Mémoire de Master. Université de Biskra .
- Charnay, P., Tourmeau, J .(2006).Le Petit Futé Guide pratique de la Dégustation, Éditeur Nouvelles Editions de l'Université. P : 203.
- Chew, M. H., Xu, G. G., Ho, P. W., & Lee, C. W. (2009). A propos d'un cas de syndrome compartimental glutéal après traitement chirurgical d'un anévrisme de l'aorte abdominale. In Annales de Chirurgie Vasculaire (Vol. 23, No. 4, pp. 579-e17). Elsevier Masson
- Chira, K., Such, J., Saucier, C., Teissèdre, L. (2008). Les polyphénols du raisin. Ed : Springer. 6, P: 75-82
- Daoudi A., Sabiri M., M Bammou., Zair T., Ibjibjen J., Nassiri L. (2015). Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica* : *Urticaurens* L., *Urticamembranacea* Poiret et *Urticapilulifera* L. Journal of Applied Biosciences (87) : 8094- 8104.
- De J. Valent. (2001)Phytothérapie. 6é édition.
- Delille. (2007).les plantes médicinales d'algerie. alger : Berti.122p
- Devoyer, J. (2012). Stéphane Korsia-Meffre, rédacteur et coordinateur du Guide des plantes qui soignent (éd. Vidal). Publié Le, 28, 2012
- Djahra.A.B, Bordjiba.O et Benkherara.S., (2012)" Activité antibacterienne de Flavonoides d'une plante médicinal Spontanée *Marrubium Valgare* L de la région d'ELTAREF (Nord-Est Algérien)", Rev Sci Technol, Synthèse. Vol 24, pp 29-37..
- Druzyńska, B., Stepniewska, A. et Wolosiak, R.(2007). The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria. 6, P: 27-36
- El Shatnawi M.D.K.J et Turuk M.(2002). Dry matter accumulation and chemical content of saltbush (*Atriplex halimus*) grown in Mediterranean desert shrublands. New Zealand Journal of Agricultural Research, 45(3)., pp. 139-144.

- Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L., & Curini, M. (2007). Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*, 68(7), 939-953.
- Erdman J., Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly.,Hollman J. P., L –Keen C., El Abd Rahman, H.H., Mohamed, M.I., Gehad, A.E.A., Awadallah, I.M., (2006). Ameliorating the Antinutritional factors effect in *Atriplex halimus* on sheep and goats by ensiling or polyethylene glycol supplementation. *Int. J. Agr Biol.* 8(6), 766–769
- F Zakkad., (2016) "Etude phytochimique et evaluation de quelques propriétés biologiques de trois espèces de l'Euphorbia" . thèse de doctorat. , Université Badji Mokhtar Annaba ,pp 21-35.
- Fleurentin, J., & Hayon, J. C. (2016). Du bon usage des plantes qui soignent. Edition Ouest-France, 370 : 358.
- Franclet A. et Le-Houérou H.N., (1971). Les *Atriplex* en Tunisie et en Afrique du Nord. Doct. F.A.O. Rome. p 249 et p 189.
- Fransworth N., Akerele O., Binget A.S., Soejarto D.D et Guoz., (1986) - Place des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé . 64(2):159-164.
- Gourri.M, Zidane.L and Douira.A, (2014) "la phytothérapie et les infections urinaires (la phelonnéphrite et la cystite) au Sahara Marocaine (Tan-Tan)", journal of animal et plant sciences. Vol 20(3), pp3171-3193.
- Guettoche. S., (2021). Etude phytochimique d'*Atriplex halimus* et la détermination de son activité biologique (Région Ouargla Algérie) (Doctoral dissertation, Université Kasdi Merbah Ouargla).
- Hadjadj.S ; Bayoussef.Z ; A. Ould Elhadj-Khelil.A ; Beggat.H ; Bouhafes.Z ; Boukaka.Y ; Khaldi.Z ; Mimouni.S ; Sayah.F and Tey.M., (2015) "Ethabotanical study and phytochemical screening of six medical plants Used in traditional medicine in the Northeastern Sahara of Algéria (area of Ouargla)", *J.Med.Plants Res ..* Vol 8(41) , pp 1049-1059.
- HadjSalem.J,(2009)" Extraction, identification, caractérisation des activités biologique des Flavonoides de *Nitraria Retusa* et Synthèse de dérivé de ces molécules par voie enzymatique thèse de doctorat., Institut National Polytechnique de Lorraine Français , pp 19-23..
- Hajaji, S., Sifaoui, I., López-Arencibia, A., Reyes-Batlle, M., Valladares, B., Pinero, J. E., ... & Akkari, H. (2017). Amoebicidal activity of α -bisabolol, the main sesquiterpene in chamomile (*Matricaria recutita* L.) essential oil against the trophozoite stage of *Acanthamoeba castellanii* Neff. *Acta Parasitologica*, 62, 290-295.

- He, Z., Xia, W. et Chen, J. (2008). Isolation and structure elucidation of phénolics compounds in Chinese olive (*Cnarium album* L.) fruit. *European Food Research and Technology*. 226, P: 1191-1196
- Hopkins, W. G. (2003). *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur.
- Hostettmann, K., & Marston, A. (1995). *Chemistry and pharmacology of natural products* (Vol. 548, pp. 326-327). Cambridge, UK: Cambridge University press.
- Hostettmann, K., Marston A. (1995). *Saponins*. Cambridge : Cambridge University Press.P:564.
- J .HadjSalem., (2009)" Extraction, identification, caractérisation des activités biologique des Flavonoïdes de *Nitraria Retusa* et Synthèse de dérivé de ces molécules par voie enzymatique thèse de doctorat., Institut National Polytechnique de Lorraine Français ,pp 19-23.
- Jean-Jacques. M, Fleuriet. A, Jay-Allemand. C.(2005). *Les composés phénolique des végétaux un exemple de métabolites secondaire d'importance économique*, presse polytechnique et universitaire romandes , Italie .
- K .Cherifi, A .Haddioui and H .Mohamed Boufous., (2016)" growth and proline content in NaCl stressed plants of annual medic species international of Advenced", *Research in Biological Science* . Vol 3(9), pp 82-90.
- Kachout, SS, et al., (2016) « Effet du poids et de la salinité des graines sur la germination de l'orache de jardin (*Atriplex hortensis* L). » *Journal académique de la recherche agricole* 4.7: 404-410
- Kunkele, U., et Lobmeyer, T. R. (2007). *Plantes médicinales, Identification, Récolte, Propriétés et emplois*. Edition Parragon. 319p.
- Laouedj M.(2017). *Livre des plantes médicinales du Sahara (descriptions, propriétés, posologies, contre-indications)*. Ecrivain chez l'édition edilivre Paris- France., pp.121
- Laurant-Berthoud, C. (2013). *Tisanes: guide pratique pour toute la famille*. Éditions Jouvence.
- Lazli, A., Beldi, M., Ghouri, L., & Nouri, N. E. H. (2019). Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous (Parc National d'El Kala,-Nord-est algérien). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*.
- Le Houerou H.N., (1992).The role of saltbushes (*Atriplex spp.*) in arid land rehabilitation in the Mediterranean Bassin :a review *Agroforestry systemes* ,18 :2.pp 107-148.
- Lei, Z. H., Jin, Z. X., Ma, Y. L., Tai, B. S., Kong, Q., Yahara, S., & Nohara, T. (1998). Cardiac glycosides from *Erysimum cheiranthoides*. *Phytochemistry*, 49(6), 1801-1803.
- Lei, Z. H., Yahara, S., Nohara, T., Shan, T. B., & Xiong, J. Z. (1996). Cardenolides from *Erysimum cheiranthoides*. *Phytochemistry*, 41(4), 1187-1189.

- Lewis K et Ausubel F.M.(2006). Prospects for plant-derived antibacterials. *Journal of Nature Biotechnology*. 24(12)., pp. 1504-1507
- Lin, J.K., Weng, M.S. (2006): Flavonoids as nutraceuticals, In Grote wold E (Ed) *The science of flavonoids*. Springer Edition, New York 213–38.
- Linden et Lorient, D. (1994). Pigments et aromes .In : *Biochimie agro-industrielle valorisation alimentaire de la production agricole*. Ed : Masson. P: 338-340.
- Lonkova, I. (2011). Anticancer lignans-from discovery to biotechnology. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 11(10), 843-856.
- Maalem, S.,(2002). Etude écophysiological de trois espèces halophytes du genre *Atriplex* (*A.canescens*, *A.halimus* et *A. nummularia*) soumises à l'enrichissement phosphaté. Thèse de Magistère en physiologie végétale et applications biotechnologiques. Université Baji Mokhtar, Annaba, Algérie,76p.
- Malecky Mostafa.(2008). The metabolism of terpenoides in caprins. *Life Sciences [q-bio]*. Agro Paris Tech.
- Markham, K.R. (1982): *Techniques of flavonoid identification*. Academic Press, London, 133 p.
- Marouf .A ; Raynaud .J.(2007). *La botanique de A à Z : 1662 définitions* .352 pages.
- Martin, S., Andriantsitohaina, R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. In *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* (Vol. 51, No. 6, pp. 304-315). Elsevier Masson

- McKell C.M. (1994). Salinity in *Atriplex* species: fodder shrubs of arids lands. In: *Handbook of plant and crop physiology*. Ed. Pessarakli M. and Marcel Dekker.
- Medjekal S. H., Bousseboua S. (2016). Seasonal variation of the nutritive value of fourwing saltbush (*Atriplex canescens*). *Options méditerranéennes*: 569-573
- Mergham, R. (2009).*Eléments de biochimie vegetale*,Bahaeddine, Editions,Algérie .P :85
- Mertz W., Rosinski E.E., Gordon W.A., Harrison W.W., Shani J., Sulman F.G. (1973). In vitro potentiating of insulin by ash from Saltbush (*Atriplex halimus*). *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 206(1), 121-182.
- Messaoudi M., Benreguieg M., Merah M., Messaoudi Z. A. (2020). « Phytochemical screening of Algerian medicinal plants and their antimicrobial effects. » MYCOPATH 16.2

- Michel-Briand Y. (1986). Mécanismes moléculaires de l'action des antibiotiques. Collections de Biologie moléculaire. Edition Masson. 370 p.
- Micol, V., Caturia, N., Perez-Fons, L., Mas, V., Perez, L. et Estepa, A. (2005). The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia Rhadovirus (VHSV). *Antiviral Research*. 66, P : 129-136
- Mirsky et Nitsa. (2001). Naturally extracted and synthetic hypoglycemic or hypolipidémie compositions. Application N°. US 09/842971. [http:// www.freepatentsonline.com](http://www.freepatentsonline.com).
- Mompon B., Lemaire P., Mengal et M. Surbled. (1998). Extraction des polyphénols : Du laboratoire à la production industrielle. *Polyphenols*. Ed. INRA, Paris. 289p.
- Moreau B. (2003). Maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie,
- Narayana, K.R., Reddy, M.S., Chaluvadi, M.R., et al. (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian J Pharmacol* 33:2– 16
- Obame Engonga. L.C. (2009). Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines. Thèse de doctorat Université de Ouagadougou,.
- Ortiz-Dorda J., Martinez-Mora C., Correal E., Simoon B et Cenis J.L. (2005). Genetic structure of *Atriplex halimus* populations in the Mediterranean Basin. *Annals of Botany* 95(5), pp. 827–834.
- Osbourn, A. (1996). Saponins and plant defence—a soap story. *Trends in plant science*, 1(1), 4-9.
- Ouldkadour.A. (2019). " Etude de l'effet antifongique des extraits bpolyphénolique de l'*Atriplex halimus* L., sur la croissance de certains champignons dermatophyte". Thèse de doctorat. , université Abdlhamid Ibn Badis de Mostaganem, pp20-23
- Ounaissia K., Bennadja S., Aliane L., Djahoudi A. (2020). Phytochemical screening and antibacterial activity of methanolic extracts of the aerial parts of *Atriplex halimus* L., from biskra (algeria). *International journal of agricultural and natural sciences*, 13(1), 26-33.
- Pouget M., (1980). Les relations sol-Végétations dans les Steppes sud-Algéroises Travaux et document de L'O.R.S.T.O.M. N0. 116 p.555.Paris.

- Quezel, P., Santa, S., (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I.Ed. Centre national de la recherche scientifique. Pp, 283, 286, 287.
- Rahman M. M., Sultana T., Ali Y.M., Al-Reza S. M., Rahman A.(2013). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and various extracts from *Cassia sophera* L. against *Bacillus sp.* From soil. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S2132-S2137
- Rédaction, P.(2007) .Revue Prescrire. Bien utiliser les plantes en situations de soins, numéro spécial , T. 27, n°288
- Richter, G. (1993). Composés phénoliques in *Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie*. Ed Presse polytechnique et universitaire romande. p: 317-339.
- Ruiz, J. M., Rivero, R. M., Lopez-Cantarero, I., Romero, L., (2003). "Role of Ca²⁺ in the metabolism of phenolic compounds in tobacco leaves (*Nicotiana tabacum* L.)". *Plant Growth Regulation*. 41(2): 173-177
- Said O., Khalil K., Fulder S. et Azaizeh H., (2000). Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region. *Journal of Ethnopharmacology*. 83, 251-265
- Satyajit D., Zahid L., Alexander I. (2006). *Natural Products Isolation*. Humana Press Inc.999 Riverview Drive, Suite 208,Totowa, New Jersey 07512, 518 P.
- Shani J., Ahronson Z., Sulman F.G., Mertz W., Frenkel G., Kraicer P.F., (1972). Insulin potentiating effect of saltbush (*Atriplex halimus*) ashes. *Journal of Medical Sciences*, 8 (6), 757-758
- Silva S., Gomes L., Leitao F., Bronse M., Caelho A.V. et Boas V. (2010). Secoiridoids in olive seed: characterization of nüzhenide and 11-methyl oleosides by liquid chromatography with diode array and mass spectrometry. *Grassasy Aceittes*. 61(02) P: 157-164.
- Stanley.L. Welsh; Clifford.W. Crompton & Steven.E. Clemantsµ, (2003). *Chénopodiaceae*. *Flora of China* 5: 351-414.
- TALAMALI A., BAJJI M., LE THOMAS A., KINET j.M., DUTUIT P. (2003) : “ Flower architecture and sex determination: how does *Atriplex halimus* play with floral morphogenesis and sex genes?”, *New Phytol.*, 157, 105-113.
- Tarek,A.Elbashit., Abdelraouf A., Elmanama A .,Masad A., (2011), *Functional plant science and biotechnology*, Global Science Books.
- Toty,N.A .Guessennd, Bahi.C ; Kara.M ; Otokore.A ; et Dosso.M., (2012)"Evaluation *in-vitro* de l'activité Antibacterienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de Harungana

Madagascariensis sur la croissance de souches multi-résistantes", Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège. Vol 82, pp 12-21..

- Venkatramesh, M., Karunanandaa, B., Sun, B., Gunter, C. A.,(2003).Review potential uses and benefits of phytosterols in diet.
- Vermeersch, M., Foubert, K., Luz, R. I. D., Puyvelde, L. V., Pieters, L., Cos, P., & Maes, L. (2009). Selective antileishmania activity of 13, 28-epoxy-oleanane and related triterpene saponins from the plant families Myrsinaceae, Primulaceae, Aceraceae and Icacinaceae. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 23(10), 1404-1410.
- Vincken, J. P., Heng, L., de Groot, A., & Gruppen, H. (2007). Saponins,classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68(3), 275-297.
- Walker DJ. ,Lutts S.,Sanchez.,M Garcia.,Correal E.(2014).*Atriplex halimus* L Sa Biologie et ses utilisations. *Journal of Arid Environments* 100 :111-121.
- Wichtl M., Anton R. *Plantes thérapeutiques* (2003) – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, Ed. TEC & DOC.
- William, G. H. (2003). *Physiologie végétale*, Éditeur, De Boeck Supérieur. P: 282.
- ZEGHLACHE, M. T., et ZID ELKHIR, L. (2021). Etude Ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le domaine cosmétique et dermatologique dans la région de M'Sila (L'Est Algérien). UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA
- Ziane L., Djellouli M. et Miloudi A.(2020).Antibacctérial activity and gaz chromatography-mas spectrometry studies of Algerian *Atriplex halimus*.L. 13(3)., pp. 84-86.