



République Algérienne Démocratique et Populaire

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 d'AGRONOMIE

Laboratoire des produits naturels LAPRONA

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière: *Sciences Alimentaires*

Spécialité : Agroalimentaire et Contrôle de qualité

Présenté par

CHIALI-MERZOUK Bahia

Thème :

Évaluation de l'activité antimicrobienne des feuilles de *Echium horridum* B.

Soutenu le 25/06/2023, devant le jury composé de :

Président	M ^R BELYAGOUBI Larbi	Pr	Université de Tlemcen
Examinatrice	M ^{me} EL HASSAR-MEZIANE Rajaa	MCB	Université de Tlemcen
Encadrante	M ^{me} BENAMAR-DIB Hanane	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2023/2024



Remerciements

Je tiens tout d'abord à exprimer ma gratitude envers Dieu le tout Puissant pour m'avoir accordé le courage, la force et la patience nécessaires pour mener à bien ce travail.

Je tiens vivement à remercier mon encadrante **Mme BENAMAR-DIB Hanane** Maitre de Conférences A au département de Biologie de la Faculté SNV-STU de l'université ABOUBEKR BELKAID- Tlemcen pour son aide, sa disponibilité, ses encouragements et son empathie. Je tiens à lui témoigner mon profond respect et ma sincère gratitude.

J'adresse mes remerciements aux membres du jury qui ont accepté de juger ce travail.

Je remercie Professeur **BELYAGOUBI Larbi** du département de Biologie de la Faculté SNV-STU de l'Université ABOUBEKR BELKAID- Tlemcen, de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Je remercie vivement, Mme **EI HASSAR-MEZIANE Rajaa**, Maitre de Conférences B au département de Biologie de la Faculté SNV-STU de l'université ABOUBEKR BELKAID- Tlemcen d'avoir accepté d'examiner mon travail.

Je tiens à exprimer ma gratitude envers Mme **BEKKARA-SELADJI. M**, pour ses efforts et sa précieuse aide.

Je remercie M^{me} **BELHASSAINE. F**, ingénieur du laboratoire de recherche des produits naturels LAPRONA pour son aide.

Je souhaite aussi remercier la doctorante M^{me} **BOUKLIKHA. S** pour sa collaboration. Je souhaite exprimer ma reconnaissance envers tous les enseignants qui m'ont guidée sur le chemin de la science tout au long de mon cursus universitaire.

Je remercie tous ceux qui m'ont aidée de près et de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

À l'issue de cette étude, je tiens à dédier ce travail :

A ma très chère mère et cher père. Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point vous remercier comme il se doit. Votre affection me couvre, votre bienveillance me guide et votre présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon très cher mari, source de vie, d'amour et d'affection. Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

A mes chers beaux-parents, à qui je souhaite exprimer ma profonde reconnaissance et gratitude. Votre soutien inestimable a été une force motrice qui m'a aidée à surmonter les obstacles et à réaliser cette étude avec succès.

A mes très chers frères Yacine, Salih et Farouk. Je vous suis profondément reconnaissante pour votre soutien indéfectible et votre confiance en mes capacités.

A ma très chère belle-sœur Amira. Ton soutien inébranlable et ton encouragement chaleureux a été un élément essentiel qui m'a permis de persévérer face aux défis rencontrés.

A toutes mes amies, tout particulièrement Yasmina, Nihel, Norehene, Samah, Ikram. Source de joie, de bonheur et de motivation que Dieu tout puissant vous donne santé, courage et vous guide vers la réussite.

Résumé

Echium horridum B. est une plante médicinale utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Le but de ce travail est de déterminer la présence de métabolites secondaires (phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés) et d'évaluer le pouvoir antimicrobien des extraits phénoliques, flavoniques et tanniques des feuilles de *Echium horridum* B.

L'analyse du taux d'humidité des feuilles de cette espèce a révélé un taux de 77,5%. L'extrait hydroacétométhanolique des feuilles d'*Echium horridum* B. a présenté un rendement de 7,33%.

Les résultats obtenus ont montré que la teneur en polyphénols déterminée par le réactif de Folin-Ciocalteu est élevée 794,25 mg EAG/g MS suivie par les flavonoïdes évalués en utilisant la méthode de trichlorure d'Aluminium ($AlCl_3$) avec une teneur de 436,07 mg EC/g MS et enfin, les tanins condensés estimés en utilisant la méthode de vanilline ont été estimés à hauteur de 29,88 mg EC/g MS.

L'activité antimicrobienne des extraits a été déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis des souches bactériennes suivantes : *Eterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsilla pneumoniae*, *Pseudomonas aeroginosa*, la levure *Candida albicans* et les champignons : *Aspergillus flavus* et *Fusarium oxysporum*.

L'extrait phénolique a présenté la meilleure activité antibactérienne, en particulier contre *Staphylococcus aureus*, avec une zone d'inhibition de 21,99 mm comparable à celle de l'antibiotiques de référence Amoxycilline avec 25 mm, et *Bacillus subtilis* et *Enterococcus faecalis* avec des zones d'inhibition de 16,49 et 13,5 mm respectivement. En ce qui concerne les flavonoïdes extraits avec le n-butanol, une sensibilité modérée a été observée envers *Aspergillus flavus* avec une zone d'inhibition de 11 mm. En revanche, les flavonoïdes extraits avec de l'acétate d'éthyle et l'extrait tannique n'ont montré aucun effet antimicrobien.

Les CMI ont indiqué que la souche *Staphylococcus aureus* s'est révélée la plus sensible vis-à-vis de l'extrait phénolique avec une CMI égale à 9.125 mg/ml confirmant ainsi les résultats de la méthode de diffusion sur disques.

Cette étude a permis de déduire que les feuilles de *Echium horridum* B. pourraient constituer une ressource intéressante qui mérite d'être exploitée dans divers domaines, dont celui de la santé, en raison de sa richesse en composés bioactifs et ses valeurs biologiques.

Mots clés : *Echium horridum* B., composés phénoliques, activité antimicrobienne, souches bactériennes, levure, champignons.

Abstract

Echium horridum B. is a medicinal plant used for its therapeutic properties. The aim of this study was to determine the presence of secondary metabolites (total phenols, flavonoids, and condensed tannins) and to evaluate the antimicrobial potential of phenolic, flavonoid, and tannic extracts from *Echium horridum* B. leaves.

The analysis of leaf moisture content of this species revealed a rate of 77.5%. The hydroacetomethanolic extract of *Echium horridum* B. leaves showed a yield of 7.33%. Results indicated that the polyphenol content, determined by the Folin-Ciocalteu method, was high at 794.25 mg GAE/g DW, followed by flavonoids assessed using the Aluminum chloride (AlCl₃) method at 436.07 mg CE/g DW. Condensed tannins, evaluated using the vanillin method, were estimated at 29.88 mg CE/g DW.

The antimicrobial activity of the extracts was tested against various bacterial strains including *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsilla pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, as well as the yeast *Candida albicans* and fungi *Aspergillus flavus* and *Fusarium oxysporum*.

The phenolic extract exhibited the highest antibacterial activity, particularly against *Staphylococcus aureus* with an inhibition zone of 21.99 mm, comparable to the reference antibiotic Amoxicillin (25 mm). It also showed significant inhibition against *Bacillus subtilis* (16.49 mm) and *Enterococcus faecalis* (13.5 mm). The flavonoid extract with n-butanol displayed moderate sensitivity against *Aspergillus flavus* with an inhibition zone of 11 mm, whereas the ethyl acetate and tannic extracts showed no antimicrobial effect. Minimum inhibitory concentrations (MICs) indicated that *Staphylococcus aureus* was most sensitive to the phenolic extract, with an MIC of 9.125 mg/ml, confirming the results of the disc diffusion method.

This study suggests that *Echium horridum* B. leaves could be a valuable resource with potential applications in various fields, particularly in health, due to their rich bioactive compound content and biological values.

Keywords: *Echium horridum* B., phenolic compounds, antimicrobial activity, bacterial strains, yeast, fungi

ملخص

نبات إيكيوم هوريوم بي (*Echium horridum B.*) هو نبات طبي استُخدم لخصائصه العلاجية. هدفت هذه الدراسة إلى تحديد وجود المركبات الثانوية (الفينولات الكلية، الفلافونويدات، والتانينات المكثفة) وتقييم النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات الفينولية والفلافونية والثانية من أوراق إيكيوم هوريوم بي. أظهر تحليل محتوى الرطوبة في أوراق إيكيوم هوريوم بي نسبة بلغت 77.5%. وأظهر مستخلص هيدرواسيتوميثانولي من أوراق إيكيوم هوريوم بي نسبة استرداد بلغت 7.33%. أظهرت النتائج أن محتوى البوليفينولات، المقدر باستخدام طريقة فولين-سيوكالتو، كان مرتفعاً وبلغ 794.25 ملغ مكافئ حمض الجاليك/غرام من الوزن الجاف، تلتها الفلافونويدات المقدر باستخدام طريقة كلوريد الألومنيوم (AIC13) بمحتوى قدره 436.07 ملغ قاعدة كاتيك/غرام من الوزن الجاف. وقد تم تقييم التانينات المكثفة باستخدام طريقة الفانيلين، حيث أظهرت النتائج وجود محتوى قدره 29.88 ملغ قاعدة كاتيك/غرام من الوزن الجاف. تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات بالنسبة لقطر منطقة التثبيط حول الأقراص التي تحتوي على المستخلصات المختبرة ضد السلالات البكتيرية التالية: *Enterococcus faecalis*، *Bacillus subtilis*، *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Klebsiella pneumoniae*، *Pseudomonas aeruginosa*، والخميرة *Candida albicans*، والفطريات *Aspergillus flavus* و *Fusarium oxysporum*. أظهرت النتائج أن المستخلص الفينولي قد أظهر أفضل نشاط مضاد للبكتيريا، خاصة ضد *Staphylococcus aureus* بقطر تثبيطي بلغ 21.99 ملم، مما يقارن بنجاح بالمضاد الحيوي المرجعي الأموكسيسيلين بـ 25 ملم، وضد *Bacillus subtilis* و *Enterococcus faecalis* بأقطار تثبيط بلغت 16.49 ملم و 13.5 ملم على التوالي. فيما يتعلق بمستخلصات الفلافونويد بالنبوتانول، لوحظت حساسية معتدلة ضد *Aspergillus flavus* بقطر تثبيط بلغ 11 ملم. بينما لم تظهر مستخلصات الفلافونويد بالأسيتات الإيثيلي والمستخلص التاني أي تأثير مضاد للميكروبات. أظهرت تراكيز التثبيط الحدية (CMI) أن *Staphylococcus aureus* كانت الأكثر حساسية تجاه المستخلص الفينولي بتركيز تثبيط حدودي (CMI) قدره 9.125 ملغ/مل، مما يؤكد نتائج طريقة انتشار الأقراص. توحي هذه الدراسة بأن أوراق إيكيوم هوريوم بي قد تمثل مورداً مثيراً للاهتمام يجدر استكشافه في مجالات مختلفة، خاصة في مجال الصحة، نظراً لغناها بالمركبات البيولوجية الفعالة وقيمها البيولوجية.

الكلمات الرئيسية: إيكيوم هوريوم بي، مركبات فينولية، نشاط مضاد للميكروبات، سلالات بكتيرية، خميرة، فطريا

Liste des abréviations

AG : Acide gallique.

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium.

BuOH : butanol.

CaCO₃ : Carbonate de calcium

DO : Densité Optique.

FeCl₃ : Chlorure de fer.

Hcl : Acide chlorhydrique.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

Liste des figures

Figure 1 : Principaux groupes des métabolites secondaires des végétaux	7
Figure 2 : Structure chimique de l'acide phénolique : l'acide de hydroxybenzoïque (A) et hydroxycinnamique (B).....	7
Figure 3 : Squelette de base des flavonoïdes	8
Figure 4 : Structure chimique des tanins condensés et hydrolysables	9
Figure 5 : Structures de quelques alcaloïdes.	10
Figure 6 : Diversité des isoprénoïdes et classification.	11
Figure 7 : Protocole d'extraction des polyphénols	22
Figure 8 : Extraction des flavonoïdes.....	26
Figure 9 : Extraction des tanins totaux.....	27
Figure 10 : Ampicilline (AMP) 10µg(Biocare)	29
Figure 11 : Nystatine 100 µg (Sigma-Aldrich)	30
Figure 12 : Amoxicilline (AMX) 25µg (bio Rad).....	30
Figure 13 : Taux d'humidité des feuilles de <i>Echium horridum</i> B	35
Figure 14 : Courbes d'étalonnages de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux(a), et de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes et des tanins condensés (b-c)	36

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification de la plante <i>Echium horridum</i> B	18
Tableau 2 : Souches utilisées dans les différents tests d'activité antimicrobienne.....	28
Tableau 3 : Les milieux de culture utilisé dans cette étude	29
Tableau 4 : Teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés des feuilles de <i>Echium horridum</i> B.....	37
Tableau 5 : Diamètre des zones d'inhibition des différents extraits des feuilles.....	38
Tableau 6 : Valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits des feuilles de <i>Echium horridum</i> B	40

Liste des photos

photo 1: Description de la tige, feuille, fleur et pilosité de la plante <i>Echium horridum</i> B.....	17
photo 2: Les feuilles de <i>Echium horridum</i> B.	20
photo 3: La poudre des feuilles de <i>Echium horridum</i> B.....	20
photo 4: Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes.....	39
photo 5: (CMI) des extraits des feuilles de la plante <i>Echium horridum</i> B.	40

Table des matières

<i>Remercîment</i>	i
<i>Dédicace</i>	ii
Résumé	iii
<i>Liste des figures</i>	vi
<i>Liste des tableaux</i>	viii
<i>Liste des photos</i>	ix
<i>Liste des abréviations</i>	vi
<i>Table des matières</i>	x
Introduction	1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I: Les plantes médicinales à travers le monde

1. Définition et historique des plantes médicinales	4
2. Médicaments à base de plantes	5
3. Composition chimique des plantes	5

Chapitre II: Les métabolites secondaires

1. Les composés phénoliques	6
1.1. Classification et type de composés phénoliques	6
1.2. Les acides phénoliques	7
1.3. Les flavonoïdes	8
1.4. Les tanins	8
1.5. Les alcaloïdes	9
1.6. Les terpenoïdes	10

Chapitre III: L'activité antimicrobienne

1. L'activité antibactérienne	12
2. Les Antibiotiques	13
3. L'activité antifongique	14

Chapitre IV: Présentation de *Echium horridum B.*

1. La famille de Boraginacées	15
2. Le genre <i>Echium</i>	15
3. Présentation de la plante <i>Echium horridum B.</i>	15
4. Description et classification botanique	16
5. Nomenclature	18
6. Propriétés et usages thérapeutiques de la plante	18

PARTIE EXPÉRIMENTALE

1. Objectif de l'étude	20
2. Matériel végétal	20
3. Détermination du taux d'humidité	21

4.	Extraction des composés phénoliques	21
5.	Dosage des composés phénoliques	23
5.1.	Dosage des polyphénols	23
5.2.	Dosage des Flavonoïdes	23
5.3.	Dosage des tanins condensés	24
6.	Extraction des flavonoïdes et des tanins totaux	24
6.1.	Extraction des fractions acétate d'éthyle et n-butanol des flavonoïdes.....	24
6.2.	Extraction des tanins totaux.....	27
7.	Évaluation de l'activité antimicrobienne.....	28
7.1.	Souches testées	28
7.2.	Milieux de culture.....	28
7.3.	Antibiotiques et antifongiques utilisée	29
7.4.	Étapes préliminaires à l'étude	30
7.4.1.	Préparation de l'inoculum	30
7.4.2.	Ensemencement	31
7.5.	Méthode de diffusion sur disque	31
7.5.1.	Mode opératoire.....	31
7.5.2.	L'incubation.....	32
7.5.3.	Lecture	32
7.6.	Méthode de micro-dilution en milieu liquide	32

RESULTATS ET DISCUSSION

1.	Détermination du taux d'humidité	35
2.	Rendement de l'extrait phénolique	35
3.	Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés	35
3.1.	Dosages des phénols totaux, flavonoïdes et tanins totaux Erreur ! Signet non défini.	
4.	Évaluation du pouvoir antimicrobien des extraits des feuilles de la plante <i>Echium</i> <i>Horridum B</i>	38
4.1.	Méthode de diffusion sur disque	38
CONCLUSION ET PERSPECTIVES		44
Références Bibliographiques		47



Introduction

Introduction

Depuis l'antiquité, l'humanité a utilisé diverses plantes rencontrées dans son environnement, pour ses besoins médicaux et jouent à ce jour à travers le monde un rôle capital dans l'art de guérir (Speck et al., 2014 ; Boumediou et Addoun, 2017).

Il existe plus de 80 000 espèces de plantes médicinales sur notre planète dont l'exploitation ne cesse de se développer grâce au savoir des anciennes civilisations (Lahsissene et al., 2009).

La phytothérapie est une discipline allopathique, destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes (feuilles, fleurs, racines, fruits et graines) ou de préparations à base de plantes. Leur efficacité relève, de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant de principes actifs différents (Wichtl et Anton, 2003).

En effet, les extraits de plantes médicinales contiennent une variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées diverses activités biologiques dont l'activité antibactérienne et antifongique. L'utilisation des extraits de plantes et de composés d'origine végétale est une source précieuse pour la médecine traditionnelle dans le traitement et la prévention d'un large éventail de maladies ; notamment des maladies infectieuses (Ghazghazi et al., 2013).

Les plantes peuvent synthétiser un grand nombre de molécules organiques complexes dotées souvent d'activités biologiques potentielles. Elles sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constitutions des plantes sont utilisés directement comme agent thérapeutique, mais aussi comme matière première pour la synthèse de médicaments ou comme modèle pour les composés pharmacologiquement actifs (Ameenah, 2006).

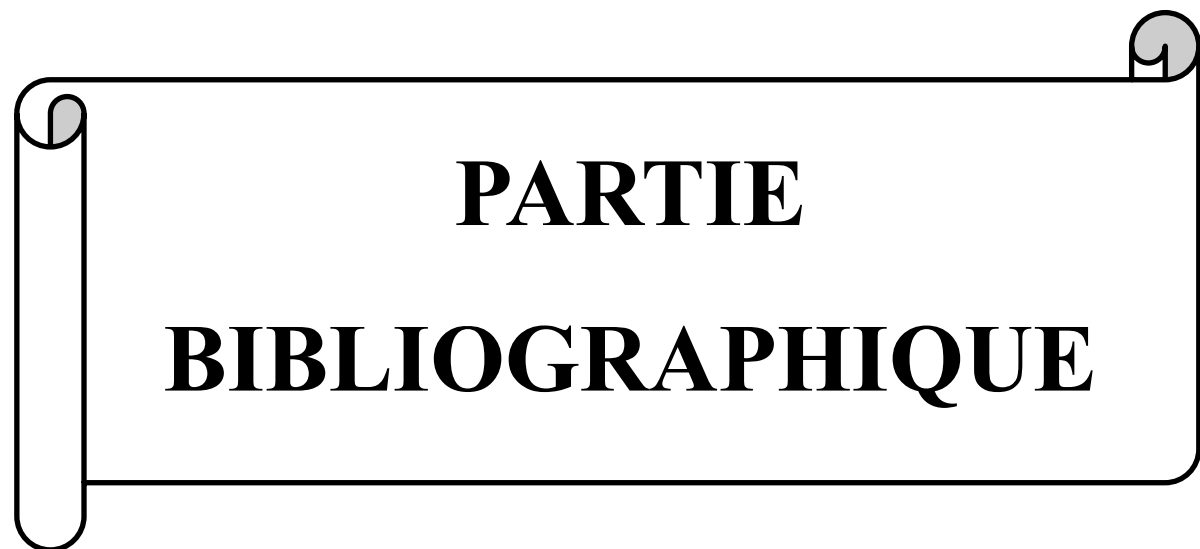
L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, nous trouvons des espèces de la famille des Boraginacées, qui sont également largement distribuées dans les régions méditerranéennes, dont certaines espèces spécifiques des zones magrébines.

L'utilisation de plantes médicinales est en augmentation dans le monde. Parmi la plante, les racines sont les plus utilisées, suivies des parties aériennes. Les espèces d'*Echium* exercent un effet sédatif, propriétés pharmacologiques anti-inflammatoires, antioxydantes et anxiolytiques. En conséquence, ces espèces sont largement utilisées pour traiter les problèmes respiratoires, les ulcères, les troubles de santé mentale et pour aider à la cicatrisation des plaies (Jin et al., 2020).

Introduction

L'objectif principal de cette recherche est d'évaluer l'activité antimicrobienne des composés phytochimiques contenues dans les feuilles de *Echium horridum* B.

Pour cela nous avons commencé par la détermination des teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins condensés et procédé à l'extraction sélective de ces derniers afin d'étudier leurs propriétés antibactériennes et antifongiques.



PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

1. Définition et historique des plantes médicinales

Il existe plusieurs définitions pour parler d'une plante médicinale mais, pour faire simple, ce terme désigne une plante ou une partie d'une plante possédant des propriétés médicamenteuses par l'action synergique de ses composés actifs sans avoir des effets nocifs aux doses recommandées (Merad et Mahiout, 2019).

Les plantes médicinales désignent toutes les plantes employées afin de prévenir, traiter ou apaiser différentes affections. Ce sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Environ 35000 espèces sont utilisées dans le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains (Ouedraogo et al., 2021).

Depuis des milliers d'années, l'homme utilise les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner divers maladies (Sanago, 2006). La connaissance et l'usage des plantes médicinales sont transmis de génération en génération, d'abord de manière orale, puis avec l'évolution des civilisations grâce aux écrits (Fleurentin et Hayon, 2016) .

Nous nous sommes toujours intéressés aux plantes. Les premiers documents concernant l'utilisation des plantes remontent à 5000 avant JC, avec une variété de plus de 250 plantes différentes utilisées dans diverses formules (Petrovska, 2012). Le papyrus égyptien Ebers date de 1500 avant JC et est considéré comme le plus ancien texte médical qui traite des centaines de formules à base de plantes. A la même époque, on retrouve des traces de l'utilisation des plantes médicinales dans la tradition indienne des Védas (Morel, 2017).

Ailleurs dans le monde, les premières écoles de médecine sont nées et de grandes civilisations ont développé leurs traditions chinoises, mayas, incas, aztèques, le moyen-Orient, et l'Asie, ce qui a multiplié les découvertes et a facilité les échanges de plantes entre les pays. Parmi les personnalités marquantes de cette période, on peut citer le médecin persan Avicenne (980-1037) qui fonda l'école de médecine d'Ispahan, ou Ibn Al Baytar (1197-1298)(Gonzalez et Lanly, 1997).

A partir du 19ème siècle jusqu'à nos jours , la chimie moderne a permis l'identification et la caractérisation des substances actives présentes dans les plantes. L'extraction des principes actifs est également devenue très efficace. En effet, la morphine a pu être isolée du pavot en 1815 et la quinine de l'écorce de quinquina en 1820 (Faye et Champey, 2008).

Les plantes médicinales ont conservé une large place du fait de leur efficacité dans diverses procédures thérapeutiques (Lazli et al., 2019).

2. Médicaments à base de plantes

De nos jours, grâce aux avancées scientifiques importantes réalisées depuis la fin du XIX^e siècle, l'utilisation des plantes médicinales a beaucoup évolué. Bien que les chimistes fassent des efforts pour produire de nouvelles molécules, plus de 25 % des médicaments prescrits dans les pays développés proviennent directement ou indirectement de plantes. On les utilise de diverses manières, sans connaître les molécules qui sont à l'origine de l'action. En effet, certains effets pharmacologiques prouvés sur l'animal sont attribués à des composés tels que les alcaloïdes et leurs dérivés, les terpènes, les stéroïdes et les composés polyphénoliques. En Algérie, des études récentes sont faites sur l'effet antimicrobien de quelques plantes endémiques (**Behidj-Benyounes et al., 2013**).

3. Composition chimique des plantes

Les plantes possèdent une composition chimique constituée de plusieurs substances. Cette composition résulte de l'interaction entre la plante et son environnement. En effet, elle extrait l'eau et les minéraux (oligoéléments et macroéléments) dont elle a besoin pour se développer grâce à ses racines dans le sol. Dans ses feuilles, elle effectue la photosynthèse, créant ainsi des molécules complexes connues sous le nom de composés organiques (**Chabrier, 2010**).

Les composés synthétisés par les plantes sont répartis en deux catégories.

- Métabolites primaires qui sont nécessaires à la vie végétale et qui ne présentent qu'une activité pharmacologique de base (les glucides tels que la cellulose et l'amidon, les lipides, les enzymes)
- Métabolites secondaires ou spécialisés qui sont de composition plus complexe et généralement regroupés dans les grandes familles chimiques telles que les polyphénols, les terpénoïdes et les alcaloïdes (**Sebih, 2020**).

Alors que l'ensemble des espèces végétales produisent des molécules qui jouent un rôle dans la nutrition et les processus physiologiques fondamentaux intrinsèques à un organisme donné sont qualifiées de métabolites primaires (Ouassou et al., 2019), il existe aussi des composés appelés métabolites secondaires qui sont synthétisés à partir des métabolites primaires et résultent de réactions chimiques ultérieures (Dao, 2008). Ces derniers contribuent seulement de manière indirecte aux processus vitaux de la cellule. Ils ont des fonctions importantes dans les défenses de l'organisme, et dans les interactions biologiques avec l'environnement de l'organisme (Elite, 2022).

Les métabolites secondaires sont souvent synthétisés dans une partie de la plante et stockés dans une autre, les terpènes et les flavonoïdes sont des exemples des métabolites secondaires, ainsi que les polyphénols, les tanins et les alcaloïdes (Hadjer, 2023).

1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des composés avec un ou plusieurs cycles aromatiques et un ou plusieurs groupes hydroxyles. Ils sont largement répandus dans le règne végétal, c'est les métabolites secondaires les plus abondants dans les plantes. Plus de 10 000 structures phénoliques connues, allant de molécules simples telles que les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées telles que les tanins (Dai et al., 2010).

Les composés phénoliques sont dotés de nombreuses propriétés physiologiques leur permettant d'exercer des activités antiallergique, anti-inflammatoire, antimicrobienne, anticancérogène (Djendoubi et Mouzgharit, 2023).

1.1. Classification et type de composés phénoliques

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (Figure 1).

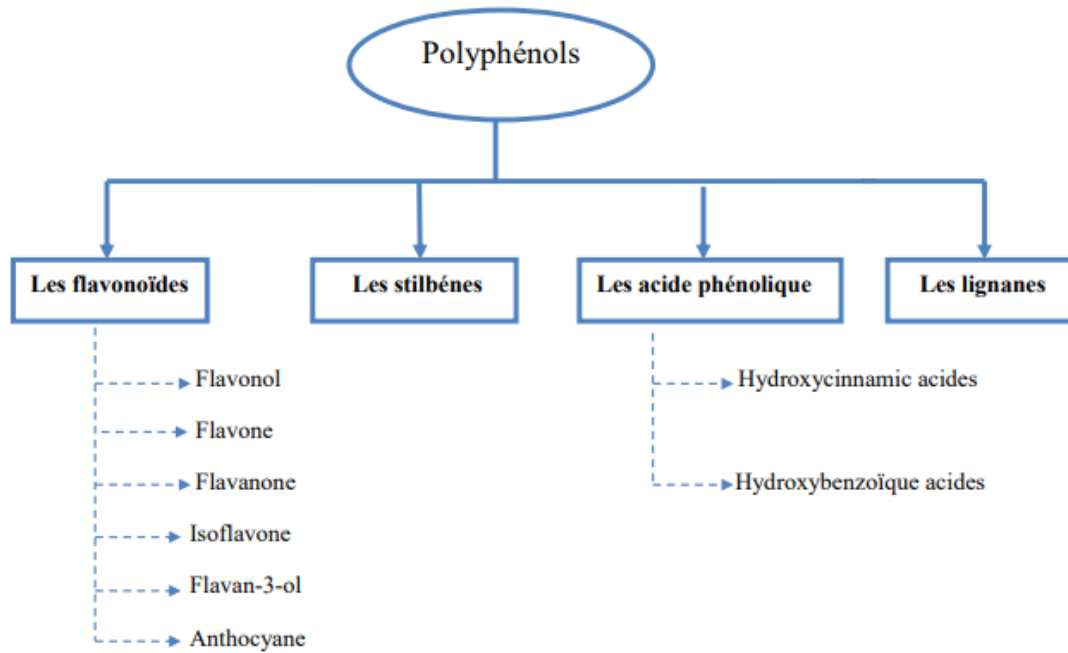


Figure 1 : Principaux groupes des métabolites secondaires des végétaux (Urquiaga et Leighton, 2000).

1.2. Les acides phénoliques

Les composés organiques présentant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique sont classés en deux sous-classes. Les formes les plus simples des composés phénoliques sont les acides phénoliques, qui se divisent en deux grands groupes : les acides hydroxy cinnamiques (C6-C3) et les acides hydroxybenzoïques (C6-C1) (Macheix et al., 2005).

Les composés les plus fréquents sont l'acide p-coumarique, l'acide caféique qui a très largement démontré son activité antioxydante, l'acide férulique et l'acide sinapique.

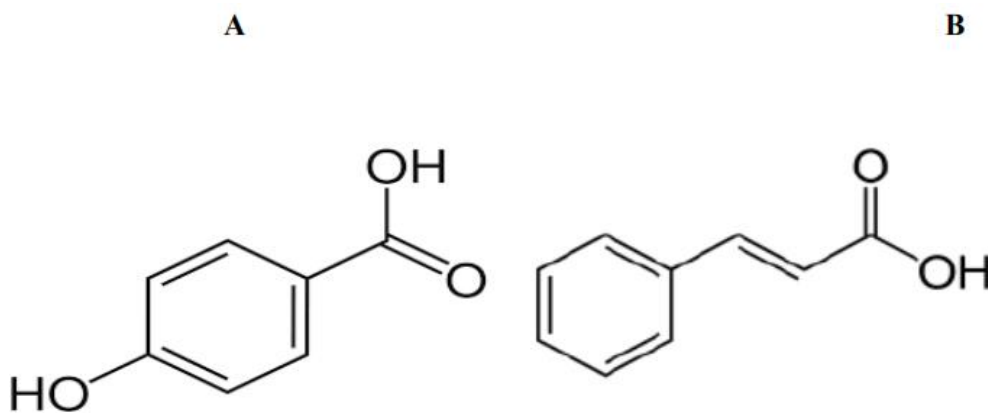


Figure 2 : Structure chimique de l'acide phénolique : l'acide de hydroxybenzoïque (A) et hydroxycinnamique (B) (Calinoiu et Vodnar, 2018).

1.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont principalement présents dans les plantes de haute qualité, notamment dans certaines familles : La famille des Polygonaceae, Rutaceae, Fabaceae, Apiacea et Asteraceae (**Benmoussa et al., 2021**).

Les flavonoïdes représentent le groupe principal de polyphénols, comprenant plus de 9000 composés différents, et sont généralement présents dans toutes les plantes médicinales.

Les flavonoïdes sont formés par une structure C6-C3-C6 (**Figure 3**). On distingue plusieurs catégories parmi lesquelles , les plus importants sont : les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones, les flavanones, et les anthocyanes (**Belabes et Djedira, 2019**) .

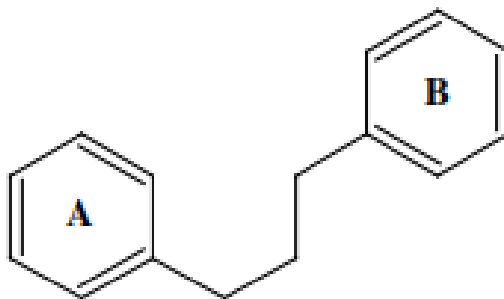


Figure 3 : Squelette de base des flavonoïdes (**Bruneto, 1999**).

1.4. Les tanins

Les tanins sont largement présents dans les plantes. On les retrouve dans les vacuoles ; ils peuvent parfois être associés aux protéines et aux alcaloïdes. Les tanins sont souvent des corps amorphes qui se dissocient dans l'eau en solutions colloïdales (**Djannat, 2022**).

Les tannins sont des composés phénoliques à poids moléculaire élevé employées dans le secteur du cuir. ils se trouvent dans presque chaque partie de la plante : écorce, bois, feuilles, fruits et racines (**Rahmoun, 2013**).

Les tanins sont un ensemble varié de substances phénoliques. Les tanins peuvent être divisés en deux grands groupes en fonction des différences dans leur structure chimique : les tanins condensés et les tanins hydrolysables (**Figure 4**). Les tanins hydrolysables sont des substances qui peuvent être hydrolysées. Les tanins hydrolysables sont des polyesters d'acide gallique ou d'acide ellagique et d'hydrate de carbone . En ce qui concerne les tanins condensés ou proanthocyanidines, ce sont des polymères de flavonoïdes localisés dans les

vacuoles des cellules des plantes qui en contiennent. Les tanins hydrolysables sont un type de tanins qu'on retrouve rarement dans les fourrages (Benjelloun et al., 2014).

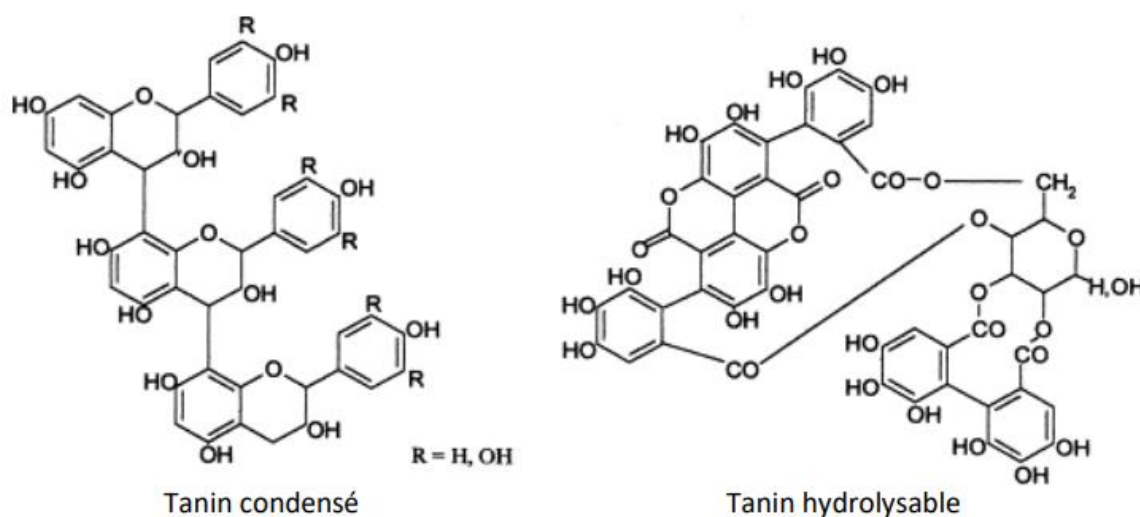


Figure 4 : Structure chimique des tanins condensés et hydrolysables (Mcsweeney et al., 2001).

1.5. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes proviennent de la nature, généralement de la végétation. Il s'agit de composés organiques azotés et basiques qui possèdent des propriétés pharmacologiques significatives à faible dose. En nature, ils sont souvent acidifiés par des acides organiques tels que les tartrates, les maliates, etc., ou associés à des tanins. Ils peuvent être divisés en trois catégories : Alcaloïdes vrais, protoalcaloïdes et pseudo alcaloïdes. Alcaloïdes vrais se distinguent par leur cytotoxicité significative, leur activité physiologique étendue, la plupart étant des bases stables, et ils contiennent un ou plusieurs atomes d'azotes dans leur cycle. Les protoalcaloïdes sont des amines simples telles que les acides aminés, ainsi que d'autres alcaloïdes tels que la Mescaline et l'Ephédrine (Figure 5). Et les Pseudo alcaloïdes: regroupe les composés azotés, non dérivés des acides aminés; l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale; comme la caféine (Bruneton, 2009).

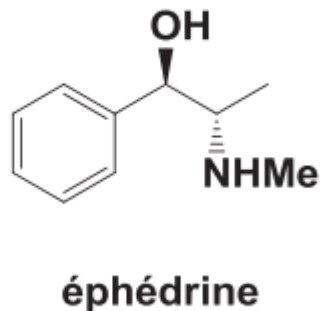
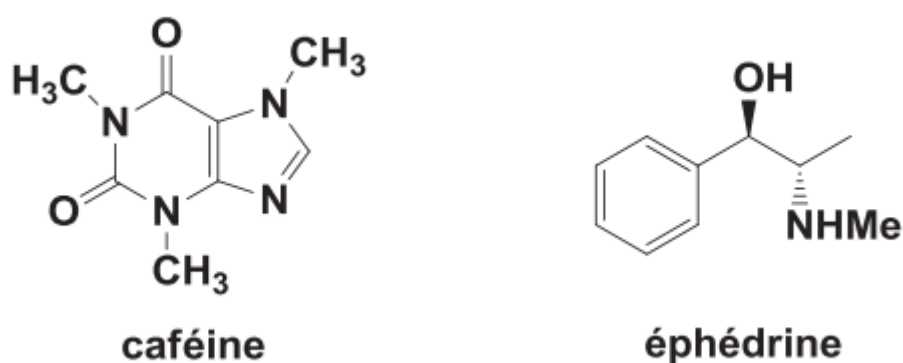


Figure 5 : Structures de quelques alcaloïdes (Badiaga, 2011).

1.6. Les terpénoïdes

Il s'agit du plus grand groupe, avec environ 3 000 terpènes décrits dans la littérature. Les terpènes se composent d'un multiple de cinq atomes de carbone de formule générale $(C_5 H_8)$. L'isoprène est la molécule de base (Bouyahya et al., 2018).

Leur nombre d'unités condensées les classe dans les catégories suivantes (Figure 6) : hémiterpénoïdes (C_5), monoterpénoïdes (C_{10}), sesquiterpénoïdes (C_{15}), diterpénoïdes (C_{20}), triterpénoïdes (C_{30}), tétraterpénoïdes (C_{40}) ou polyterpénoïdes (nombre de carbones supérieur à C_{40}). Leurs diversifications sont influencées par des réarrangements et des modifications (Gavira, 2013).

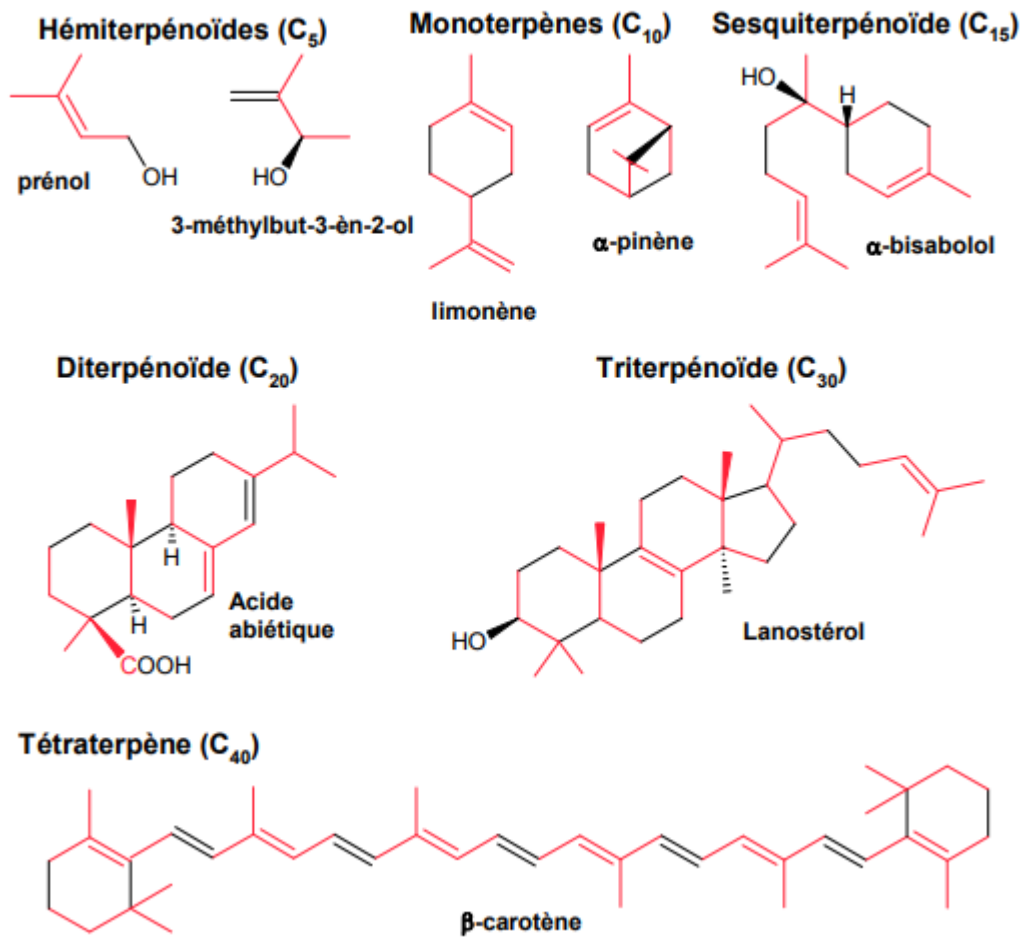


Figure 6 : Diversité des isoprénoïdes et classification (Gavira, 2013).

L'activité antimicrobienne :

L'organisme humain, constamment exposé à une multitude de microbes (bactéries, virus, parasites, champignons microscopique), possède un système complexe de défense qui lui permet de rencontrer ou d'héberger ces microbes sans leur permettre d'envahir ses tissus. Pour lutter contre ces infections, de nombreux programmes ont été conduit pour découvrir et développer de nombreux agents antimicrobiens d'origine biologique (**Hessas et Simoud, 2018**).

Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne, des efforts importants sont dirigés vers l'exploration des extraits de plantes médicinales comme sources alternatives ou complémentaires pouvant être utilisées pour renforcer le système immunitaire en cas d'infection fongique, bactérienne ou virale (**Akram et al., 2022**).

En effet, Les composés actifs végétaux sont fréquemment associés aux métabolites secondaires, notamment les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins ou les dérivés terpéniques trouvés dans les plantes médicinales (**Bourgaud et al., 2001**).

Les polyphénols sont principalement le groupe de molécules le plus répandu dans la végétation , qui représentent nombreuses propriétés antimicrobienne (**Lugasi et al., 2003**).

Le mot "agent antimicrobien" fait référence à tout produit qui a pour but de tuer les microorganismes ou de les empêcher de se développer, y compris les agents antibactériens. Depuis de nombreuses décennies, les agents antimicrobiens sont employés afin de soigner les maladies transmissibles et prévenir les infections.

Ces agents peuvent agir de différentes manières sur les bactéries ayant un effet bactériostatique se produit lorsque la substance empêche la prolifération des bactéries, ou un effet bactéricides qui se produit lorsque la substance détruit complètement les bactéries (**Cce., 2001**).

1. L'activité antibactérienne

L'infection bactérienne est la propagation d'une souche de bactéries nuisibles sur ou dans le corps . Les infections bactériennes ont un impact important sur notre santé, les bactéries pathogènes possèdent des caractéristiques qui leur permettent d'échapper aux mécanismes de protection de l'organisme et d'utiliser ses ressources et provoquer des infections. Tous les organes humains sont susceptibles d'être infectés par les bactéries (**Bakhtia, 2023**).

Des études ont été élaborées pour l'évaluation des propriétés antibactériennes, des polyphénols.

Les plantes produisent des flavonoïdes lors de l'invasion bactérienne. Il est donc logique qu'elles jouent un rôle efficace en tant que substances antimicrobiennes *in vitro* contre les microorganismes (Daglia et al., 2012).

Les propriétés antimicrobiennes de la propolis est associée aux composés de la classe des flavonols et des flavanones. Effectivement, grâce à leur capacité à empêcher la germination des spores de plantes pathogènes, ils sont de bons candidats pour combattre les champignons pathogènes chez l'homme.

De plus, la capacité des tanins à créer des complexes avec les protéines par des liaisons hydrogènes, des liaisons hydrophobes ou des liaisons covalentes, leur permet alors de désactiver les adhésions microbiennes, enzymatiques et les enveloppes cellulaires transportant les protéines des microorganismes (Cowan,1999).

2. Les Antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques qui ont une action antibactérienne, qu'elles soient produites par des organismes vivants ou synthétisées par des méthodes chimiques particulières. C'est par l'inhibition ou l'altération de certains processus essentiels que les micro-organismes se manifestent et les antibiotiques ont le pouvoir de tuer (effet bactéricide) ou de les ralentir (effet bactériostatique) en fonction de la molécule, de sa concentration et du temps de contact avec les bactéries (Guilfoile, 2007).

La résistance aux antibiotiques est un phénomène général observé pour toutes les espèces bactériennes rencontrées chez l'homme. Les bactéries possèdent une grande capacité d'adaptation qui leur permet d'acquérir de nouvelles caractéristiques, ce qui leur permet de résister aux antibiotiques (Rougeaux, 2014). On distingue :

- La résistance naturelle : elle s'applique à toutes les souches d'une espèce bactérienne et est préexistante à l'utilisation des antibiotiques. Cette résistance est héritée des chromosomes et est transmissible de cellule fille à cellule fille lors de la réplication bactérienne.
- La résistance acquise : Elle concerne uniquement une partie des souches d'une espèce bactérienne habituellement sensible et survient après l'administration d'antibiotiques. Un mécanisme de résistance nouveau peut être acquis à la suite d'une mutation sur le chromosome bactérien ou d'une information génétique provenant d'une bactérie déjà résistante (Djoudi et Yahyaoui, 2022).

3. L'activité antifongique

Les antifongiques sont des produits chimiques produits par des microorganismes ou synthétisés à partir de molécules provenant de composés naturels, qui ont la capacité d'inhiber spécifiquement divers champignons. Le champignon pathogène est détruit par des molécules fongicides, tandis que les molécules fongistatiques sont responsables de la limitation du développement du mycète, qui sera ensuite éliminé lors du renouvellement tissulaire (**Brans, 2015**).

Plusieurs espèces de plantes ont longtemps été reconnues pour leurs propriétés antimicrobiennes. Les plantes aromatiques et médicinales offrent une grande richesse naturelle dont la mise en valeur nécessite une connaissance approfondie des propriétés à mettre en avant. Les propriétés pharmaceutiques des plantes médicinales sont influencées par la présence d'agents bioactifs divers et de diverses classes chimiques (**Madjida, 2022**).

1. La famille de Boraginacées

Les boraginacées sont une famille très commune, surtout dans les régions tempérées et tropicales, répandue dans le monde entier, mais avec une certaine abondance dans le nord-ouest de l'Amérique, en Asie et le bassin méditerranéen (**Sakhraoui et al., 2021**). Ils se manifestent dans divers habitats, allant du niveau de la mer jusqu'à plus de 4000m d'altitude (**Bowe et Yatskievych, 2016**).

Les Boraginacées sont une grande famille d'angiospermes regroupant environ 2 740 espèces réparties en 148 à 156 genres (**Braun et al., 2018**). Les plantes sont généralement des herbes, des sous-arbustes et rarement des arbustes ou des arbres. Ils sont souvent des plantes entières hérissées et rarement lisses (**Zhenghao et al., 2017**).

La classe des alcaloïdes pyrrolizidiniques joue un rôle essentiel dans la classification chimio-taxonomique des Boraginacées, car elle est presque systématiquement présente dans les genres qui composent cette grande plante (**Gandini, 2016**).

2. Le genre *Echium*

Le genre *Echium* appartient à la famille des boraginacées et comprend soixante-sept espèces. Il est originaire d'Europe et à d'Afrique du Nord Algérie, Maroc, îles Canaries, Égypte, Guinée, Libye, Mali, Mauritanie, Soudan, Tunisie, Sahara occidental, et est largement distribué dans la région méditerranéenne. Le genre est utilisé dans la médecine traditionnelle depuis 300 avant JC (**Wang et al., 2022**).

Ce sont des plantes herbacées et vivaces principalement annuelle ou bisannuelle, mesurant entre 20 cm et 5 m selon les espèces. Il a une floraison impressionnante, de mars à août, sous forme d'épis de plusieurs dizaines de centimètres, recouverts de fleurs bleues, violacées, blanches ou rouges (**Messehel et al., 2023**).

Les études pharmacologiques actuelles montrent que les espèces d'*Echium* ont des effets anti-inflammatoires, antiviraux, antibactériens, anxiolytiques, antioxydants et analgésiques (**Gecer et erenler, 2023**).

3. Présentation de la plante *Echium horridum* B.

Echium horridum B. est une espèce écologique de grande valeur, originaire et répandue en Afrique du Nord. Elle peut se développer dans les environnements les plus arides et chauds du Sahara jusqu'aux plus frais et humides de la côte méditerranéenne du nord-ouest de l'Afrique (**Boulos, 2000**).

Cette espèce peut être différenciée de ses congénères les plus proches par la tige constituée de soies rigides et perméables et des pointus à base bulbeuse qui permettent de voir la couleur verte glauque de la même chose entre eux (Deniz et Reyes, 2008).

4. Description et classification botanique

Echium horridum B. est une plante annuelle de dimension très variable, à racine profondément pivotante, ses tiges simples ou rameuses à la base, atteignant 1,5m de haut, couvertes de poils raides, étalés, insérés sur un tubercule (Photo 1A). Les feuilles radicales insensiblement atténuées en pétiole, les supérieures sessiles, toutes allongées, couvertes de soies raides fines, toutes courtes ou bien des courtes et des longues, avec ou sans tubercules suivant les endroits (en terrain frais, peu de tubercules, en terrain aride, le contraire) (Photo 1B) (Jean, 2023).

Ses fleurs sont rouges carmin, devenant violet-bleuâtre lorsqu'elle fleurissent. Elles sont grande de taille (environ 2-3 cm) avec 5 sépales de 5 à 15 mm, à peu près libres, assez inégales, velu-hirsutes. Les corolles mesurent entre 20 et 30 mm de long, sont tomenteuses à l'extérieure et présentent un bouche oblique caractéristique. L'anneau basal est composé de 10 petites écailles hirsute (Photo 1C).

La pilosité simple (formée de poils à peu près identiques) ou double doit être observée sur le milieu des plantes (Photo 1D) (Claude, 2018).

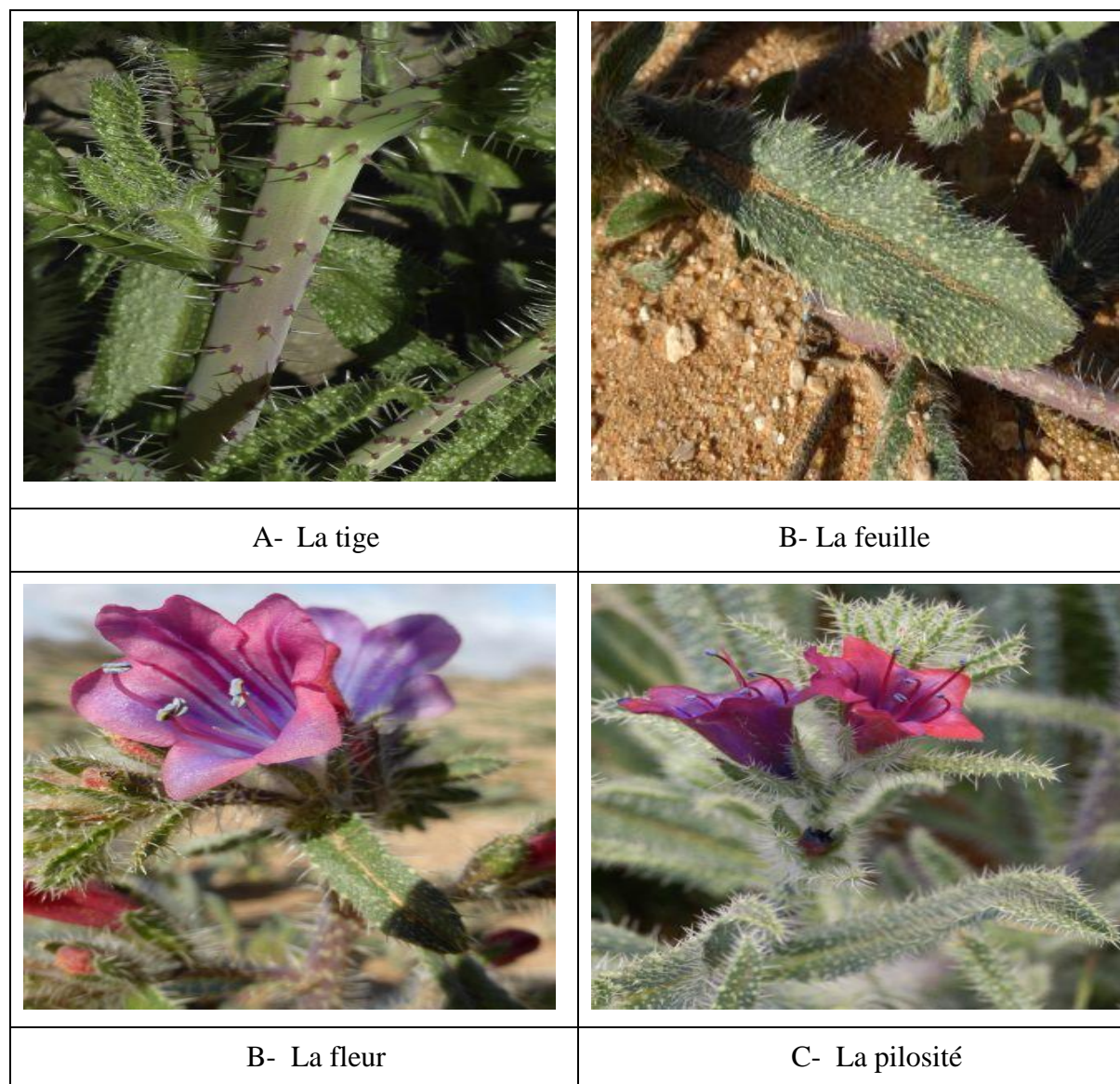


photo 1: Description de la tige, la feuille, la fleur et la pilosité de *Echium horridum* B. (Jean, 2023).

5. Nomenclature

Tableau 1 : Classification de la plante *Echium horridum* B. (Ogbi et Siad, 2017)

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophyta
Sous embranchement	Angiospermae
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Boraginaceae
Genre	<i>Echium</i>
Espèce	<i>Echium horridum</i> B

6. Propriétés et usages thérapeutiques de la plante

La médecine traditionnelle utilise les parties (feuilles, fleurs et racines) de plusieurs plantes de la famille des Boraginacées pour soigner : les blessures, les affections de la peau (soigner les brûlures), la fièvre, les douleurs thoraciques, abdominales et articulaires, l'hypotension, l'inflammation des yeux, l'infection de l'oreille, l'arthrite. Elles ont aussi des effets antispasmodiques, antibactériens, antihelminthiques, anti-hémorragiques, antiseptiques, diurétiques, cataplasmes pour les plaies fréquentes et les maladies vénériennes (Tiwari, 2008).



PARTIE
EXPÉRIMENTALE

Partie expérimentale

1. Objectif de l'étude

Dans le cadre de l'évaluation de l'activité antimicrobienne des plantes à intérêt biologique, nous nous sommes intéressées à l'espèce *Echium horridum* B. Nous avons effectué notre expérimentation au sein du laboratoire de recherches des Produits Naturels LAPRONA..

2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué des feuilles d'*Echium horridum* B., récoltées dans la région de Souahlia-Tounane, durant le mois de mars 2024 de la willaya de Tlemcen, région de l'ouest de l'Algérie.

Après la collecte, les feuilles sont séchées à l'air libre (**photo2**). Ensuite à l'aide d'un broyeur électrique sont transformé en poudre (**photo3**). Cette dernière est conservée dans des boîtes de verre opaque et hermétiquement fermé.



photo 2: Les feuilles de *Echium horridum* B. (Tlemcen, 2024).

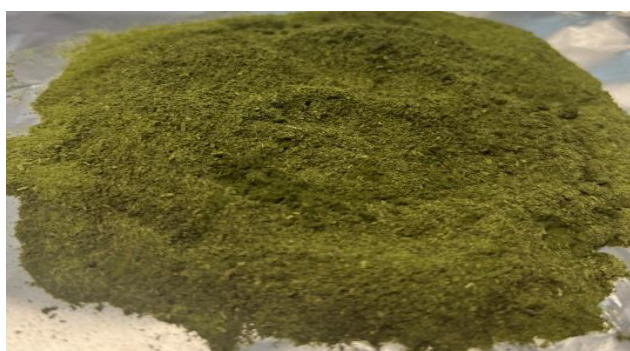


photo 3: La poudre des feuilles de *Echium horridum* B. (Tlemcen, 2024).

3. Détermination du taux d'humidité (Audigié et al., 1980)

➤ Principe

Pour la détermination du pourcentage d'humidité, on procède à une dessiccation de l'échantillon frais à analyser dans une étuve à la température de 100°C à 105°C est sous la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare, placés dans un dessiccateur.

➤ Mode opératoire

- Les vases de tare ont été séchés à l'étuve pendant 30 min à 103°C avec couvercles inclinés.
- Après refroidissement dans un dessiccateur durant 20 à 30 min, les vases de tare ont été pesés avec les couvercles (P1).
- Dans chaque vase, 2g de l'échantillon ont été introduit, l'ensemble a été pesé avec les couvercles fermés (P2).
- Après un étuvage de 3h à 105°C avec couvercles inclinés puis refroidissement dans un dessiccateur pendant 15 min, les vases de tare sont pesés, ensuite ils sont remis avec couvercles inclinés dans l'étuve durant 1h à 105°C.
- Après refroidissement comme précédemment, les vases de tare sont pesés (P3).
- La différence entre deux pesées doit être inférieure à 2mg, si non l'opération est renouvelée jusqu'à poids constant.

➤ Expression des résultats

Le taux d'humidité (%) d'un matériel végétal est déterminé par la relation suivante :

$$\text{Taux d'humidité \%} = [(p2 - p3) / (p2 - p1)] 100.$$

Avec :

P1 : poids en gramme de vase de tare vide.

P2 : poids en gramme de la prise d'essai avant séchage.

P3 : poids en gramme de la prise d'essai après séchage.

A partir de la teneur en eau, on peut déterminer le taux de matière sèche qui est donné par la formule suivante :

$$\text{Taux de matière sèche(\%)} = 100 - \text{teneur en eau \%}.$$

4. Extraction des composés phénoliques (Jimoh et al., 2010)

L'échantillon (2g) a été macéré dans 40 ml de chaque solvant d'extraction (acétone, méthanol et eau) avec un rapport de (14/14/12) respectivement, la solution a été maintenue sous agitation pendant 2 h, ensuite le mélange a été centrifugé et le surnageant a été récupéré, puis

Partie expérimentale

l'échantillon a été extrait pour une seconde fois, avec 40 ml du solvant d'extraction et la solution a été centrifugée (surnageant b). Les deux surnageants (a+b) ont été réunis et évaporés avec un rotavapeur jusqu'à élimination de la phase organique. La phase aqueuse ainsi récupérée, a été extraite avec du n-hexane, afin d'éliminer les lipides, la phase aqueuse a été évaporée à sec, à température réduite de 40 à 45°C, à l'aide d'un rotavapeur. Les résidus obtenus ont été récupérés dans 3mL de méthanol.

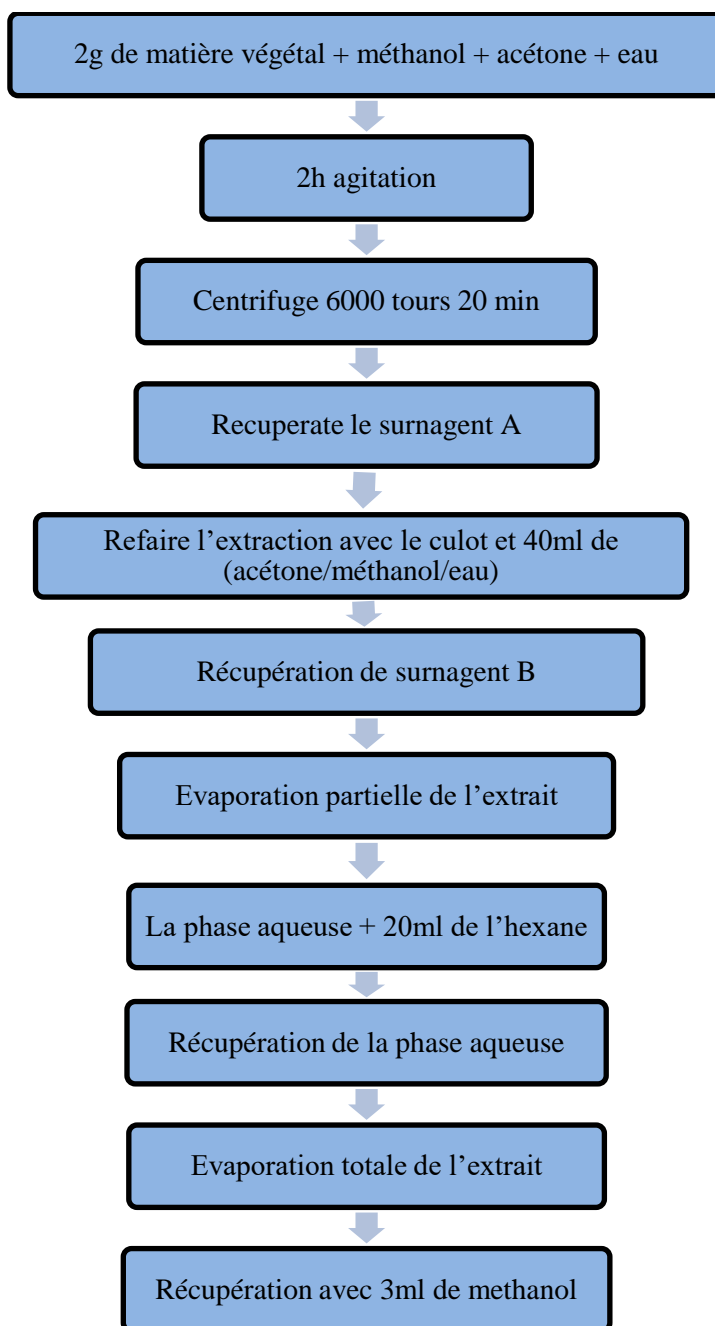


Figure 7 : Protocole d'extraction des polyphénols (Jimoh et al., 2010).

5. Dosage des composés phénoliques

5.1. Dosage des polyphénols (Singleton et Rossi, 1965)

➤ Principe

Le dosage des phénols totaux dans les extraits ont été effectué par la spectrophotométrie selon la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est composé d'un d'acide phosphotungastique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite dont la lecture de l'absorption et à 760 nm, est proportionnelle à la quantité des phénols présente dans l'extrait végétal.

➤ Mode opératoire

- Mélanger 100 μ l de chaque extraits avec 2000 μ l de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (2%) ;
- Incubation pendant 5 minutes à température ambiante
- Ajouter 100 μ l de réactif Folin-Ciocalteu à 1N
- Le mélange a été incubé pendant 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante
- Mesurer l'absorbance contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 760 nm.

On a réalisé une courbe d'étalonnage ($y = a.x + b$) en parallèle dans les mêmes conditions à partir d'acide gallique à différentes concentrations.

➤ Expression des résultats

Les teneurs en polyphénols de l'extrait sont exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

5.2. Dosage des Flavonoïdes (Djeridane et al., 2006)

➤ Principe

Le dosage des flavonoïdes repose sur la méthode du réactif de chlorure d'aluminium, qui forme un complexe de coloration jaune avec les groupements hydroxyles des flavonoïdes.

➤ Mode opératoire

- Mélanger 250 μ l de l'extrait avec 1000 μ l d'eau distillée et 75 μ l du réactif $NaNO_2$ à 15 % ;
- incubation pendant 6 min à température ambiante, ajouter 75 μ l du réactif chlorure d'aluminium $AlCl_3$ à 10%

Partie expérimentale

- Après 6 min, ajouter 1000 µl d'hydroxyde de sodium NaOH (4%), ajouter 100 µl d'eau distillée
- Incubation du mélange à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 min
- Mesurer l'absorbance contre un blanc à 510 nm.

Une courbe d'étalonnage ($y=ax + b$) a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme standard à différentes concentrations.

➤ Expression des résultats

Les teneurs en flavonoïdes des extraits ont été exprimées en milligramme équivalent de Catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS).

5.3. Dosage des tanins condensés (Julkunen-Titto, 1985)

➤ Principe

La quantification des tanins est effectuée à partir de la méthode de vanilline en milieu acide.

➤ Mode opératoire :

- 50 µl de l'extrait phénolique est ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (4%, m/v)
- Agiter le mélange à l'aide d'un vortex.
- 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCL) est additionné et laissé réagir à température ambiante pendant 20 min.
- L'absorbance est mesurée contre un blanc à 550. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme standard à différentes concentrations

➤ Expression des résultats :

La concentration des tanins condensés est estimée en milligramme équivalents de catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS).

6. Extraction des flavonoïdes et des tanins totaux

6.1. Extraction des fractions acétate d'éthyle et n-butanol des flavonoïdes

10 g de poudre végétale sont ajoutés à un mélange de 100 ml de méthanol bouillant avec 5g de CaCO₃. L'ébullition de mélange est maintenue sous réfrigérant à reflux pendant 1 heure. Après filtration (filtrat 1), le dépôt a été traité pendant une heure à ébullition avec les mêmes quantités de méthanol (filtrat 2). Les deux filtrats sont réunis, et la solution obtenue est soumise à une distillation sous pression réduite et le résidu sec est récupéré avec 50 ml d'eau

Partie expérimentale

distillée bouillante. Le filtrat obtenu est mis dans une ampoule à décanter avec 50 ml d'acétate d'éthyle, et après 24 heures de décantation des deux phases, la phase organique est récupérée puis séchée à l'évaporateur rotatif. L'opération est répétée avec 50 ml de n-butanol (Bu OH) **(Dauguet et Foucher, 1982)**. Cette étape est caractérisée par la spécificité et la polarité du solvant organique.

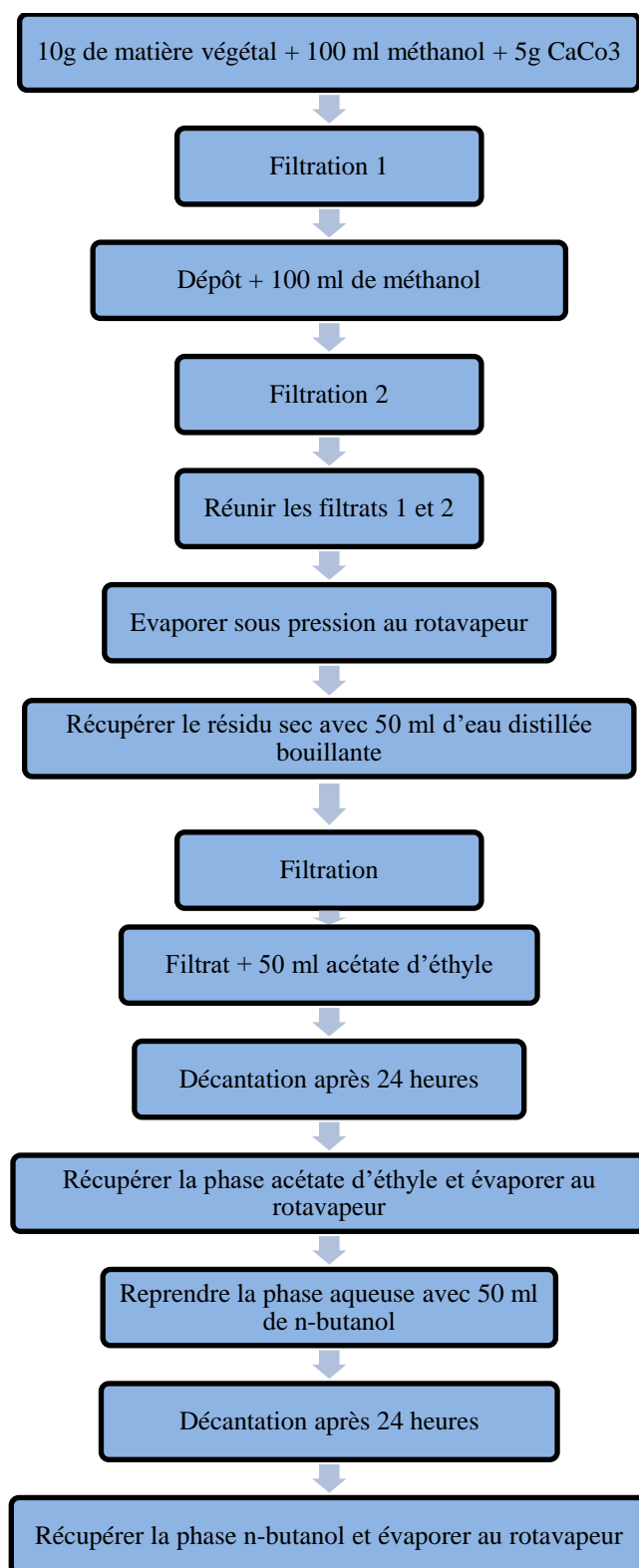


Figure 8 : Extraction des flavonoïdes (Dauguet et Foucher, 1982).

6.2. Extraction des tanins totaux

2.5g de poudre végétale sont ajoutés à 50 ml du mélange eau-acétone 35/15 (v/v), puis laisser macérer pendant 4 jours à froid (4°C). Après filtration et évaporation de l'acétone, la phase aqueuse est reprise dans 25 ml du dichlorométhane. La décantation des deux phases après 24 heures. La phase aqueuse est extraite par 50 ml d'acétate d'éthyle, puis est soumise à une évaporation à sec et enfin récupérée dans 3 ml de méthanol (Bruneton, 1999).

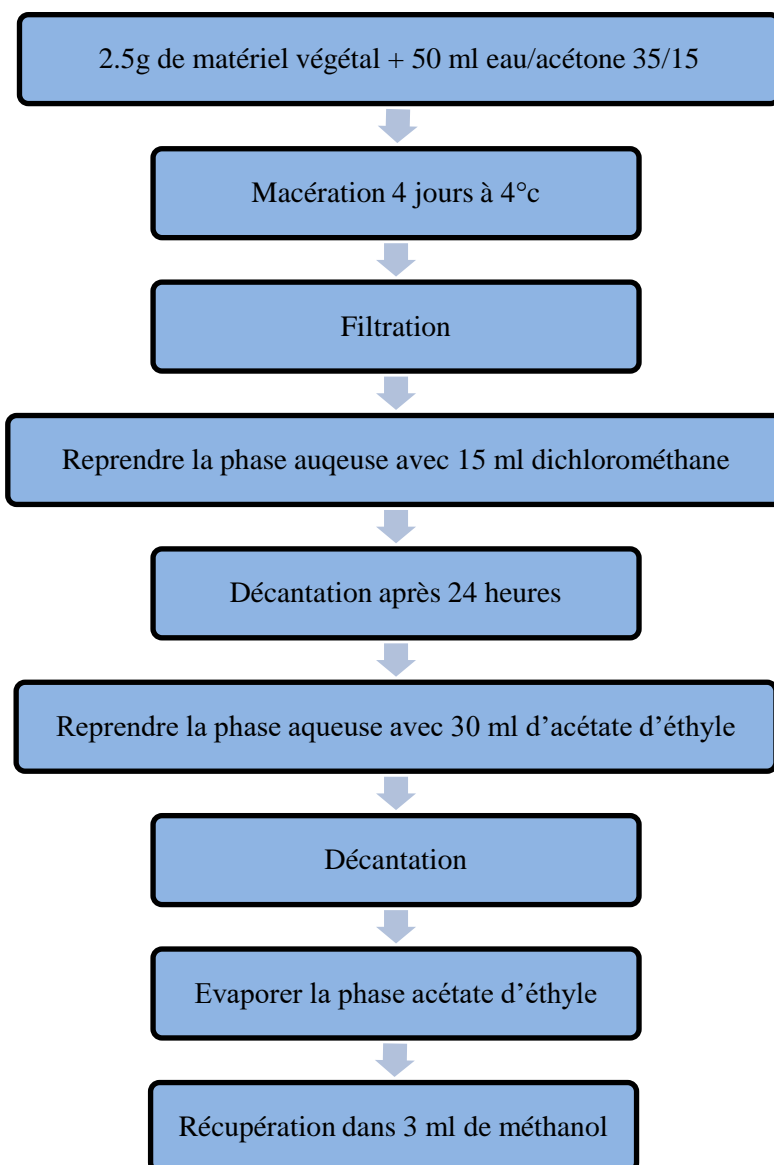


Figure 9 : Extraction des tanins totaux (Bruneton, 1999).

Partie expérimentale

7. Évaluation de l'activité antimicrobienne

7.1. Souches testées

Dans le but de tester l'effet antimicrobien *in vitro* des extraits des feuilles de la plante *Echium horridum* B., on a utilisé des souches de références qui sont mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Souches utilisées dans les différents tests d'activité antimicrobienne

	Microorganismes	Gram	Code
Bactéries	<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 29213
	<i>Bacillus subtilis</i>		ATCC 6633
	<i>Enterococcus faecalis</i>		ATCC 29212
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853
	<i>Escherichia coli</i>		ATCC 25922
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		ATCC 700603
Levures	<i>Candida Albicans</i>		ATCC 10231
Champignons	<i>Aspergillus flavus</i>		MNHN 994294
	<i>Fusarium oxysporum</i>		MNHN 566

ATCC : American Type Culture Collection.

7.2. Milieux de culture

Les milieux de culture sont indispensables à la multiplication bactérienne ce qui permet à l'étude de l'activité antimicrobienne.

Les milieux utilisés durant cette étude, sont indiqués dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3 : Les milieux de culture utilisé dans cette étude

Milieu de culture	pH	Utilisation
Gélose nutritive	7.0	pour la conservation des souches
Bouillon Mueller Hinton	7.4	pour le repiquage des bactéries
Gélose Mueller-Hinton	7.4	Pour l'évaluation d'activité antimicrobienne des bactéries
Bouillon Sabouraud	5.6	Pour le repiquage de levure
Gélose Sabouraud	5.6	Pour l'évaluation d'activité antimicrobienne de levure

7.3. Antibiotiques et antifongiques utilisée

Les antibiotiques utilisés sont illustrée dans les figures ci-dessus :



Figure 10 : Ampicilline (AMP) 10µg (Biocare)



Figure 11 : Nystatine 100 μ g (Sigma-Aldrich)

Pour l'AMP et Nystatine on a utilisé des disques de 6 mm de diamètre imbibés d'antibiotique à des charges bien définies selon **CLSI (2015)**.



Figure 12 : Amoxicilline (AMX) 25 μ g (bio Rad)

7.4. Étapes préliminaires à l'étude

7.4.1. Préparation de l'inoculum

L'inoculum est un échantillonnage de microorganismes ensemencé dans un milieu de culture biologique par inoculation.

Partie expérimentale

- Dans les bouillons (BMH pour les bactéries et BS pour les levures), on a réalisé une pré-culture des souches pour garantir la croissance.
- Après incubation de 18/24h à 37°C pour les bactéries et 48h à 30°C pour les levures, la turbidité est ensuite ajustée au standard Mc Farland 0.5 avec un colorimètre, on ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien le milieu (BMH ou BS) stérile pour le diluer s'il est trop chargé. Les normes correspondent à 10^8 UFC/ml pour les bactéries (D.O = 0.08 à 0.1 / λ 625 nm) et 10^6 UFC /ml pour les levures (D.O = 0.08 à 0.1 / λ 625 nm).
- On doit faire l'ensemencement dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum (**Rahal et al., 2008 ; Vitali et al., 2016**).

7.4.2. Ensemencement

Les boîtes Pétri sont coulées à une épaisseur de 4 mm. Ensuite, ils sont introduites dans l'étuve à 37°C pendant 30 min avant l'ensemencement afin d'éliminer l'humidité.

- dans le tube de la suspension bactérienne, on trempe un écouvillon stérile puis on doit l'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées. et on Répète l'opération 2 fois, en tournant la boîte 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- on doit recharger l'écouvillon à chaque fois quand on ensemence une boîte de Pétri (**Rahal et al., 2008**).

7.5. Méthode de diffusion sur disque

7.5.1. Mode opératoire

Cette méthode consiste en une diffusion sur milieu solide (la gélose Mueller Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les levures) qui a étéensemencé avec les différentes souches bactériennes, un support (disque de papier filtre de 6 mm de diamètre sont stérilisés à l'autoclave) contenant 5 μ L des extraits (phénols totaux, flavonoïdes extraits avec le n-butanol, les flavonoïdes extraits avec de l'acétate d'éthyle et tanins condensés) et des antibiotiques (des disques d'ampicilline (10 μ g) et amoxicilline (25 μ g) ont été utilisés comme des contrôles positifs pour les bactéries et des disques de la nystatine(100 μ g) pour les *Candida*) à tester sera déposé par-dessus (**Benmahieddine et al., 2021**). Après, les boîtes sont

Partie expérimentale

placées à 4°C pendant environ 2 h pour permettre une pré-diffusion des molécules bioactives contenant dans les extraits et ralentir la croissance microbienne (**Kitouni, 2007**).

Deux répétitions sont effectuées pour chaque charge.

7.5.2. L'incubation

L'incubation des boîtes est faite à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 37°C pendant 48 h pour les *Candida*.

7.5.3. Lecture

La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre, en mm, de la zone d'inhibition dans les deux directions perpendiculaires autour des disques avec une règle graduée sur le fond de la boîte sans enlever le couvercle (**Belyagoubi-Benhammou et al., 2019**).

Le pouvoir antimicrobien de l'extrait phénolique, des flavonoides et des tanins est obtenu par la mesure du diamètre des zones d'inhibition en mm et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilisation des souches (**Ponce et al., 2003**).

- Extrêmement sensible (+++) : plus de 20mm
- Très sensibles (++) : de 15 à 19mm
- Sensibles (+) : de 8 à 14mm
- Non sensibles - : moins de 8mm

7.6. Méthode de micro-dilution en milieu liquide

Ce test en milieu liquide a pour objectif de déterminer les valeurs des paramètres antimicrobiens dont la concentration minimale inhibitrice (CMI).

La méthode décrite par **Okusa et al. (2007)**, avec une légère modification a été employée. 200 µl d'une solution préparée à partir de 2 ml de bouillon Mueller Hinton, 100 µl d'extrait (polyphénols, n-butanol, Acétate d'éthyle et tannins) des feuilles de *Echium horridum* B. et 100 µl de DMSO, sont transférés dans une microplaque à 96 puits et une gamme de concentrations de chaque huile essentielle est effectuée par des dilutions au demi dans les milieux de culture.


A partir d'une culture microbienne de 24 h d'incubation, nous avons préparé un inoculum de 10⁶ UFC/ml (pour les bactéries) et 10⁴ UFC/ml (pour la levure) dans une solution de chlorure de sodium (0,9%). Ensuite 100 µl de cet inoculum sont homogénéisés dans chaque puits de la gamme de concentrations préalablement préparée puis incubée à 30±1 °C ou 37±1 °C pendant 24 ou 48 h. Deux puits représentent les témoins négatifs : un 1er puits contient le milieu de culture et l'inoculum et un 2ème puits contient uniquement le milieu de culture. La

Partie expérimentale

concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la plus faible concentration de l'extrait capable d'inhiber toute croissance visible du germe.

Elle mesure donc, un effet bactériostatique et ne renseigne pas sur l'état de la population bactérienne, ne permettant notamment pas de préciser si elle a été tuée en partie ou totalement si elle a seulement cessé de se multiplier (**Bergogne-Bérézin et Brogard, 1999**).

La turbidité de chaque puits est appréciée à l'œil nu à la lumière du jour.



**RESULTATS
ET DISCUSSION**

1. Détermination du taux d'humidité

La détermination du taux d'humidité a été effectuée selon la méthode de **Audigié et al. (1980)**. L'analyse du taux d'humidité des feuilles de *Echium horridum* B. a révélé un taux d'humidité de 77,5% (**Figure 13**) et à partir de cette valeur a été déterminé le pourcentage de la matière sèche (MS) qui a été estimée à 22,5% .

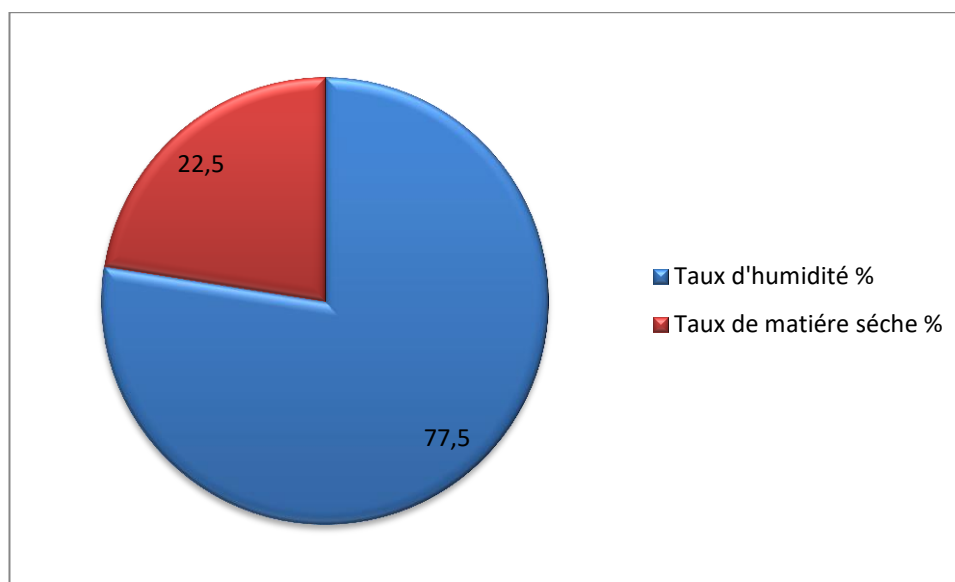


Figure 13 : Taux d'humidité des feuilles de *Echium horridum* B .

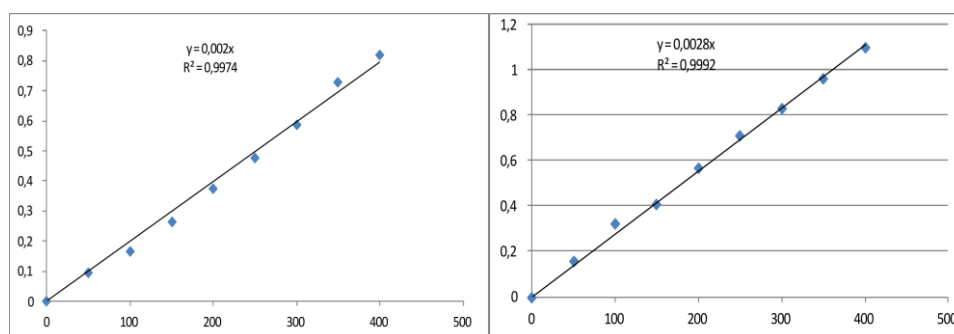
2. Rendement de l'extrait phénolique

L'extraction hydroacétométhanolique des composés phénolique des feuilles de *Echium horridum* B., nous a permis de déterminer le rendement de l'extrait phénolique qui enregistre un pourcentage de 7,33 %. Cependant, ce rendement est inférieur à ceux obtenus par **Messehel et al. (2023)** qui était de 13,2 % pour *Echium creticum* L. et **Chaouche (2009)** avec un rendement de 21,33 % pour *Echium pycnanthum* .

3. Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés

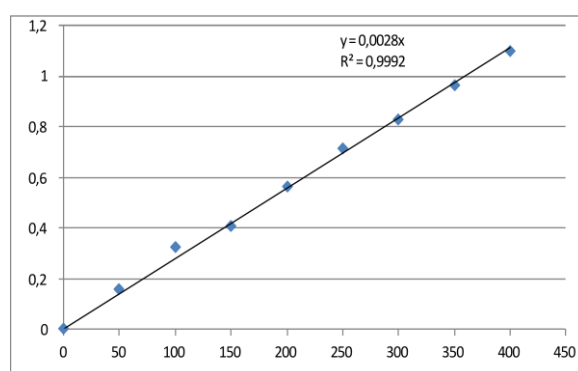
Sur la base de la valeur d'absorbance de la solution d'extrait et par comparaison avec la solution standard, les résultats de l'analyse colorimétrique des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés sont exprimés en milligramme équivalent (standard) par gramme de matière végétale sèche (mg standard E/g MS), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée à partir de l'étalon correspondant acide gallique et catéchine.

Résultats et discussion



-a-

-b-



-c-

Figure 14: Courbes d'étalonnages de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols (a), et de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes et des tanins condensés (b-c) (Tlemen, 2024).

Le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés des feuilles de *Echium horridum* B. a été déterminé selon la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu, de trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ et la méthode de vanilline en milieu acide respectivement. Les résultats sont résumés dans le (Tableau 4).

Tableau 4 : Teneurs en phénols totaux, flavonoides et tanins condensés des feuilles de *Echium horridum* B.

Feuilles <i>Echium horridum</i> B	Dosage mg /g MS
Polyphénols totaux (mg EAG/g MS)	794,25
Flavonoides (mg EC/g MS)	436,07
Tanins condensés (mg EC/g MS)	29,88

mg EAG/g MS : mg équivalent d'acide gallique/ g de la matière sèche. mg EC/g MS: mg équivalent de catéchine/g de la matière sèche.

Le tableau 4 démontre bien la richesse des feuilles de *Echium horridum* B. en molécules bioactives, notamment en polyphénols avec 794,25 mg EAG/g MS suivi par les flavonoides avec une teneur égale à 436,07 mg EC/g MS et enfin en tanins condensés avec une concentration de 29,88 mg EC/g MS.

Ces résultats sont considérablement supérieurs à ceux de **Laoufi, (2019)** et **Chaouche, (2009)** qui avaient constaté une teneur en polyphénols extraits des *Echium vulgare* et *pycnanthum* moindres avec seulement 121,63 mg EAG /g MS , 262,98 mg EAG/g MS.

De meme, nos concentrations en flavonoides dépassent largement celles rapportées par **Bendjeroudib et al. (2023)** et **Laoufi, (2019)** , qui ont découvert une concentration en flavonoides à hauteur de 0,074 mg EC/g MS dans la plante *Echium trygorrhizum*, tandis que l'extraction avec l'acétate d'éthyle de la plante *Echium vulgare* a révélé une concentration de flavonoides de 46,63 mg EC /g MS.

Enfin, l'extraction hydro-acéto-méthanolique a présenté une meilleure teneur en tanins condensé des feuilles de *Echium horridum* B. bien plus importante que celles énoncée par **Nouri, (2023)** 0,065 mg EC/g MS évaluant les tanins de *Echium trygorrhizum* .

4. Évaluation du pouvoir antimicrobien des extraits des feuilles de la plante *Echium Horridum B.*

4.1. Méthode de diffusion sur disque

La variation de l'activité antimicrobienne des extraits s'explique par les variations de leurs compositions chimiques. Il a été rapporté, qu'un extrait est considéré comme actif lorsqu'il induit une zone d'inhibition supérieure à 10 mm (Tekwu et al., 2012).

Au vu des résultats obtenus dans le Tableau 5, nous remarquons que la majorité des extraits testés ont un effet inhibiteur de la croissance de toutes les souches microbiennes testées.

Tableau 5 : Diamètre des zones d'inhibition des différents extraits des feuilles de *Echium horridum B.*

Plante étudiée	Extraits des feuilles	Diamètre des zones d'inhibition (mm)								
		Bactéries Gram +			Bactéries Gram -			Levure	Champignons	
		EF	BS	SA	EC	KP	PA	CA	AF	FO
<i>Echium Horridum B.</i>	Polyphénols	13,5	(16,49 ± 0,05)	(21,99 ± 0,05)	6	6	6	6	6	6
	flavonoïdes n-butanol	6	6	6	6	6	6	6	11	6
	flavonoïdes acétate d'éthyle	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Tanins	6	6	6	6,5	6	6	6	6	6
Antibiotiques	AMX	NT	25	26	12	6	6	NT	NT	NT
	AMP	NT	6	27	15	6	6	NT	NT	NT
	Nys	NT	NT	NT	NT	NT	NT	15	NT	NT

Ef : *Eterococcus Feacalis* ; BS : *Bacillus Subtilus* ; SA : *Staphylococcus Aureus* ; EC : *Escherichia Coli* ; KP : *Klebsilla Pneumoniae* ; PA : *Pseudomonas Aeroginosa* ; CA : *Candida Albicans* ; AF : *Aspergillus flavus* ; FO : *Fusarium oxysporum* ; AMX : Amoxicilline ; AMP : Ampicilline ; Nys : nystatine ; NT : non testé.

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait phénolique des feuilles de *Echium horridum B.* varie d'une souche à une autre. Le tableau 5 indique que les polyphénols possèdent l'activité antibactérienne la plus importante contre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, avec un diamètre de la zone d'inhibition de (21,99 ± 0,05) mm non loin de la zone

Résultats et discussion

d'inhibition des antibiotiques de référence Ampicilline et Amoxicilline avec 27 et 26 mm respectivement.

Les souches bactériennes présentent une sensibilité élevée envers les polyphénols avec des diamètres d'inhibition de $(16,49 \pm 0,05)$ mm pour *Bacillus subtilis* ATCC6633 et de 13.5 mm pour *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, et qui sont supérieurs à l'antibiotique Ampicilline qui a développé une zone d'inhibition de 6 mm.

En ce qui concerne les bactéries Gram-, *Candida albicans* et les champignons, le diamètre de la zone d'inhibition est inchangé pour tous avec 6 mm signifiant qu'il n'y a aucune sensibilité envers l'extrait phénolique des feuilles de *Echium horridum* B.

Au vu de nos données, l'activité antimicrobienne des flavonoides extraits avec le solvant n-butanol présente une sensibilité envers *Aspergillus flavus* dont le diamètre de la zone d'inhibition est égal à 11 mm. Or, les flavonoides extraits avec de l'acétate d'éthyle n'ont indiqué aucun effet antimicrobien.

Enfin, les résultats mentionnés dans le tableau 5 montrent que les souches sont résistantes à l'extrait tannique des feuilles de *Echium horridum* B.



S. aureus

E. faecalis

B. subtilis

photo 4: Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes.

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) constitue un élément essentiel de la relation entre un antibiotique et des micro-organismes. Elle se définit comme la plus petite concentration d'un antibiotique permettant d'inhiber une bactérie ou un champignon et permet de mesurer la sensibilité de l'agent pathogène à un antibiotique (Smith et al., 2020).

Résultats et discussion



photo 5: CMI des extraits des feuilles de la plante *Echium horridum* B.

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessous (Tableau 6) et (Photo 5) nous avons remarqué que cette méthode confirme les résultats obtenus avec la méthode de diffusion sur disque.

Tableau 6 : Valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits des feuilles de *Echium horridum* B .

Plante étudiée	Extraits	Bacteries (Gram +)		
		<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Echium horridum B	Polyphénols (73 mg/ml)	36,5 mg/ml	18,25 mg/ml	9,125 mg/ml

Nous avons réalisé la technique de dilution en milieu liquide qui comporte l'étape de la détermination des concentrations minimales inhibitrices CMI, dont une série de dilutions les extraits étudiés. Nous remarquons des CMI très importantes de l'ordre de 9,125 mg/ml à 36,5 mg/ml pour l'extrait phénolique. Cet extrait s'est montré efficace et actif contre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 avec une CMI de l'ordre de 9,125 mg/ml .Plus, l'extrait a un effet bactériostatique avec des CMI égales à 18,25 mg/ml ce qui le rend efficace contre *Bacillus subtilis* ATCC6633. Aussi, il est observé que l'extrait polyphénolique présente une activité bactériostatique et semble moins actif avec une CMI de 36,5 mg/ml sur *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Résultats et discussion

L'activité antimicrobienne des extraits des feuilles de *Echium horridum* B. a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque. Cette méthode permet de tester différents composés contre un seul microorganisme dans une même boîte de Pétri (**Rios et Recio, 2005**).

L'efficacité optimale de l'extrait phénolique peut être attribuée à un composant actif principal, mais plutôt à l'interaction synergique de divers composés. Les extraits ont une activité inhibitrice inférieure à celle des antibiotiques classiques utilisés, à savoir l'ampicilline et la Nystatine. Il est évident que les extraits ont une activité antibactérienne inférieure à celle des antibiotiques de référence. Cependant, ils exercent une activité antibactérienne dans la mesure où ils ne sont pas des produits purs mais des extraits (**Sökmen et al., 2012**).

L'activité antibactérienne des composés naturels s'explique par la lyse des membranes des bactéries. Les flavonoïdes et les tanins peuvent induire une fuite d'ions potassium au niveau de la membrane, ce qui entraîne des lésions irréversibles. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur mort (**Rhayour, 2002**).

Dans la présente étude, les teneurs en composés phénoliques de la plante ont été évaluées, ainsi que leur effet antimicrobien contre des souches bactériennes et fongiques. Les extraits de feuilles de *Echium horridum* B. ont été efficaces vis-à-vis des bactéries (Gram- et Gram +), et avec une activité importante de l'extrait phénolique contre *Staphylococcus aureus* et une activité plus au moins importante contre les autres souches *Enterococcus faecalis* et *Bacillus cereus*, quelques zones d'inhibition faibles, toutes inférieures à 15 mm, ont été enregistrées avec l'extrait flavonoïques envers *Aspergillus flavus* de la même plante.

Cette différence d'activité entre les extraits des feuilles de *Echium horridum* B. peut être due aux différents types de constituants antimicrobiens actifs ou à leurs concentrations.

Concernant l'activité antimicrobienne, nos résultats s'accordent avec les résultats de nombreux auteurs qui ont obtenu une activité vis-à-vis des bactéries, levures ou champignons (**Chaouche, 2009 ; Laoufi et al., 2019; Messehel et al., 2023; Bendjeroudib et Chekalil, 2023**).

Lors de l'étude réalisée par **Laoufi et al. (2019)** sur l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*Echium vulgare*, ils ont constatés que les extraits phénoliques exerçaient une forte activité sur *Candida albicans* avec une zone d'inhibition de 41 mm. Ces résultats montrent l'importance de valoriser les extraits de la partie aérienne des plantes dans le traitement des infections microbiennes. A partir des dilutions en série des différents extraits bruts, ils ont déterminé une CMI de 15,2 mg/ml contre la souche *S. aureus*.

Résultats et discussion

Selon **Chaouche, (2009)** l'analyse du pouvoir antibactérien de l'extrait brut des feuilles d'*Echium pycnanthum* a montré une activité inhibitrice sur toutes les souches bactériennes testées, avec des diamètres d'inhibition allant de 10 mm pour *Staphylococcus aureus* à 35 mm pour *Pseudomonas aeruginosa*. Par contre, la souche *Enterococcus faecalis* s'était révélée résistante à l'extrait testé. L'analyse de la CMI de l'extrait des feuilles d'*Echium pycnanthum* a montré une concentration de 120 ug/ml contre la souche de *Pseudomonas aeruginosa*.

Dans une étude ultérieure de **Messehel et al. (2023)** l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de la plante *Echium creticum* L. a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion, avec les souches bactériennes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats ont montré que l'extrait présentait une activité antibactérienne significative et variable contre les différentes souches bactériennes utilisées avec des zones d'inhibition de 15 mm et 20 mm. En revanche, les souches de *Staphylococcus aureus* ont montré une sensibilité moindre, avec une zone d'inhibition de 11 mm.

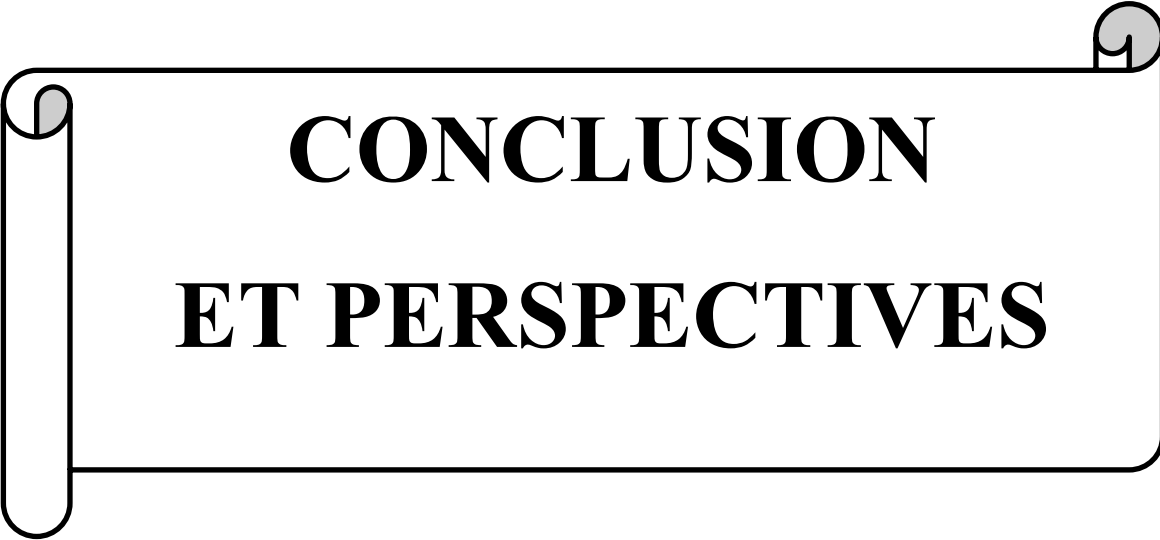
De plus, **Bendjeroudib et Chekalil, (2023)** ont réalisé une étude sur les parties aériennes de la plante *Echium trygorhizum*. L'activité antimicrobienne a été déterminée sur cinq souches bactériennes et deux champignons. L'extrait d'acétate d'éthyle a présenté une activité modérée contre plusieurs espèces bactériennes avec les zones d'inhibition entre 8,5 et 14 mm. En revanche, ce même extrait a montré une sensibilité élevée contre *Candida albicans* avec une zone d'inhibition de 15 mm. Cependant, l'extrait éthérique a montré une activité potentielle contre certaines bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 13 et 12 mm, et pour les souches fongiques, l'extrait éthérique a présenté une activité prometteuse de *Candida albicans* avec une zone d'inhibition de 14 mm mais était inactif contre *Aspergillus niger*. Par contre, l'extrait n-butanol et chloroformique ont montré des activités généralement modérées à faibles.

La variabilité des résultats de l'activité biologique des extraits végétaux peut dépendre du contenu en composés polyphénoliques, et des différents mécanismes d'action. Leur relative toxicité envers les microorganismes, est liée aux sites et aux nombre des groupements hydroxyles (**Cowan, 1999**).

L'activité antimicrobienne est liée à la polarité des substances bioactives. Les composés les moins polaires comme les flavonoïdes n'ayant pas de groupement hydroxyle OH sur leur

Résultats et discussion

cycle B sont plus actifs vis-à-vis des agents microbiens que ceux portant le groupement hydroxyle (Chabot et al., 1992).



**CONCLUSION
ET PERSPECTIVES**

Conclusion et perspectives

L'Algérie, comme tous les pays du monde, possède une biodiversité immense de plantes médicinales. Ces dernières sont devenues aujourd'hui une source naturelle de thérapie, utilisée dans plusieurs domaines, grâce à son réservoir inépuisable de métabolites primaires et secondaires.

Ces composés bioactifs sont souvent plus sûrs et mieux tolérés que les médicaments chimiques, tout en ayant des effets bénéfiques similaires, voire supérieurs, pour la santé humaine.

Dans cet axe de recherche, nous avons contribué au sein du laboratoire de recherche des produits naturels «LAPRONA», à la valorisation des feuilles d'*Echium horridum* B., en mettant en lumière la richesse de cette plante en métabolites secondaires et leur potentiel antimicrobien vis-à-vis de différentes souches bactériennes, levures et champignons.

Le rendement de l'extrait hydroacétométhanolique des feuilles d'*Echium horridum* B. a été déterminé à 7,33%.

D'une part, le dosage des phénols totaux de l'extrait hydroacétométhanolique des feuilles de *Echium horridum* B. a révélé une teneur très élevée avec 794,25 mg EAG/g MS, suivie par les flavonoïdes avec une teneur comparable égale à 436,07 mg EC/g MS et enfin les tanins condensés à hauteur de 29,88 mg EC/g MS.

D'autre part, l'activité antimicrobienne des extraits a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion, sur les souches bactériennes suivantes : *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsilla pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, la levure *Candida albicans* et les champignons *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum*.

Les résultats positifs obtenus lors de l'estimation de l'activité antimicrobienne des extraits d'*Echium horridum* B. sont en effet, très encourageants.

En effet, l'extrait phénolique, principalement, a présenté une très bonne activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* et *Bacillus subtilis* avec des zones d'inhibitions de 21,99, 16,49 et 13,5 respectivement.

En ce qui concerne les flavonoïdes extraits avec du n-butanol, une sensibilité a été observée envers *Aspergillus flavus*. En revanche, les flavonoïdes extraits avec de l'acétate d'éthyle et l'extrait tannique n'ont montré aucun effet antimicrobien.

Les CMI ont indiqué que la souche *Staphylococcus aureus* s'est révélée la plus sensible vis-à-vis de l'extrait phénolique avec une CMI égale à 9.125 mg/ml.

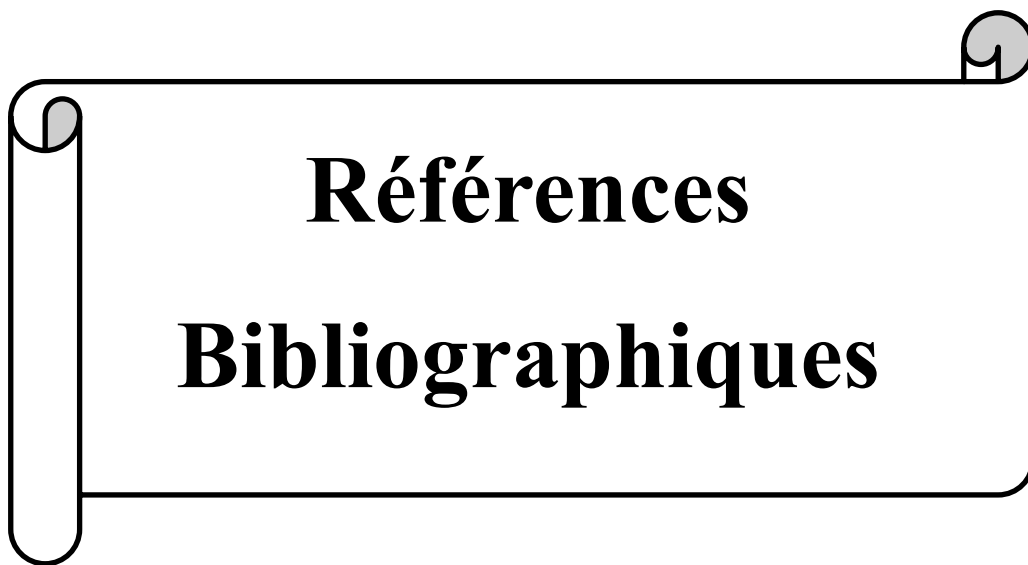
Conclusion et perspectives

Nous pouvons conclure que l'espèce *Echium horridum* B. possède une fonction biologique antimicrobienne, attribuable à la présence de composants bioactifs dans ses feuilles.

Comme perspectives nous proposons :

- D'élargir les activités biologiques : antioxydante, anti-inflammatoire et anti-ulcéreuse etc...
- De contribuer au développement de nouvelles applications dans les domaines de la médecine et de la pharmacologie.
- D'effectuer des recherches supplémentaires afin d'approfondir les connaissances sur les mécanismes d'action et d'explorer davantage le potentiel thérapeutique de cette plante.

Il serait également intéressant de réaliser d'autres études pour évaluer le potentiel antimicrobien *in vivo*.



Références

Bibliographiques

A

- **Audigie, C.L., Figarelle, J., & Zons, Z. (1980).** Manipulation d'analyses biochimiques. Ed. Doin Paris.
- **Ameenah, G. (2006).** Plantes médicinales : traditions d'hier et drogues de demain, *Molecular aspects of medicine* 27 (1).
- **Akram, A., Benchahra Aida, H.R., Aymen, K. (2022).** Etude de l'activité antibactérienne du Cyprès.

B

- **Badiaga, M. (2011).** Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali, Thèse de doctorat, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II.
- **Bakhtia, M. (2023).** PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCOTRAT 3EME CYCLE, Université de Mostaganem.
- **Bouyahya, A., Abrini, J. Bakri, Y., Dakka, N. (2018).** Les huiles essentielles comme agents anticancéreux: actualité sur le mode d'action. *Phytothérapie*, 16(5), 254.
- **Behidj-benyounes, N., Dahmane, T., Aknouche, F., & Demmouche, K. (2013).** Screening phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes des feuilles de *Peganum harmala* L. récoltées dans la région de M'sila. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 27-37.
- **Belabes, R., & Djedira, T. (2019).** Extraction des Flavonoïdes et évaluation de l'efficacité Antioxydant d'une plante algérienne, Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah-Ouargla.
- **Belyagoubi-Benhammou, N., Belyagoubi, L., Gismondi, A., Di Marco, G., Canini, A., & Atik-Bekkra, F. (2019).** Influence of plant and environment parameters on phytochemical composition and biological properties of *Pistacia atlantica* Desf. *Biochemical Systematics and Ecology*, 95, 3.
- **Belyagoubi-Benhammou, N., Belyagoubi, L., Gismondi, A., Di Marco, G., Canini, A., Atik-Bekkra, F. (2019).** GC/MS analysis, and antioxidant and antimicrobial activities of alkaloids extracted by polar and apolar solvents from the stems of *Anabasis articulata*. *Medicinal Chemistry Research*, 28, 754–767.

- **Benmahieddine, A., Belyagoubi-Benhammou, N., Belyagoubi, L., El Zerey-Belaskri, A., Gismondi, A., Di Marco, G., . Djebli, N. (2021).** Influence of plant and environment parameters on phytochemical composition and biological properties of *Pistacia atlantica* Desf. *Biochemical Systematics and Ecology*, 95, 104278.
- **Benjelloun, S., El Harchli, E. H., Amrani Joutei, K., El Ghachtouli, N., Benbrahim, F., El Yamani, J. (2014).** Etude De L'importance De La Mycorhization Dans La Synthèse Des Composés Phénoliques Chez Le Maïs En Condition De Stress Hydrique. *Int J Eng Sci*, 4(12), 43-49.
- **Benmoussa, M. T., Chérif, R. A., Lekhel, S., Boudjema, S., Harkat, H., Hadeif, Y., & Hospitalières, C. D. P. P. (2019).** Screening phytochimique et activités antioxydantes de deux plantes sahraouies algériennes, Université de Bouira.
- **Bendjeroudib, R., & Chekalil, R. (2023).** Criblage phytochimique et évaluation des activités biologiques de la plante *Echium*. [Récupéré de l'Université de Blida]
- **Bergogne-Bérézin E, Dellamonica P. (1999).** Antibiothérapie en pratique clinique. 2ème Ed. Masson. Paris. France.
- **Boumediou, A., Addoun, F. (2017).** The *Gnidia* genus: A review. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 3(19), 1-31.
- **Boulos, L. (2000).** Flore d'Egypte, 2: Géraniacées-Boraginacées. Éditions Al Hadara.
- **Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001).** Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*, 161, 839-851.
- **Bowe, L. M., & Yatskievych, G. (2016).** *Cynoglossum creticum* in the North American Flora. *Lundellia*, 19(1), 39-46.
- **Brans, A. (2015).** Les mycoses superficielles: pharmacologie des antifongiques, Thèse de doctorat, Université de Lille 2-Droit et Santé, 94p.
- **Braun, U., Bradshaw, M., Zhao, T. T., Cho, S. E., & Shin, H. D. (2018).** Taxonomy of the *Golovinomyces cynoglossi* Complex (Erysiphales, Ascomycota) Disentangled by Phylogenetic Analyses and Reassessments of Morphological Traits. *Mycobiology*, 46(3), 192–204.
- **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 3ème éd. Paris: Editions médicales internationales, éditions Tec & Doc Lavoisier.

Références bibliographiques

- **Bruneton J. (2009)**; Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e Ed.). Lavoisier ; J. B .Hárborne , & T.Swain. Perspectives in phytochemistry. Academic Press, London, New York..

C

- **Cabo Gonzalez, A. M., & Lanly, C. (1997)**. Ibn al-bayṭār et ses apports à la botanique et à la pharmacologie dans le kitāb al-ḡāmi. *Médiévales*, 23-39.
- **Călinoiu L., Vodnar D. (2018)**. Whole grains and phenolic acids: A review on bioactivity, functionality, health benefits and bioavailability. *Nutrients*. 10(11): 1615-1624
- **Chabot, S., Bel-Rhlid, R., Chenevert, R., & Piché, Y. (1992)**. Hyphal growth promotion in vitro of the VA mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* Becker et Hall, by the activity of structurally specific flavonoid compounds under CO²-enriched conditions. *New Phytologist*, 122(3) :461-467.
- **Chabrier, J. Y. (2010)**. Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie.
- **Chaouche Tank, M. (2010)**. Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques (antioxydantes et antibactériennes) des extraits de la plante *Echium pycnanthum* Pomel, Mémoire de Magister, Université Abou-Bakr-Belkaïd Tlemcen, Faculté des Sciences, Département de Biologie moléculaire.
- **Cce. (2001)**. Commission des Communautés Européennes: propositions de la commission en matière de lutte contre la résistance antimicrobienne. Bruxelles.
- **Claude, L., (2018)**. *Echium horridum*. Récupéré le 21 septembre 2018, de [Atlas Sahara](#).
- **CLSI. (2015)**. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standard-Twelfth Edition. CLSI document M02-A12. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- **Cowan, M. M. (1999)**. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4) : 564-582.

D

- **Dai J., & Mumper R. J. (2010)**. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, (15) : 7313-7352

Références bibliographiques

- **Dao, V.T. (2008).** Effets de l'environnement sur la croissance et l'accumulation de métabolites secondaires chez *Datura innoxia* Mill. cultivé en conditions hors sol. Impact des facteurs biotiques et abiotiques. Thèse de Doctorat de l'Institut national polytechnique de Lorraine. École nationale supérieure d'agronomie et des industries alimentaires.
- **Daglia, M., Spratt, D. A., Papetti, M., & Donnell, D. (2012).** Evaluation des Extraits des plantes et de champignons pour leur activité anti-carie. *Journal Biotechnol*, 10 : 11-55.
- **Deniz, J.N., & Reyes-betancort, J.A. (2008).** *Echium horridum* Batt.(Boraginaceae), novedad florística para las Islas Canarias. *Botánica Macaronésica*, (27): 133-136.
- **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006).** Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4) : 654-660.
- **Djendoubi, M. H., & Mouzgharit, A. (2023).** Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *Thymus fontanesii* vis-à-vis des souches multirésistantes d'*Escherichia coli* d'origine aviaire. Thèse de doctorat, Université Ibn Khaldoun.
- **Djannat, L. (2022).** Etude comparative du contenu en composés phénoliques chez quelques plantes médicinales. Thèse de doctorat, university center of abdalhafid boussouf-MILA.
- **Rougeaux, O. (2014).** Infectiologue, Center hospitalier de Chambéry, France.

E

- **Élie, F. (2022).** Les phénols et les polyphénols. Thèse de doctorat, Université de Paris.
- **Erenler, R., Genç, N., Elmastaş, M. & Eminağaoğlu, Ö. (2019).** Evaluation of antioxidant capacity with total phenolic content of *Galanthus krasnovii* (Amaryllidaceae). *Turkish Journal of Biodiversity*, 2 (1): 13-17.

F

- **Faye, L., & Champey, Y. (2008).** Plantes, médicaments et génétique-Quelles applications pour demain. *médecine/sciences*, 24(11) :939-946.
- **Fleurentin, J., & Hayon, J.C. (2016).** Du bon usage des plantes qui soignent. Ouest-France.

G

- **Gavira, C. (2013).** Production de terpènes fonctionnalisés par les cytochromes P450 de plantes recombinants. Thèse de doctorat, Université de Strasbourg.
- **Gandini, C. (2016).** Étude phytochimique d'une plante médicinale péruvienne *Cordia lutea* Lam ayant démontré une activité biologique contre la bactérie *Helicobacter pylori*. Thèse de doctorat, Université Toulouse III-Paul Sabatier.
- **Gecer, E. N., & Erenler, R. (2023).** Biogenic synthesis of silver nanoparticles using *Echium vulgare*: Characterisation, quantitative analysis of bioactive compounds, antioxidant activity and catalytic degradation. *Journal of the Indian Chemical Society*, 100(5) : 101003.
- **Ghazghazi H., Chedia A., Abdererazak M. et Brahim H. (2013).** Comparaison des contenus en polyphénols et de l'activité antioxydant des extraits méthanolique des quatre plantes collectées du nord de Tunisie. *Microbial.Hyg. Alim*, 73(25) : 37-41.
- **Guilfoile, P. G. (2007).** Antibiotic-resistant bacteria. Chelsea house.

H

- **Hadjer, K. E. C. I. S. (2023).** Comparaison de l'accumulation des métabolites secondaires sous les effets climatiques et des phytohormones chez *Mentha rotundifolia* L. Thèse de doctorat, University center of Abdalhafid Boussouf-MILA.
- **Hessas, T., & Simoud, S. (2018).** Contribution à l'étude de la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus* sp.

J

- **Jean-Paul .P. (2023).** Plants of the World Online. *Echium horridum* Batt. Récupéré le 22 septembre 2023, de [Plants of the World Online](#)
- **Jimoh, F. O., Adedapo, A. A., & Afolayan, A. J. (2010).** Comparison of the nutritional value and biological activities of the acetone, methanol and water extracts of the leaves of *Solanum nigrum* and *Leonotis leonorus*. *Food and Chemical Toxicology*, 48(3) : 964–971.

Références bibliographiques

- **Jin, J., Boersch, M., Nagarajan, A., Davey, A. K., & Zunk, M. (2020).** Antioxidant properties and reported ethnomedicinal use of the genus *Echium* (Boraginaceae). *Antioxidants*, 9(8) :722.
- **Jin, J., Xu, Z., & Chang, L. (2017).** Boraginaceae. Identification and Control of Common Weeds: 3, 149-161.
- **Julkunen-Titto, R. (1985).** Phenolic constituents in the leaves of Northern Willows methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 33 : 213-217.

K

- **Kitouni, M. (2007).** Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de doctorat :Microbiologie: Université Mentouri- Constantine.

L

- **Lahsissene et al. (2009).** Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of Science and Food Agriculture*, 29 :788-794
- **Laoufi, R., Bouchenak, O., Yahiaoui, K., Benhabyles, N., & Karim, A. R. A. B. (2019).** Valorisation des extraits polyphénoliques et flavonoïques de la partie aérienne d'*Echium vulgare*. *Revue des bio ressources*, 9(2) : 10-10.
- **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*.
- **Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K., & Biro, L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J. Acta. biologica. szegediensis*, 47(1-4) : 119-125.

M

Références bibliographiques

- **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
- **Madjida, M. (2022).** Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de quelques extraits d'une plante médicinale (*Aloysia citrodora* L.). Thèse de doctorat, university center of abdalhafid boussouf-MILA.
- **Messehel, L., Neche, A., & Saiaden, C. (2023).** Évaluation de l'activité biologique des différents extraits du *Echium creticum* L. et *Euphorbia bupleuroides* subsp. L. Université Mohamed Boudiaf - M'Sila
- **McSweeney, C. S., Palmer, B., McNeill, D. M., & Krause, D. O. (2001).** Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal feed science and technology*, 91(1-2): 83-93.
- **MERAD, F., Mahiout, T. (2019).** Mémoire de fin d'études.
- **Morel, J. M. (2017).** Traité pratique de Phytothérapie, Aromathérapie, Gemmothérapie. Grancher.

N

- **Nouri, A. (2023).** Etude phytochimique, toxicologique et le potentiel anti-hyperglycémiant de la plante *Echium trygorrhizum pomel* .

O

- **Ogbí Ben Hadouche, F., & Siad, H. (2017).** Criblage phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne des alcaloïdes et polyphénols de deux plantes médicinales (famille de Boraginaceae). Thèse de doctorat, Université de Bouira.
- **Ouedraogo, S., Yoda, J., Traore, T. K., Nitiema, M., Sombie, B. C., Diawara, H. Z., Semde, R. (2021).** Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. *International Journal Biological Chemical Sciences*, 15(2) : 750-772.
- **Ouassou, M., Mukhaimar, M., ElAmran, A., Kroymann, J., & Chauveau, O. (2019).** Biosynthèse des glucosinolates indoliques et rôle écologique de leurs modifications secondaires. *Comptes Rendus Biologies*, 342(3-4) :58-80.

Références bibliographiques

- **Okusa PN, Penge O, Devleeschouwer M, Duez P. (2007).** Direct and indirect antimicrobial effects and antioxidant activity of *Cordia gillettii* De Wild (Boraginaceae). *J. Ethnopharmacol*, 112 : 476–481.

P

- **Petrovska, B. (2012).** Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy reviews*, 6(11).
- **Ponce AG, Fritz R, Delvalle C, et Roura SI. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LebensmittelWissenschaft and Technologic*, 3.

R

- **Rahal, K. (2008).** Standardisation de l'Antibiogramme en Médecine Humaine à l'Échelle Nationale selon les recommandations de l'OMS, 5ème édition, éd Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière, Algérie.
- **Rahmoun, Z. (2013).** Contribution à l'Etude quantitative des polyphénols et flavonoïdes des fruits de *Capparis spinosa* L. Thèse de doctorat, University of Sétif.
- **Djoudi, R., Yahyaoui, A . (2022).** Evaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits du figuier de barbarie. Thèse de doctorat, Université de M'sila.
- **Rhayour, K. (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat, Thèse de Doctorat en Biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé; Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Maroc.
- **Rios, J. L., & Recio, M. C. (2005).** Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100 : 80-84.

S

- **Sanago, R. (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Doctoral dissertation, Université Bamako, Mali.

Références bibliographiques

- **Sakhraoui, N., Rouidi,S., & Chefrou, A. (2021).** Premier signalement d'Heliotropium amplexicaule Vahl.(Boraginaceae) dans le Nord–Est algérien. *Bull. Soc. linn. Provence*, 72, 85.
- **Sebih, F. (2020).** Pharmacognosie. Université Des Sciences Et De La Technologie Mohamed-boudiaf - Oran.
- **Singleton V.L., Rossi J.A. (1965).** Colorimetry of total phénolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*,16:144
- **Sökmen, B. B., Aydın, S., & Kınalıoğlu, K. (2012).** Antioxidant and antibacterial properties of a lichen species Diploschistes scruposus (Schreb) Norman. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 3(2) : 490-501.
- **Smith, J., & Doe, A. (2020).** La Concentration Minimale Inhibitrice : Un outil essentiel dans la lutte contre la résistance aux antibiotiques. *Journal de Microbiologie Médicale*, 35(4)
- **Sulaiman, S. A., Sajak, A. A., & Ooi, K. L. (2011).** Seaweeds: A sustainable functional food for complementary and alternative therapy. *Trends in Food Science & Technology*, 22(12) :687-698.
- **Speck, B. Fotsch, U., Fotsch, C. (2014).** Connaissance des herbes, Gingembre Zingiber officinale. *E GK-caisse de santé*. Siège principale Brislachstrasse 2 / 4242 Laufon, 4 p.

T

- **Tekwu EM, Pieme AC, Beng VP. (2012).** Investigations Of Antimicrobial Activity Of Some Cameroonian Medicinal Plant Extracts Against Bacteria And Yeast With Gastrointestinal Relevance. *Journal Of Ethnopharmacology*, 142: 265-273.
- **Tiwari, S. (2008).** Plants: A rich source of herbal medicine. *Journal of natural products*, 1(0) : 27-35

U

- **Urquiaga, I. N. E. S., & Leighton, F. (2000).** Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological research*, 33(2) : 55-64

V

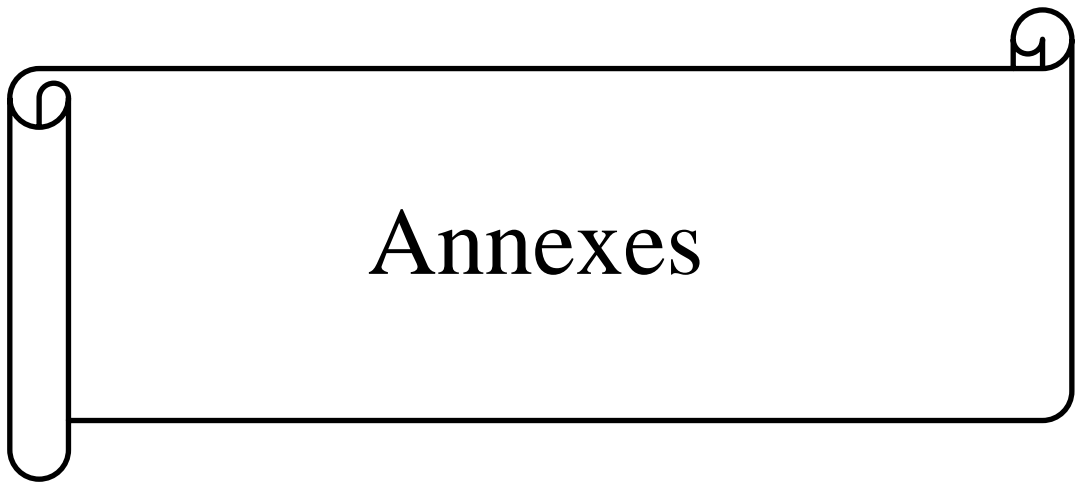
- **Vitali, L.A., Beghelli, D., BiapaNya, P.C.(2016).**Diverse biological effects of the essential oil from Iranian *Trachyspermumammi*. *Arabian J Chem*, 9(6): 775-786

W

- **Wang, J. Y., Zhang, J. Z., & Lin, C. L. (2010).** The study of antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from the freshwater fish [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 10.
- **Wichtl, M., Anton, R. (2003).** *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales*. 2ème édition. Lavoisier Technique & Documentation. Paris, pp. 278-279.

Z

- **Zarga, M. A. (2021).** Antibacterial activity of some medicinal plants used in folk medicine. *Journal of Bacteriology Research*, 3(1) : 6-13.
- **Zhenghao, Xu ., Chang, L., Xu, Z., & Chang, L. (2017).** Boraginaceae. *Identification and Control of Common Weeds*, 3: 149-161.



Les souches	1ere essai	2eme essai	l'ecart type
<i>Enterococcus Fealacis</i>	13	14	13,5
<i>Bacillus Subtilis</i>	18,33	14,66	16,495
<i>Staphylococcus Aureus</i>	14,66	29,33	21,995

Summary

Echium horridum B is a medicinal plant used for its therapeutic properties. The aim of this study is to evaluate the antimicrobial activity of phenolic, flavonoid, and tannin extracts from *Echium horridum* B leaves.

The hydroacetomethanolic extract of *Echium horridum* B leaves showed a yield of 7.33%. Results indicated that the polyphenol content, determined using the Folin-Ciocalteu reagent, was higher at 794.25 mg GAE/g DW for the hydroacetomethanolic extract of *Echium horridum* B leaves. Flavonoids were assessed using the aluminum chloride (AlCl₃) method, yielding 436.07 mg EC/g DW for the extract from *Echium horridum* B leaves. Condensed tannins were evaluated using the vanillin method, showing an approximate content of 29.88 mg EC/g DW for the *Echium horridum* B extract.

The antimicrobial activity of the extracts was assessed by measuring the diameter of inhibition zones around discs containing the extracts against the following strains: *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, and *Fusarium oxysporum*.

Results indicated that the phenolic extract exhibited strong antibacterial activity, particularly against *Staphylococcus aureus*, with an inhibition zone of 21.99 mm. The bacterial strains also showed high sensitivity, with inhibition zones of 13.5 mm for *Enterococcus faecalis* and 16.49 mm for *Bacillus subtilis*, but no antifungal effect was observed. Regarding flavonoid extracts using n-butanol, sensitivity was observed against *Aspergillus flavus*, with an inhibition zone of 11 mm. In contrast, flavonoid extracts using ethyl acetate and the tannin extract showed no antimicrobial effect.

This study concludes that *Echium horridum* B leaves represent a promising resource worthy of exploration in various fields, particularly in health, due to their biological values

ملخص

نبات *Echium horridum* B هو نبات طبي يُستخدم لخصائصه العلاجية. الهدف من الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات الفينولية والفلانوية والتانينية من أوراق نبات *Echium horridum* B. أظهرت النتائج أن محتوى البوليفينول، الذي تم تحديده باستخدام مفعول فولين-سيوكالتيو، كان أعلى بقيمة 794.25 ملغ من مكافئ حمض الغاليك لكل غرام من الجاف للمستخلص المائي-الأسيتوميثانولي من أوراق *Echium horridum* B. تم تقييم الفلافونويدات باستخدام طريقة كلوريد الألومنيوم (AlCl₃)، وكان محتواها يبلغ 436.07 ملغ من مكافئ كويرسيتين لكل غرام من الجاف لمستخلص أوراق *Echium horridum* B. تم تقييم التانينات المكتنفة باستخدام طريقة الفانيلين، وأظهر مستخلص *Echium horridum* B محتوى يقدر بحوالي 29.88 ملغ من مكافئ كاتيك لكل غرام من الجاف. تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات من خلال قياس قطر منطقة التثبيط حول الأقراص المحتوية على المستخلصات المختبرة ضد السلالات التالية: *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, و *Fusarium oxysporum*. أظهرت النتائج أن المستخلص الفينولي أظهر نشاطاً مضاداً قوياً ضد البكتيريا، خاصة ضد *Staphylococcus aureus* بمنطقة تثبيط تبلغ 21.99 ملم. كما أظهرت السلالات البكتيرية حساسية عالية، مع مناطق تثبيط بقيمة تبلغ 13.5 ملم ل *Enterococcus faecalis* و 16.49 ملم ل *Bacillus subtilis*، لكن لم يُلاحظ أي تأثير مضاد للفطريات. بالنسبة للفلافونويدات المستخلصة باستخدام n-butanol، تم ملاحظة حساسية ضد *Aspergillus flavus* بمنطقة تثبيط تبلغ 11 ملم. على الجانب الآخر، لم يظهر المستخلص الفلافونويدات باستخدام الأسيتات الإيثيلي والمستخلص التاني أي تأثير مضاد للميكروبات. أسفرت هذه الدراسة عن استنتاج أن أوراق نبات *Echium horridum* B تمثل مصدراً واعداً يستحق الاستكشاف في مجالات متعددة، خاصة في مجال الصحة، نظراً لقيمتها البيولوجية المميزة.

Résumé

Echium horridum B est une plante médicinale utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Le but du travail est d'évaluer le pouvoir antimicrobien des extraits phénoliques, flavoniques et tanniques des feuilles de *Echium horridum* B.

L'extrait hydroacétométhanolique des feuilles d'*Echium horridum* B présente un rendement de 7,33%. Les résultats obtenus ont montré que la teneur en polyphénol qui a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu est plus élevée 794,25 mg EAG/g MS pour l'extrait hydroacétométhanolique des feuilles de *Echium horridum* B. Les flavonoïdes ont été évalués en utilisant la méthode de trichlorure d'Aluminium (AlCl₃), leur teneur est de 436,07 mg EC/g MS pour l'extrait des feuilles de *Echium horridum* B. On a évalué les tanins condensés en utilisant la méthode de vanilline, et l'extrait de *Echium horridum* B a donné une teneur d'environ 29,88 mg EC/g MS.

L'activité antimicrobienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis des souches suivantes : *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum*.

Les résultats ont montré que l'extrait phénolique a présenté une forte activité antibactérienne, en particulier contre *Staphylococcus aureus*, avec une zone d'inhibition de 21,99 mm. Les souches bactériennes ont également montré une sensibilité élevée, avec des zones d'inhibition de 13,5 mm pour *Enterococcus faecalis* et de 16,49 mm pour *Bacillus subtilis*, mais il n'y avait aucun effet antifongique. En ce qui concerne les flavonoïdes extraits avec du n-butanol, une sensibilité a été observée envers *Aspergillus flavus*, avec une zone d'inhibition de 11 mm. En revanche, les flavonoïdes extraits avec de l'acétate d'éthyle et l'extrait tannique n'ont montré aucun effet antimicrobien.

Cette étude a permis de déduire que les feuilles de *Echium horridum* B constituent une ressource intéressante qui mérite d'être exploitée dans divers domaines, dont celui de la santé, en raison de ses valeurs biologiques.