

MAST-579-28 / 02

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Tlemcen

Faculté des sciences de la nature, vie, terre et univers

Département de biologie



Inscrit Sous le N°:
Date:	2013 <i>juin</i> 17
Cote:	7304

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

« En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie »

Option : Microbiologie

Thème

**Contribution à l'étude du pouvoir antimicrobien
des extraits de feuilles de *Pergularia tomentosa L.*
de la région d'Adrar.**

Présenté par :

M^{elle}. BOUHMAMA Amina

Soutenu le : 02/05 /2013



Devant le Jury :

Présidente	M ^{me} . BENDIMERAD .N	Maitre assistante classe A
Examineur	Mr. BAGHDAD,C. M	Maitre de conférences.
Promotrice	M ^{me} BENSALAH F.Z	Maitre assistante classe A

Année Universitaire : 2012-2013

Remerciement

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à Mme BENSALAH F, Maitre assistante à la faculté des sciences Université de Tlemcen, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il m'accordé m'ont permet de réaliser ce travail.

J'exprime mes vifs remerciements à M^{me} BENDIMERAD .N. Maitre assistante classe A à la faculté des sciences Université de Tlemcen pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à Mr.BAGHDAD, C. M, maitre de conférences à la faculté de médecine Université de Tlemcen pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de faire partie de jury.

Mes vifs remerciements vont également à Mr Brixi, maitre assistant à la faculté des sciences, université de Tlemcen pour son aide.

Très nombreux sont les gents qui, de près ou de loin, ont participé à la réalisation de ce travail, tout en nous excusant auprès d'eux de ne pas citer, nous leur exprime nos vives reconnaissance.



Dédicace

Mon père que dieu le bénisse et le fait dans son vaste paradis.

Ma très chère maman pour son soutien moral, pour l'amour qu'il m'a porté et pour ses sacrifices.

*A tous les membres de la famille **Bouhmama**: frères, sœurs, grand mère, grand père, tantes, tontons, cousines et cousins. A cette occasion, je voudrais exprime toute ma reconnaissance à mes frères : Abderezzak, mohamed.*

Ma très chère cousine (sœurs) Sarra,

A mon cher époux Ismail Bennaceur, pour sa présence, son aide sa tolérance, je n'aurai pas pu le mener bien sans son soutien.

Je clos ces remerciements en dédiant ce travail au peu d'amies que eus la chance d'avoir à mes cotés, qui m'ont soutenue tout au long de cette année en particulier : Batoul, Amina, Marwa, Affaf, Siham, Sarra. Diden, Mounaim.

A toute la promotion du 2^{ème} année Master Microbiologie., aux merveilleux moments passés, aux souvenirs qu'on gardera toujours. A toutes les personnes qui me sont chères.

Liste des figures

Figure 1: <i>Pergularia tomentosa</i> L	4
Figure 2 : les fruits de <i>Pergularia tomentosa</i> L	5
Figure3.Squelette de base des flavonoïdes (Bruneton, 1999).....	14
Figure 4: Structure chimique de certains flavonoïdes	15
Figure 6.Structure des tanins condensés (Bruneton, 1999)	21
Figure7 : Diagramme des tests phytochimiques réalisés sur la feuille de <i>P. tomentosa</i> L. (Trease et Evans, 1987)	28
Figure 08: Rendement massique des tanins, des flavonoïdes et des alcaloïdes.....	38
Figure 9: Diamètre des zones d'inhibition relative aux souches testées.....	40
Figure 10: Diamètres des zones d'inhibitions des extraits testés relatifs aux souches bactériennes et la levure.....	41
Figure11: Moyenne des zones d'inhibitions relative aux différents champignons.....	43
Figure 12: pourcentage d'inhibition des extraits sur la croissance des souches fongiques.....	44

Liste des tableaux

Tableau n°1 : Classification de <i>Pergularia tomentosa</i>	5
Tableau n°2 : composition en métabolites primaire des différentes parties de <i>Pergularia tomentosa</i>	10
Tableau n°3: Composition en sels minéraux de <i>Pergularia tomentosa</i>	10
Tableau n°4 : composition en métabolites secondaires des différents organes de <i>Pergularia tomentosa</i>	11
Tableau 05 : Principaux composés phénoliques	13
Tableau 6 : Structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe	16
Tableau 7. Sources alimentaires des flavonoïdes	17
Tableau N° 8: Origine des souches utilisées.....	29
Tableau N° 9 : Les antibiotiques utilisés	31
Tableau 10: Résultats des tests phytochimique de feuille de <i>Pergularia tomentosa</i>	33

Sommaire

Introduction.....	8
Chapitre I : Synthèse Bibliographique.....	3
I.1. Appellation	4
I.2. Les caractères botaniques de <i>Pergularia tomentosa</i> L	4
I.3. Classification.....	5
I.4. Aire géographique	6
1.5. Usage	6
I.6. Activités biologiques de <i>Pergularia tomentosa</i> L	7
1.6.1. Activité anti microbiennes	7
1.6.2. Activité anti oxydante	7
1.6.3. L'activité molluscicide	7
1.6.4. Activité cytotoxique	7
Chapitre II : Synthèse Bibliographique	9
II.1. Introduction	10
II.2. Les métabolites primaires.....	10
II.3. Les métabolites secondaires.....	11
II.3.1. Les composés phénoliques	12
II.3.1.1. Les flavonoïdes	14
II.3.1.2. Les Tanins	19
II.3.1.3. Les alcaloïdes	23

II.3.1.4.Les caroténoïdes	23
Matériel et Méthodes	23
1. Récolte et préparation des échantillons	26
2. Détermination de la teneur en eau : (Audigie <i>et al.</i> , 1980)	26
I-Tests phytochimiques (Trease et Evans, 1987)	27
II- Extraction sélectives	30
III- L'activité antimicrobienne des composés phénoliques	32
III.1. Origine des germes	32
III.2. les milieux de culture	33
III.3. le pouvoir antimicrobien	33
III.3.1. préparation de l'inoculum des souches étudiées	33
III.3.2. Sensibilité des souches	33
IV. pouvoir antifongique des moisissures.....	35
IV.1. les moisissures	35
IV.2. Antifongigramme	35
IV.3. pouvoir antifongique des extraits phénolique	35
Résultats et Interprétations	33
1. Teneur en eau	37
2. Tests phytochimiques	37
3. Extractions sélectives	38
I.Bactéries et levures.....	40

I.1. Antibiogramme.	40
I.2. Pouvoir antimicrobien des extrait phénolique.	41
II.Champignons	43
II.1. Pouvoir antimicrobien de l'antifongique,	43
II.2. Pouvoir antifongique des extraits phénoliques.	43
Conclusion	42
Références Bibliographique.....	43
Annexe.....	56

Introduction

Un grand nombre de plantes possèdent des propriétés biologiques très intéressantes qui trouvent des applications dans divers domaines à savoir médecine, pharmacie, cosmétologie, agriculture (**Baharum., 1997**). L'homme utilise les plantes comme une source principale de nourriture, et avec le temps il a découvert qu'il peut les utiliser comme médicaments et remèdes afin de soigner les différentes maladies, jusqu'à maintenant les plantes sont encore destinées à la santé humaine.

On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques, il est difficile de définir les molécules responsables de l'action pharmacologique (**Baharum., 1997**).

Actuellement plus de 80 % de la population africaine ont recours aux drogues faites essentiellement de matières végétales qui poussent autour de leur ville. En plus dans le monde, près de 25% des prescriptions sont à base de plantes et 60 à 70% des médicaments antibactériens et anticancéreux sont des substances d'origine naturelle (**Diallo., 2005**).

Au cours de ses dernières années, plusieurs raisons ont mené au rétablissement de l'usage des plantes médicinales. Elles sont d'abord d'un coût inférieur aux médicaments de synthèse, aussi bien elles arrivent à un moment où le public est désillusionné devant la médecine moderne, laquelle en effet il n'a plus trouvé remède à tous les maux, en plus de se buter à une résistance accrue des agents pathogènes et à une panoplie d'effets secondaires liés à l'usage des médicaments de synthèse.

La résistance aux antibiotiques et l'apparition de la toxicité au cours du traitement prolongé avec des médicaments actuels ont été les raisons de recherche étendue pour les nouveaux médicaments pour traiter les infections microbiennes (**Fostel et Lartey., 2000**).

La recherche des principes actifs extraits des plantes est donc d'intérêt capital puisqu'elle a permis la découverte de nouveaux remèdes thérapeutiques.

Ce travail s'inscrit dans le cadre général des travaux visant la valorisation des ressources naturelles à activité antimicrobienne. On s'est proposé alors d'étudier une espèce appartenant à la famille des asclépiadacées, *pergularia tomentosa L.*

Notre étude sera donc répartie en deux chapitres, initiés par une recherche bibliographique où nous apportons :

➤ Présentation botanique de la plante et sa répartition géographique.

Sa phytochimie de la plante et les propriétés biologiques des grandes familles de métabolites secondaires des plants qui sont doués d'activités pharmacologiques à savoir :

Les flavonoïdes, les tanins.

La partie expérimentale :

- ✓ Extraction des composés phénoliques de la partie aérienne et des racines de *Pergularia tomentosa*.
- ✓ Evaluation des activités antimicrobiennes des composés phénoliques de *Pergularia tomentosa*

Chapitre I

Synthèse Bibliographique

I.1. Appellation :

Cette espèce est également connue sous une dénomination synonyme : *Daemia cordata*. En Algérie *pergularia tomentosa* L est connue sous le nom de tellakh, sellaha (Berbère) (Boulos., 1995), au Maroc elle est appelée el-halga, sollahâ (Bellakhdar.,1978).

I.2. Les caractères botaniques de *Pergularia tomentosa* L :

Pergularia tomentosa L est une plante herbacée ou semi-ligneuse, tomenteuse à l'état jeune, les tiges volubiles entièrement pubescentes.

Les feuilles ovoïdes cordées inflorescences corymbiformes longuement pédonculées.



Figure 1: *Pergularia tomentosa* L.

[www.saharanature.com/plantes.php?aff=nom&plante=pergularia tomentosa](http://www.saharanature.com/plantes.php?aff=nom&plante=pergularia_tomentosa)

Fleurs longuement pédicellées vert brunâtre de 10-12 mm. Corolle 5 lobée, cupuliforme à tube court. Paracorolle double, l'extérieure annuliforme 5-10 lobes, l'intérieure à 5 pièces éperonnées libres. Follicules ovoïdes aigus 5-7x3-5 mm. (Quezel et Santa., 1963).



Figure 2 : les fruits de *Pergularia tomentosa* L

[www.saharanature.com/plantes.php?aff=nom&plante=pergularia tomentosa](http://www.saharanature.com/plantes.php?aff=nom&plante=pergularia%20tomentosa)

I.3. Classification:

Selon (AMANI et BARMO ., 2010), la classification de *Pergularia tomentosa* est représentée comme suit (tableau1) :

Tableau n°1 : Classification de *Pergularia tomentosa*

TAXONOMIE	DESCRIPTION
Règne	Végétal
Embranchement	Spermatophyte
Classe	dicotylédones ou magnoliopsida
Sous classe	rosidae
Ordre	gentianale
Famille	Asclépiadacées
Genres	<i>Pergularia</i>
Espèce	<i>Pergularia tomentosa</i> L

I.4. Aire géographique :

Pergularia tomentosa est une plante vivace des pays secs. Elle pousse sur les sols généralement sableux et couvre de vastes régions allant du sud Algérien jusqu'en Afrique du Nord. **Saadou en 1990** a révélé sa présence dans quatre compartiments phytogéographiques qui vont du climat sud-sahélien au climat nord-sahélien. Elle fleurit en saison sèche. Sa souche vivace pousse en saison des pluies et donne une plante feuillue. La dissémination des semences se fait par anémochorie.

1.5. Usage :

- Les parties les plus utilisables sont : Le latex, les feuilles et les racines qui sont généralement
- recueillie dans le printemps, sont préparés comme une infusion, décoction, poudre et mélangé avec d'autres plantes, et pris par voie orale ou utilisé à l'extérieur.
- Cette plante est utilisée pour le tannage, écrasée et étalée sur la peau. Elle fait tomber les poils rapidement. A cet effet on pile la plante et on étend la pâte ainsi obtenue sur la peau: après quelques heures de contact un simple grattage fait tomber très facilement les poils.
- En application, le lait contenu dans la plante fait sortir les épines de la peau.
- Plante également utilisée contre les morsures de serpent.
- Cette plante est peu consommée à l'état vert parce qu'elle entraîne des intoxications (**Maman., 2003**).
- *Pergularia tomentosa* entraîne la disparition ou la rareté des espèces telles *Schoenefeldia gracilis*, *Alysicarpus ovalifolius*, *Brachiaria rmosa* qui sont toutes de bonnes plantes fourragères.
- D'après **HAMIDOUN 1952** les morsures vénéneuses sont lavées avec de l'eau dans laquelle on a fait tremper des feuilles et des tiges pilées de *Pergularia tomentosa*,
- L'augmentation de potassium alimentaire diminue la pression artérielle chez l'homme et réduit le risque d'accident vasculaire cérébral. Ainsi, le maintien d'un apport élevé en potassium peut être atteint en consommant les tiges et les racines de *P. tomentosa*. (**Hassan et Umar., 2007**)
- La plante est aussi utilisée contre les bronchites et les hémoptysies et la tuberculose, a cet effet on récolte la racine et on la conserve fraîche à l'abri de l'air.
- à l'état sec elle est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter les douleurs dentaires et la fatigue générale.
- Elle constitue aussi un palliatif alimentaire pour le bétail pendant les moments difficiles de

l'année. En perspective, la valorisation de cette espèce peut se diversifier lorsqu'on envisage son incorporation à une proportion acceptable dans la formulation des aliments pour bétail (Maman., 2003).

I.6. Activités biologiques de *Pergularia tomentosa* L :

1.6.1. Activité anti microbiennes :

D'après Hassan et Umar 2007, les extrait de *P.tomentosa* inhibe les champignons comme : *Trichophyton rubrum*, *Microsporium gypseum*, *Aspergillus Niger* et *Aspergillus flavus*

Le mécanisme d'action des extraits de *P. tomentosa* contre les pathogènes fongiques peut être due à l'inhibition de la paroi des cellules fongique.

Les flavonoïdes ont une forte activité antimicrobienne (Özcelik et al., 2008). Ils peuvent inhiber des *Streptococcus mutans* et d'autres bactéries (Koo et al., 2002).

1.6.2. Activité anti oxydante :

D'après Talwar et al., 1989, les magnésiums sont des micronutriments antioxydants et leurs présence pourrait donc stimuler le système immunitaire, et aide à éliminer les carences en magnésium qui pourraient conduire à de graves troubles métaboliques et de compromettre la santé de l'organisme.

1.6.3. L'activité molluscicide :

Les Cardénolides de *Pergularia tomentosa* trouvés dans ces extrait sont toxiques pour les escargots terrestres (Hussein et al., 1994), et aussi pour les mammifères (Davies et Whyte., 1989; Galey et al., 1996).

1.6.4. Activité cytotoxique :

Huit glycosides cardénolides ont été isolés à partir des racines de *Pergularia tomentosa* pour étudier l'activité potentielle contre les cancers, ces composés testés in vitro ont montré l'inhibition de croissance de cellule de différentes lignées cellulaires cancéreuses humaines, et pour leur capacité à inhiber la Na⁺ / K⁺-ATPase, (Piacente., 2009).

Les résultats obtenus suggèrent que les caractéristiques structurales des cardénolides étudiés ont des propriétés spécifiques cytotoxiques. **(Piacente et Masullo., 2009).**

Chapitre II
Synthèse Bibliographique

II.1. Introduction :

L'étude phytochimique permet la détection des classes de composés existants dans les différents organes de la plante (racine, tige, pulpe, feuille, noyau).

Les substances actives des plantes médicinales sont de deux types : métabolites primaires et secondaires.

II.2. Les métabolites primaires:

Sont directement impliqués dans les processus indispensables au développement normal et à la reproduction de la cellule de l'organisme : les glucides, les lipides, les protéines (catherien ., 2004).

Tableau n°2 : composition en métabolites primaire des différentes parties de *Pergularia tomentosa* (Hassan et Umar 2007)

Organe végétal	Lipides %	Protéines brute %	Carbohydrates %
Feuilles	6.83±0.76	6.39 ±0.17	53.27±1.75
Racines	2.67±0.29	3.35±0.48	61.31±2.84
Tiges	2.17±0.76	4.74±0.14	56.92±1.27

Tableau n°3: Composition en sels minéraux de *Pergularia tomentosa*

Organe végétale	Phosphore (ppm)	Potassium (ppm)	Sodium (ppm)	Magnésium%	Calcium%
Feuilles	1.85±0.05	2.97±0.210	4.13±0.31	0.32±0.060	0.25±0.010
Racines	8.13±0.06	167.30±5.03	2.33±0.15	0.25±0.008	0.08±0.003
Tiges	7.07±0.06	215.0±10.00	2.03±0.15	0.15±0.030	0.16±0.010

II.3. Les métabolites secondaires:

Les métabolites secondaires sont des produits à structures chimiques souvent complexes, très dispersés et différents selon les espèces ; ils sont produits en très faibles quantités, ils existent plus de 20 000 métabolites secondaires classés selon leurs structures chimiques (**Fouche et al., 2000**). Se sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques où améliorent l'efficacité de reproduction.

Pergularia tomentosa est connu par son contenu en molécules biologiquement actives tels que les polyphénols : flavonoïdes, tanins, glycosides cardiaques, les glycosides cyanogènes, des saponines, des flavonoïdes, des tanins. (**Hassan, Umar, Lawal et Ebbon., 2007**.)

Tableau n°4 : composition en métabolites secondaires des différents organes de *Pergularia tomentosa*. (**Hassan et Umar., 2007**)

Organe végétale	Métabolites secondaires
Feuilles	alcaloïdes, glycosides cardiaques, les glycosides cyanogènes, des saponines, des flavonoïdes, des tanins
Tiges	alcaloïdes, glycosides cardiaques, les glycosides cyanogènes, des saponines, des flavonoïdes, des tanins.
Racines	Glycosides cyanogènes Glycosides cardiaques Des saponines, des tanins

II.3.1. Les composés phénoliques :

a. Généralités:

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux, caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec des glucides. La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (**Macheix et al., 2005**). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées, ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits, graines et bois), et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines et la maturation des fruits (**Boizot et Charpentier., 2006**).

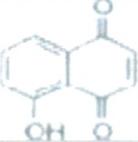
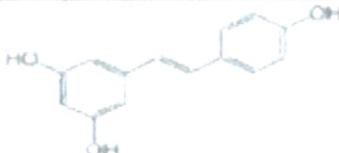
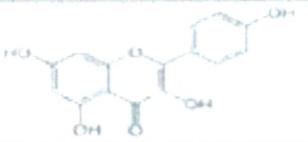
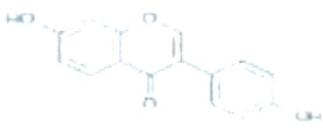
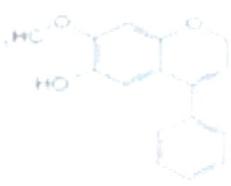
Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes, ces substances participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (**Macheix et al., 2005**).

Les composés phénoliques ont beaucoup d'activités biologiques : les activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antivirales, antiallergiques, antiulcéreuses (**Ahn et al., 2008**).

b. Classification :

Les principales classes des composants phénoliques sont : les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide ferulique, acide chlorogénique...), les flavonoïdes, les tanins, et les coumarines (**King et Young., 1999 ; Tapiero et al., 2002**).

Tableau 05 : Principaux composés phénoliques (Bruneton ., 1999 ; Macheix et al., 2005)

Squelette carboné	Classe	Formule
C6	Phénols simples	
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	
	Coumarines	
C6-C4	Naphtoquinones	
C6-C2-C6	Stilbénoides	
C6-C3-C6	Flavonoïdes	
	Isoflavonoïdes	
	Néoflavonoïdes	
(C6-C3) ₂	Lignanes	
(C6-C3-C6) _n	Tanins	Structures très complexes

II.3.1.1. Les flavonoïdes :

A. Définition :

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs et des fruits (**Ghestem et al., 2001**). On les trouve d'une manière très générale dans toutes les plantes vasculaires où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles (**Marfak., 2003 ; Hadi., 2004**).

B. Découverte des flavonoïdes :

L'intérêt nutritionnel pour les flavonoïdes, date de la découverte de la vitamine C à la suite des travaux de Szent Gyorgyi (**prix Nobel., 1937**) (**Marfak., 2003**), qui a constaté que les symptômes hémorragiques du scorbut liés à la fragilité ou l'hyperperméabilité des vaisseaux, étaient guéris par des extraits de paprika ou de jus de citron riche en vitamine C et des flavonoïdes (**Marfak.,2003 ; Hadi.,2004**).Alors que l'acide ascorbique seul est inefficace.

Les analyses chimiques ont montré que la fraction active était de nature flavonoïque (**Hadi., 2004**).

C. Structure chimique et classification :

De nos jours, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés et isolés à partir des milliers des espèces végétales (**Forkmann et al., 2001 ;Yanez et al.,2007**) et possèdent tout un même squelette de base à quinze atomes de carbones constitué de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (**figure3**) (**Bruneton., 1999**)

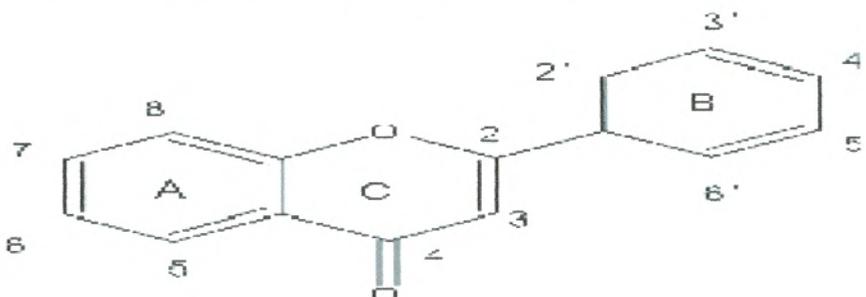


Figure3.Squelette de base des flavonoïdes (**Bruneton., 1999**)

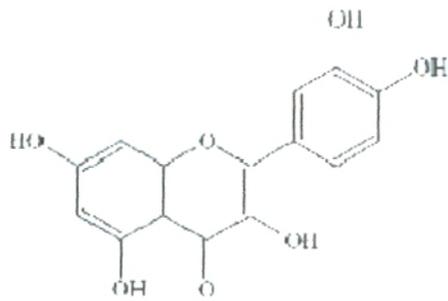


Figure A. Structure chimique de la quercétine

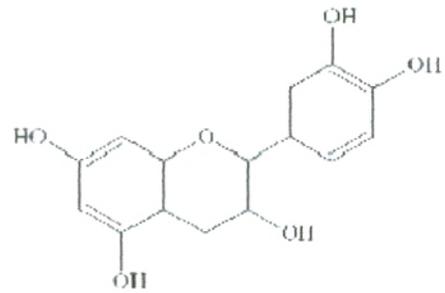


Figure B. Structure chimique de la catéchine

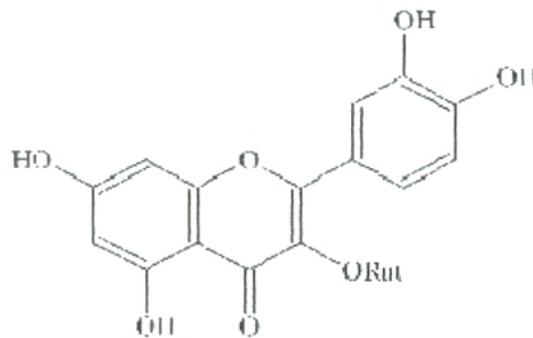


Figure C. Structure chimique de la rutine

Figure 4: Structure chimique de certains flavonoïdes

A l'état naturel, on trouve très souvent des flavonoïdes sous forme d'hétérosides (Marfak.,2003, Ghestem et al., 2001). C'est-à dire des dérivés de génines sur lesquelles un ou plusieurs oses sont greffés (Hadi., 2004).

Selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, ils peuvent être subdivisés en

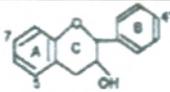
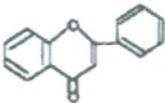
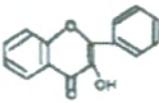
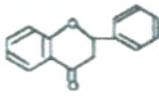
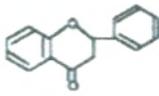
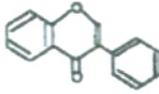
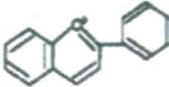
Plusieurs classes dont les plus importantes sont :

- Flavones,
- Flavonols,
- Flavanones,
- Dihydroflavonols, Isoflavones,
- Isoflavon,
- Flavanes,
- Flavanols et anthocyanines.

De plus, le noyau pyranique central peut être ouvert (chalcones) et recyclisé en un noyau

furanique (aurones) (Bruneton.,1999 ;Marfak., 2003 ;Skerget et al.,2005).

Tableau 6. Structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe (Heim et al., 2002)

Classe	structure générale	flavonoïdes typiques	Substituants
Flavanol		(+)-catechin (-)-epicatechin Epigallocatechin gallate	3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,3',4',5'-OH,3-gallate
Flavone		chrysin apigenin rutin	5,7-OH 5,7,4'-OH 5,7,3',4'-OH, 3-rutinoside
Flavonol		kaempferol quercetin	3,5,7,4'-OH 3,5,7,3',4'-OH
Flavanone (dihydroflavon)		myricetin tamarixetin	3,5,7,3',4',5'-OH 3,5,7,3'-OH,4'-OMe
Flavanone (dihydroflavon)		naringin naringenin taxifolin eriodictyol hesperidin	5,4'-OH,7-rhamnoglucose 5,7,4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 5,7,3',4'-OH 3,5,3'-OH,4'-OMe, 7-rutinoside
Isoflavone		genistin genistein daidzin daidzein	5,4'-OH, 7-glucose 5,7,4'-OH 4'-OH, 7-glucose 7,4'-OH
Anthocyanidin		apigenidin cyanidin	5,7,4'-OH 3,5,7,4'-OH,3,5-OMe

D. Distribution et localisation :

Selon Hadi., 2004 les flavonoïdes sont largement rencontrés dans le règne végétal, ils sont cependant rares chez les végétaux inférieurs. Par contre, ils sont rencontrés en abondance dans les familles suivantes :

- Polygonacees -Apiacees
- Rutacees -Asteracees
- Legumineuses

D'ailleurs, ils sont largement abondants dans les légumes à feuilles (salade, choux, épinards etc.) Ainsi que dans les téguments externes des fruits (Marfak., 2003).

Récemment de nombreux travaux ont montré que les fruits, les légumes, le thé, le soja constituent les sources alimentaires des flavonoïdes les plus étudiées (Gervais., 2001 ; Pelli et Lyly ., 2003 ; Cabrera et al., 2007). D'après Pelli et Lyly., 2003, les colorants des baies fortement colorées telles que les baies rouges, les myrtilles et le cassis, sont des flavonoïdes appelés anthocyanes. Ils peuvent jouer un rôle dans la prévention des cardiopathies.

Les flavanones ont été aussi reportés en tomates, cacahouète et certaines herbes comme le menthe, le thym (Yanez et al., 2007).

Dans une recherche faite par Gervais (2001), il a été estimé que la consommation actuelle de flavonoïdes dans l'alimentation nord – américaine serait de 10 à 100 mg par jour. Les principales sources sont le thé, les oignons, les pommes et les agrumes. Le tableau suivant regroupe la distribution nutritionnelle de certains flavonoïdes.

Tableau7. Sources alimentaires des flavonoïdes (Marfak., 2003).

Flavonoïdes	Aliments
Flavanones naringénine	fruits du genre citrus
Flavones chrysin apigénine lutéoline	-peau des fruits -persil, thym, romarin, céleri -persil
Flavonols kaempférol quercétine myricétine	-radis, brocoli, thé noir -oignon, pomme, olive, tomate -canneberge
Flavan-3-ols épicatéchine catéchine	-Thé vert, thé noir -Thé vert. Thé noir
Anthocyanidols cyanidol malvidol apigénidol	-Cassis, myrtilles -Raisin, fraises, cassis -Framboises, fraise

Le monde animal est lui aussi concerné par les flavonoïdes : la chrysin, la quercétine et la galangine se trouvent dans la propolis des abeilles. Ces insectes les synthétisent à partir des sécrétions de bourgeons de nombreux arbres comme le bouleau, le sapin et les modifient grâce à leurs enzymes salivaires (**Marfak., 2003**).

En ce qui concerne la localisation, selon Hadi en 2004, les flavonoïdes sous forme d'hétérosides au niveau cellulaire sont dissous dans le suc vacuolaire ou localisés dans les chloroplastes et les membranes des végétaux. De plus, leur localisation au sein de la plante est caractéristique. En effet, les flavonoïdes se répartissent volontiers dans les organes aériens jeunes (boutons floraux, jeunes feuilles) où ils sont localisés dans les tissus superficiels (**Hadi., 2004**).

E. Les activités biologiques :

i. Activité anti-inflammatoire :

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire (**Hadi., 2004**). Les flavonoïdes sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes. €€

Par ailleurs, l'acide arachidonique peut être métabolisé par la voie de la lipooxygénase pour aboutir à la formation de leucotriènes et par la voie de la cyclooxygénase pour produire des thromboxanes et des prostaglandines, molécules fortement impliquées dans le processus inflammatoire (**Marfak., 2003 ; Girotti-Chanu., 2006**). Plusieurs flavonoïdes (le crisiliol et la baicaléine) sont de puissants inhibiteurs de la 5-lipoxygénase et donc la production des eucotriènes (**Bruneton.,1999 ; Girotti-Chanu.,2006**).

D'autres flavonoïdes tels que l'apigénine et la chrysin agissent principalement sur l'activité de la cyclooxygénase (**Hadi., 2004**). Il a montré que les flavonoïdes inhibent également l'adhésion et l'agrégation plaquettaire en augmentant les taux intracellulaires en AMPc à la suite d'une inhibition de phosphodiésterases (**Hadi., 2004**).

ii. Effets anticancéreux :

Des études réalisées *in vitro* et *in vivo* suggèrent que les flavonoïdes agissent à tous les stades de la cancérogénèse (initiation, promotion, progression). Ils inhibent la croissance de lignées cellulaires cancéreuses en interférant avec les mécanismes de transduction des signaux mitogènes (**Curtay et Robin .,2000**).

En effet, de nombreuses enquêtes épidémiologiques attribuent un effet préventif très important à la consommation des fruits et des légumes, riches en ces composés pour divers cancers (poumons, prostate) (Curtay et Robin., 2000 ; Gervais, 2001 ; Pelli et Lyl ., 2003).

iii. Activité antimicrobienne :

Les flavonoïdes possèdent des propriétés antimicrobiennes (Petite et al ., 2007) ils sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales.

Des travaux ont mis en évidence un impact des flavonoïdes sur le rétrovirus HIV responsable du syndrome d'immunodéficience acquise a (SIDA) aussi les flavonoïdes se sont avérés de bons inhibiteurs de transcriptase reverse.

D'autre part, une étude a montré l'effet bactéricide de différents flavanones sur un *Staphylococcus aureus*.

Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe parmi les hypothèses avancées, il faut citer :

- L'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes.
- Séquestration de substrat nécessaire a la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels sue le fer.
- L'inhibition du métabolisme microbien (Milane., 2004).

iv. Activité antibactérienne :

D'après Hadi en2004, les flavonoides pourraient exercer des effets antibactériens puisqu'ils sont de puissants inhibiteurs in vitro de l'ADN gyrase.

II.3.1.2. Les Tanins :

Les tanins sont des substances polyphénoliques, hydrosolubles de masse molaire entre 500-2000 D. Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant.

Très répandus dans le règne végétal ils peuvent exister dans divers organes, mais on note une accumulation plus particulièrement dans les tissus âgés et jeunes

ou d'origine pathologique. Ils sont localisés dans les vacuoles, quelquefois combinés aux protéines et aux alcaloïdes. (Berthode et al., 1999).

Parmi les caractéristiques des tanins le goût astringent qui est une sensation tactile due à la précipitation des protéines salivaires et qui crée une sensation d'assèchement dans la bouche (Peronny., 2005).

A. Structure chimique

À la base de leur caractéristique structurale, il est possible de diviser les tanins en deux groupes les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Macheix et al., 2005).

• Tanins hydrolysables

Ce sont des polyesters d'oses et d'acides phénols. Les oses trouvés dans ces tanins sont surtout représentés par le glucose, ces tanins sont de deux types :

- Les tanins galliques qui sont les esters d'oses (glucose) et d'acides galliques.
- Les tanins ellagiques qui sont des esters d'oses et d'acide ellagique

(Bruneton., 1999 ; Atefeibu., 2002). Dans les deux cas, la fraction osidique est estérifiée par plusieurs

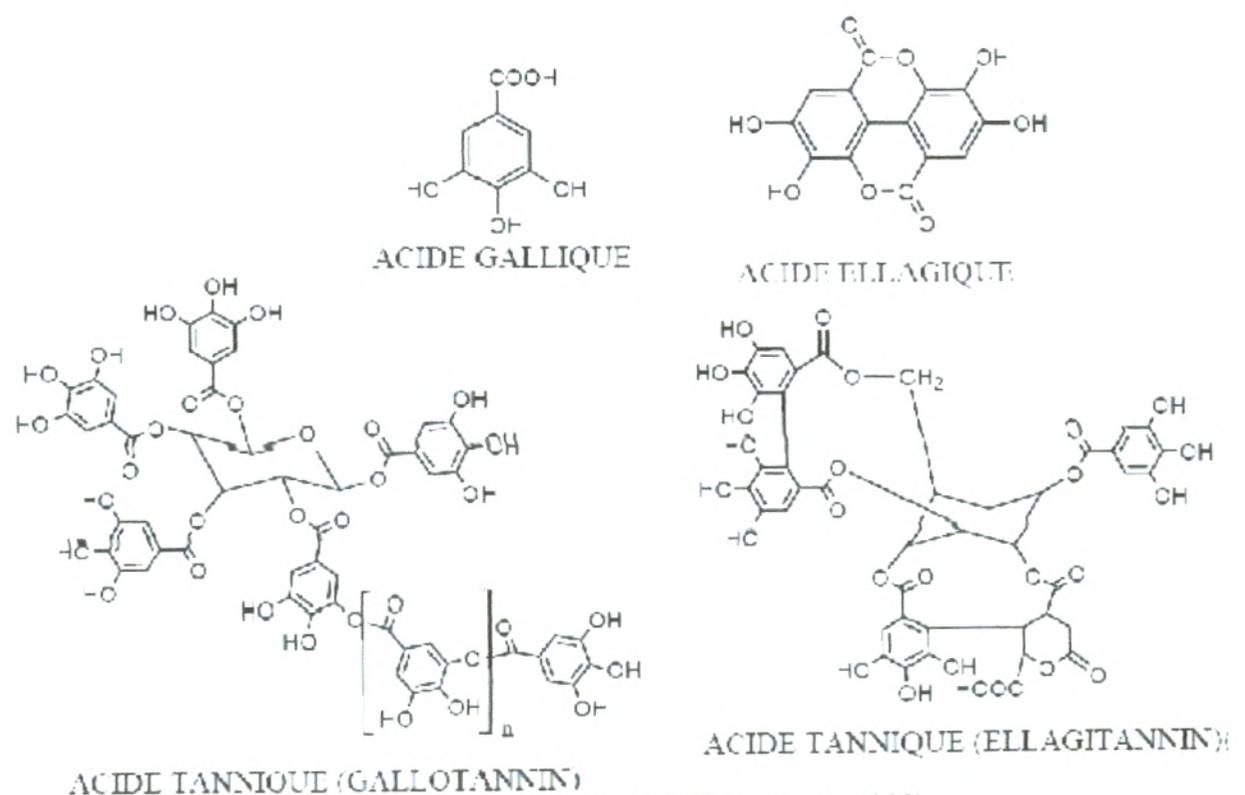


Figure 5. Structure des tanins hydrolysables (Bruneton., 1999).

- **Tanins condensés**

De structure plus complexe, on les appelle également proanthocyanidines, largement présents dans le règne végétal, et que l'on rencontre dans de nombreux produits alimentaires (fruit, légumes, boissons....) (**Peronny., 2005**).

Ils ne renferment pas de sucres dans leur molécule ; ils ne sont hydrolysés ni par les acides, ni par les tannases mais en présence d'acide forts ou d'agents d'oxydation, ils se transforment en substances rouges : les phlobaphènes (exemple : rouge de cola) (**Atefeibu ,2002**). Ce sont des polymères de flavan -3 ols., appelés aussi catéchines et de flavan - 3,4- diols appelés leucoanthocyanidines ou un mélange des deux (**Atefeibu., 2002 ; Peronny., 2005**).

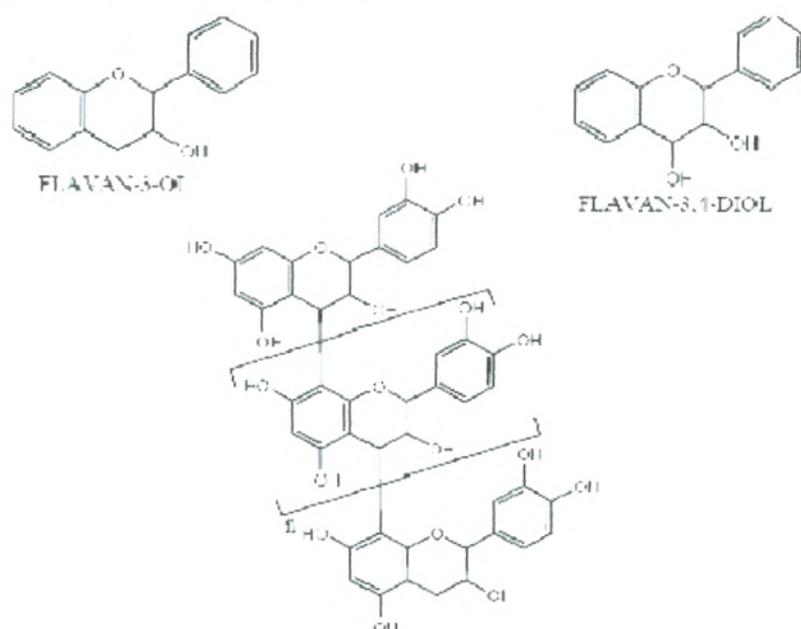


Figure 6. Structure des tanins condensés (**Bruneton, 1999**)

B. Sources végétales des tanins

Les tanins sont particulièrement abondants chez les conifères, les Fagaceae, les Rosaceae. (**Ghestem et al., 2001**). On les trouve dans de nombreuses plantes utilisées dans l'alimentation, notamment les céréales et les légumineuses (orge, haricots secs, petits pois, caroube, sorgho) (**Peronny .,2005**).

Parmi les fruits riches en tanins sont le cassis, la myrtille, le raisin, la canneberge et la fraise ayant des teneurs maximales observées entre 1,2% et 0,2% du poids frais (**Bravo., 1998**). Selon (**Ghestem., 2001**), tous les organes végétaux peuvent en renfermer (racines, écorces, feuilles) mais on note fréquemment une accumulation dans les organes âgés.

C. Activité biologique des tanins

i. Activités antimicrobiennes

De nombreuses études ont montré l'effet antimicrobien des tanins sur différentes bactéries, virus et champignons (Bruneton., 1999 ; Peronny ., 2005), dans les infections pulmonaires ils agissent grâce à une action inhibitrice sur la croissance microbienne (Atefeibu., 2002).

ii. Activité antifongique et anti levure

Plusieurs types de champignons sont inhibés par les tanins .Les champignons filamenteux comme *Asepergillus niger*, *Botrytis cinera...*etc sont inhibés par les tanins de différentes préparations. De même, différentes levures incluant *Saccharomyces crevisiae* sont aussi sensibles aux tanins (Chung et Wei., 2001).

iii. Activité antibactérienne

De nombreuses études ont montré l'activité antibactérienne des tanins .Ces molécules ont été rapportées comme bactériostatiques ou bactéricides sur plusieurs souches bactériennes *Klebsiella pneumonia*. *Pseudomonas aeruginosa*, *staphilococcus aureus streptococcus lactis...*etc

L'acide tannique inhibe la croissance des bactéries des aliments comme : *Enterobacter aerogenes*. *E.coli*, *S.pyogenes* et *Yersinia enterocolitica...*etc et les bactéries intestinales comme ; *Clostridium perfringens*. (Chung et Wei., 20001).

iv. Activité antivirale

L'activité antivirale des tanins est due à la fixation des molécules des tanins à l'enveloppe protéiques du virus ou la membrane de la cellule hôte et par conséquent l'inhibition de l'adsorption et la pénétration virale ; cependant, dans certains cas la fixation cause seulement des changements mineurs à la surface virale, la pénétration reste mais l'enlèvement de l'enveloppe virale est inhibé.

Plusieurs types de virus sont inactivés par les tanins, le virus Herpes simplex (HSV-1, HSV-2) est inhibé par les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Bruyne et al. 1999).

v. Activité pharmacologiques :

Les applications des drogues à tannins sont restreintes, et sont dues à leur affinité pour les molécules protéiques. Par voie interne, ils ont un effet antidiarrhétique.

Par usage externe, ils imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses, protégeant ainsi les cellules sous-jacentes et en empêchant les agressions externes. Les tanins favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlures. Ils ont un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels. D'une façon générale, se sont des inhibiteurs enzymatiques (**Wen-Rebaba., 2002**).

vi. Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des substances naturelles possédant un azote basique. L'origine biosynthétique de la plupart des alcaloïdes sont les acides aminés. Existent sous forme de sels (citrate, tartrates, benzoates..) ou sous forme d'une combinaison avec les tanins (**Bruneton., 1999**). Actuellement, la structure chimique d'environ 16000 alcaloïdes est connue environ 20% des espèces de plantes produisent des alcaloïdes (**Mamelink et al ., 2001**)

• Propriétés :

Comme beaucoup d'autre métabolites secondaires, on ne sait pratiquement rien du rôle des alcaloïdes dans les végétaux, les plantes les utilisent pour la plus part d'entre eux dans leur système de défense contre les herbivores et les pathogènes ; au large sens, les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leur activité surtout pharmacologique qu'exercent dans des domaines assez variées ; la médecine par exemple les emploie le plus souvent à l'état pur et ils sont utilisés comme dépresseurs (morphine), stimulants (caféine), comme substances paralysante (curare) ou comme anticancéreux (vinblastine et vincristine) (**Wink., 1999**).

Les caroténoïdes :

Les principaux caroténoïdes incluent : l'a-carotène. *b*-carotène, lycopène, phytofluène, lutéine, viloxanthine, anthéroxanthine, a-cryptoxanthine et *B*-cryptoxanthine. Leurs structures polyène leur permet d'absorber la lumière et de neutraliser l'oxygène. Cette chaîne polyène, par mécanisme d'addition, permet

l'incorporation des espèces réactives ou radicaux libres, et de ce fait, ralentir leur propagation (**Gey et al ., 1993**).

Matériel et Méthodes

1. Récolte et préparation des échantillons :

Les feuilles de *Pergularia tomentosa* L ont été récoltées pendant le mois de mars dans la région d'Adrar.

Au laboratoire, les feuilles de *Pergularia tomentosa* sont séchées, broyées et conservées dans des flacons en verre à l'abri de la lumière. La poudre sera utilisée dans les différentes analyses ultérieures

. 2. Détermination de la teneur en eau : (Audigie et al., 1980)

Principe :

On place l'échantillon à analyser dans une étuve à 100 - 105 C° jusqu'à obtention d'une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare, placées dans un dessiccateur.

Mode opératoire :

Introduire dans chaque vase 2g de l'échantillon frais : c'est le poids P₁

-Placer la vase dans une étuve réglée à 105 C° pendant trois heures.

-Peser l'ensemble et répéter la même opération mais avec un temps réduit (une heure seulement) ;

La différence entre les deux pesées doit être inférieure à 2mg, si non l'opération est renouvelée jusqu'à un poids constant.

Expression des résultats :

La teneur en eau (%) du matériel végétal est donnée par la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau (\%)} = [(P_3 - P_2) / (P_1 - P_2)] \times 100$$

Dont :

P₁ : masse en g de la vase de tare

P₂ : masse en g de la prise d'essai avant séchage.

P₃ : masse en g de la prise d'essai après séchage.

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

I-Tests phytochimiques (Trease et Evans, 1987) :

L'examen phytochimique permet de détecter la présence ou l'absence des constituants chimiques essentiellement les composés phénoliques, alcaloïdes....

❖ Principe :

La mise en évidence s'effectue par les tests phytochimiques réalisés généralement sur des extraits déjà préparés (par épuisement à chaud ou par macération à froid) ou directement sur l'échantillon à analyser.

- ✓ Les essais de solubilité des constituants de la plante vis-à-vis des solvants organiques : l'eau, le méthanol, l'éthanol, le chloroforme et l'éther di éthylique
- ✓ Réaction de coloration et de précipitation
- ✓ Examen sous la lampe ultraviolette
- ✓ Tests phytochimiques

Tests phytochimiques

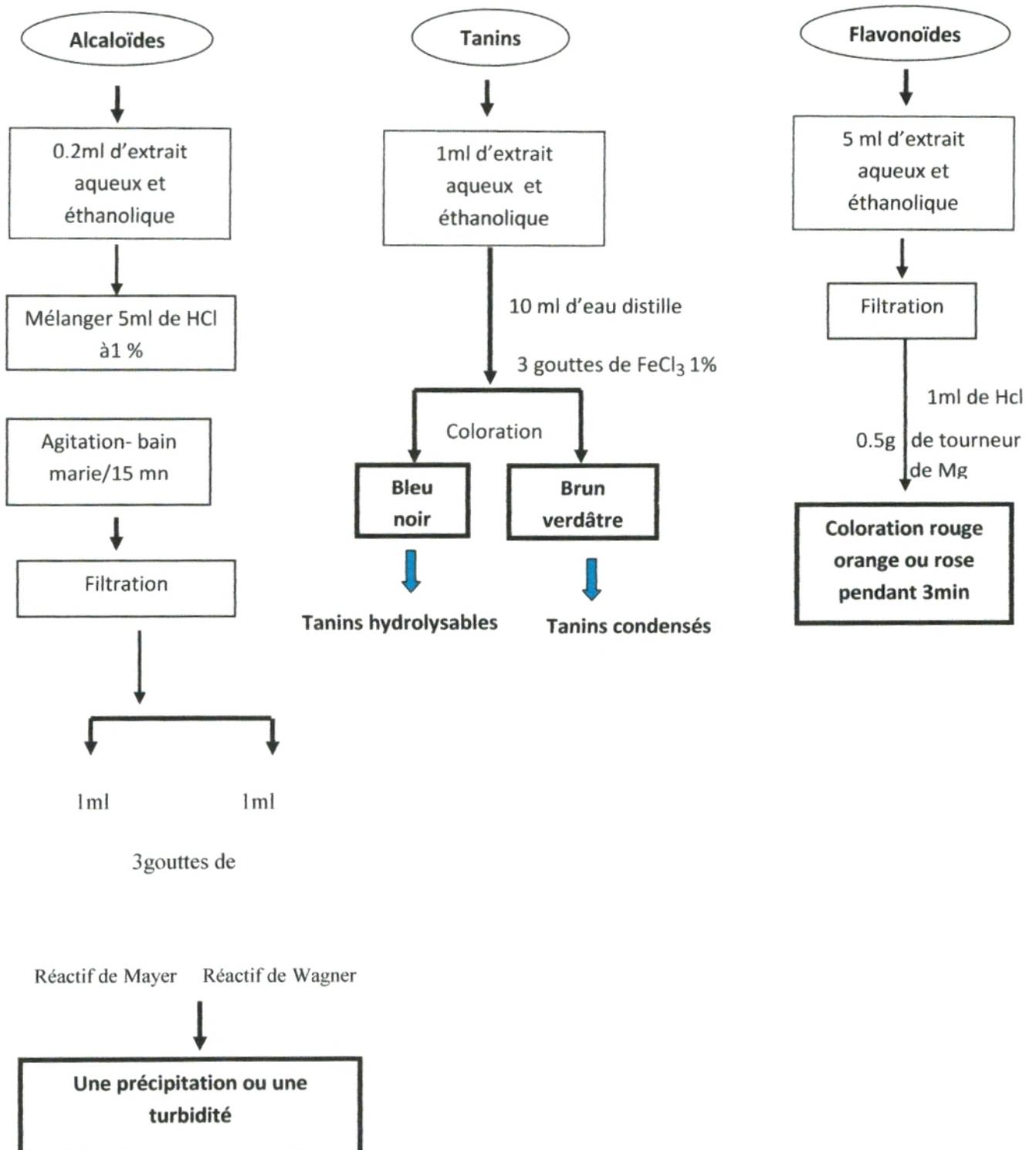


Figure 09 : Diagramme des tests phytochimiques réalisés sur la feuille *P. tomentosa* L. (Trease et Evans, 1987)

❖ **Produit végétal épuisé par l'éther di éthylique :**

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, mettre 50 g du matériel biologique en présence de 300ml d'éther di éthylique .Porter l'ensemble à reflux pendant 1h.Filtré le mélange et sur mettre au test suivant :

▪ **Alcaloïdes**

Evaporer 10mL de l'extrait étherique ensuite dissoudre le résidu obtenu dans 1.5mL de HCL à 2%.

Ajouter à cette solution 1 à 2 gouttes du réactif de Mayer. La formation d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes.

❖ **Produit végétal épuisé par l'eau chaude :**

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, mettre 5g du matériel végétal broyé en ajoutant 300mL d'eau distillée, l'ensemble est porté à reflux pendant 1h,filtrer le mélange et soumettre l'extrait aqueux au test suivant :

❖ **Tanins :**

Traiter 1 ml de la solution aqueuse avec 1mL d'eau distillée et 1 à 2 gouttes de $FeCl_3$ à 2%. L'apparition d'une coloration vert foncé ou bleu vert indique la présence des tanins.

❖ **Produit végétal épuisé par l'éthanol :**

Dans un ballon monocol surmonté d'un réfrigérant, on met 50g de matériel végétal broyé et on ajoute 300mL d'éthanol. L'ensemble est porté à reflux pendant 1 h ensuite filtré. L'extrait éthanolique est soumis aux tests suivants :

▪ **Alcaloïdes :**

Evaporer 20 ml de la solution éthanoïque à sec. Ajouter 5 ml HCL 2N au résidu et chauffer au bain marie .Filtré le mélange puis diviser le filtrat en deux parties égales. Traiter la première partie avec quelques gouttes de réactif de Mayer et la seconde avec le réactif de Wanger.

Le test n'est considéré positif que lorsqu'il y'a apparition d'une turbidité ou d'une précipitation.

(+) : si le réactif produit une légère opacité

(++) : Si le réactif produit une légère turbidité et non une floculation

(+++): Si le réactif produit une floculation ou un précipité lourd.

▪ **Flavonoïdes :**

Traiter 5 ml de l'extrait alcoolique avec quelques gouttes de HCL concentré et 0.5g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe en l'espace de 3 min.

▪ **Tanins :**

Prendre 1 ml de la solution alcoolique, ajouter 2ml d'eau distillée et 2 à 3 gouttes de FeCL₃ diluée.

Un positif est révélé par l'apparition d'une couleur bleu noir, vert ou bleu et un précipité, selon que les tanins sont catéchiques, gallique ou ellagique.

II- Extraction sélectives :

❖ **Extraction des tanins (Bruneton., 1999)**

10g de matériel végétal broyé en présence de 180 ml d'eau distillée et 100 ml d'acétone, l'ensemble est porté à une macération à froid (4°C) pendant 4 jours. Filtrer et extraire la solution deux fois avec 50ml de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides. Décanté et extraire la phase aqueuse quatre fois avec 50 ml d'acétate d'éthyle. Sécher la phase organique avec MgSO₄ ensuite évaporer le solvant à sec.

Expression des résultats :

Le rendement est représenté par la formule suivante :

$$R_t = (P_2 - P_1) / m \times 100$$

R_t : rendement des MS tanins en %

P₁ : poids de ballons vide avant l'extraction

P₂ : Poids de Ballon Plus Les Tanins Après L'extraction

M : masse de l'échantillon en g

❖ **Extraction des flavonoïdes (Dauguet et Foucher., 1982) :**

20g de matériel végétal dans 200ml de méthanol bouillant et 10g de CaCO₃. L'ébullition est maintenue sous réfrigérant à reflux pendant une heure. Après filtration de dépôt est traité de nouveau pendant une heure à ébullition dans la même quantité d'alcool.

Les deux solutions alcooliques sont réunies, elles sont évaporées et le résidu sirupeux est repris par 100ml d'eau distillée bouillante.

La solution aqueuse est filtrée à chaude et le filtrat épuisé successivement par l'éther di éthylique, l'acétate d'éthyle et le n-butanol tous les composés flavonoïques se trouvent dans l'extrait d'acétate d'éthyle.

Expression des résultats :

Le rendement est représenté par la formule suivante :

$$R_t = (P_2 - P_1) / m \times 100$$

R_t : rendement des MS flavonoïdes en %.

P_1 : poids de ballons vide avant l'extraction.

P_2 = Poids de Ballon Plus Les Flavonoïdes Après L'extraction.

M : masse de l'échantillon en gramme.

Extraction des alcaloïdes :(Bruneton, 1999) :

On mélange 10g de matériel végétal avec 250 ml d'HCl à 2% et 110 ml d'acétate d'éthyle (AcOEt). L'ensemble est porté à une macération à froid (4C°) pendant 10h. Filtrer le mélange et basifier la phase aqueuse acide avec NH₄OH. La phase aqueuse basique est ensuite extraite deux fois avec l'AcOEt, jusqu'à ce que la phase aqueuse ne contienne plus d'alcaloïdes.

Le solvant organique contenant les alcaloïdes est décanté, débarrassé des traces d'eau qu'il peut renfermer par déshydratation avec MgSO₄. Faire évaporer le solvant et reste alors un résidu sec des alcaloïdes totaux

• **Expression de résultats**

Le rendement après extraction des tannins est exprimé selon la formule suivante :

$$Rdt(\%) = \frac{P_2 - P_1}{M}$$

Rdt : rendement (% MS)

P_1 : poids en g du ballon vide.

P_2 : poids en g de du ballon après séchage.

M : la masse en g d'échantillon

6-L'activité antimicrobienne des composés phénoliques :

6-1. Origine des germes :

Les souches pathogènes utilisées sont des bactéries, des moisissures et des levures.

Tableau N° 8: Origine des souches utilisées

Les souches		Le code	La source
champignons	<i>Aspergillus flavus</i>		Collection de laboratoire LA MAABE
	<i>Aspergillus orchaceus</i>		
	<i>Aspergillus niger</i>		
	<i>Candida albicans</i>	ATCC 26790	
Bactéries	<i>Esherichia coli</i>	ATCC 25922	Laboratoire de microbiologie LAPRONA
	<i>Kelebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	
	<i>Pseudomonas aeroginosa</i>	ATCC 27853	
	<i>Acinéto bacter baumanii</i>	ATCC 19606	
	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	
	<i>Enterococcus cloacae</i>	ATCC 13047	
	<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 35659	

Conservation :

Les souches bactériennes et fongiques pures ont été conservées à 4C° dans des tubes contenant des milieux de cultures inclinées: gélose nutritive pour les bactéries SDA pour la levure et PDA acidifié pour les moisissures.

6-2. les milieux de culture

Toutes les souches ont été purifiées par repiquage successif. Pour la réalisation des tests:

- Milieux sabouraud Dextrose agar (SDA).bouillon nutritif pour la levure;
- Milieux Muller-Hinton (MH) gélose. Bouillon cœur cerveau (BHIB).gélose et bouillon nutritif pour les bactéries.
- Milieux PDA (potatos Dextrose Agar) pour les moisissures.

6-3 le pouvoir antimicrobien:

6-3-1. préparation de l'inoculum des souches étudiées :

Une suspension bactérienne en solution stérile 0.9% de NaCl préparée à partir d'une culture de 24h sur bouillon nutritif incubé à 37C°. Cette suspension est équivalente au 0.5 de standard de Mc Ferland (10 UFC/ml) dont la densité optique est fixée à 625nm entre 0.08 et 0.1 (**Chabbert et al..2002**).

6-3-2. Sensibilité des souches:

Pour les bactéries on a appliqué la méthode des disques ou antibiogramme standard (**Joffin et leyrat.2001**) ainsi que dans le cas de la levure on utilise la même technique.

Le choix des antibiotiques et l'antifongique à été établi en fonction de leur disponibilité. L'antifongique utilisé pour la levure est l'Amphotéricine B avec une charge de disque de 10%

Antibiogramme:

Dés l'application des disques d'antibiotiques à la surface d'un milieu gélosé. Préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Les antibiotiques diffusent de manière uniforme. Après incubation.les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture (**Guérin-fabulée et Carret., 1999**)

Pour la préparation de l'inoculum. On a utilisé la même méthode citée antérieurement après ensemencement de la gélose MH par une culture de 10 cellules/ml.

Nous avons placé différent disque antibiotiques puis les boites sont laissées durant 2 minutes à la température ambiante pour permettre une bonne diffusion des antibiotiques. Elles sont ensuite incubées à 37C° pendant 18 à 24h, la lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour du disque comparé avec des références.

Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques produites par des micro-organismes (ATB naturels) ou par synthèse chimique de molécules dérivant de composés naturels. Ils empêchent le développement d'autres micro-organismes et peuvent dans certains cas les détruire. Les antibiotiques utilisés dans cette étude sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau N° 9 : Les antibiotiques utilisés

antibiotique	symbole	charge des disques
oxacylline	OX	5mg
pristinamycine	PT	15mcg
acide fusidique	FA	10mcg
ofloxacine	OFX	5mcg
cyfotaxime	CTX	30mcg

Aromatogramme:

La méthode de diffusion sur gélose est utilisée pour le dépistage (screening) des activités antimicrobiennes des extraits. 100µl d'une suspension de micro-organismes (préparation d'inoculum citée précédemment) répartie sur la surface de gélose MH dans des boîtes de pétries, ensuite de papier filtre (6mm de diamètre) préalablement imbibés de 10-20-30 µl de l'extrait (tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, phénols totaux) sont déposés à la surface déjàensemencée (**Vardar-Unlu et al..2003**) après avoir été conservées 4C° pendant 24h l'essai est répété deux fois et les diamètres de ces zones d'inhibition (IZ) sont alors mesurés en millimètre (**mayachiew et al..2008**).

Un disque préparé imbibé de méthanol est utilisé comme contrôle négatif. Pour les résultats. Les échantillons considérés actifs ce sont ceux ont zone d'inhibition supérieure à 6 mm (**Mbaveng et al..2008**).

7-pouvoir antifongique des moisissures:

7-1 les moisissures:

Pour étudier le pouvoir antifongique on a utilisé des cultures de moisissures de 7 jours.

7-2. Antifongigramme:

On teste la sensibilité des moisissures; par la méthode de dilution effectuée en milieu solide, L'antifongigramme (**Burnichon et al., 2003**)

L'antifongigramme est une technique qui permet de déterminer la sensibilité des champignons vis-à-vis des antifongiques.

On dépose un disque de mycélium au centre en surface du milieu PDA solide. Additionné au préalable d'une concentration connue d'Amphotéricine B l'incubation se fait à la température de 25C°, ce test a été réalisé sur les différentes moisissures étudiées.

7-3. pouvoir antifongique des extraits phénolique:

Afin de tester le pouvoir antifongique de nos extraits. Nous avons procédé à la méthode de contact décrit par **Fandohan 2004** Les extraits de tanins. Flavonoïdes. Alcaloïdes et phénols totaux ont été testés comme suit:

- un volume de 100µl est additionné à 20 ml du milieu PDA en surfusion dans un tube à essai
- après agitation des tubes. Le milieu coulé a été dans boites de Pétri
- l'inoculation a été faite par le dépôt au centre de la boîte d'un disque Mycélien d'environ 6mm de diamètre d'une pré-culture de 30 à 5 jours.
- une boîte de pétri contenant 20 ml du milieu PDA sans extrait inoculée

Après inoculation à 25C° pendant 3 à 5 jours. On a calculé l'indice Antifongique ou le pourcentage d'inhibition détermine par la formule de **Wang et al 2005**

$$\text{Indice antifongique} = (\text{Db}-\text{Da}) / \text{Db} \times 100$$

Da : diamètre de la zone de croissance de l'essai.

Db : diamètre de la zone de croissance du témoin.

Résultats et Interprétations

1. Teneur en eau :

L'appréciation de la teneur en eau et la matière sèche repose sur la détermination du taux d'humidité contenu dans l'échantillon à analyser.

L'analyse du taux d'humidité au niveau de la feuille de *P.tomentosa L* a montré un pourcentage très important estimée à **82,34%**.

Ce résultat est en accord avec celui trouvé par **Achraf khaldi et al., 2012** estimée à **85%** pour les feuilles de *A tenuifolius* et **75%** pour les feuilles de *Zygophyllum album*.

2. Tests phytochimiques :

L'apparition d'une coloration, d'une précipitation ou encore d'une floculation par l'intermédiaire de certains réactifs spécifiques qui va affirmer la présence et / ou l'absence des différentes familles de métabolites secondaire existant dans nos échantillons. Les résultats des tests phytochimiques de notre échantillon sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 10: Résultats des tests phytochimique de feuille de *Pergularia tomentosa*

Groupe	Eau	Ethanol
Tanin	++	++
Flavonoïde	+++	+++
alcaloïde	ND	+

+++ test fortement positif

++ test positif

Les tests phytochimiques ont révélé la forte présence des flavonoïdes suivie des tanins, les alcaloïdes sont présent quand le produit repérée est épuisé par l'éthanol.

3. Extractions sélectives :

Les extractions nous ont permis de noter la présence de quelques familles de composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes, ceci nous a incité à calculer leur rendement massique par une extraction sélective. Les résultats obtenus par l'extraction de ces 3 familles par rapport à la matière sèche sont représentés dans la figure suivante :

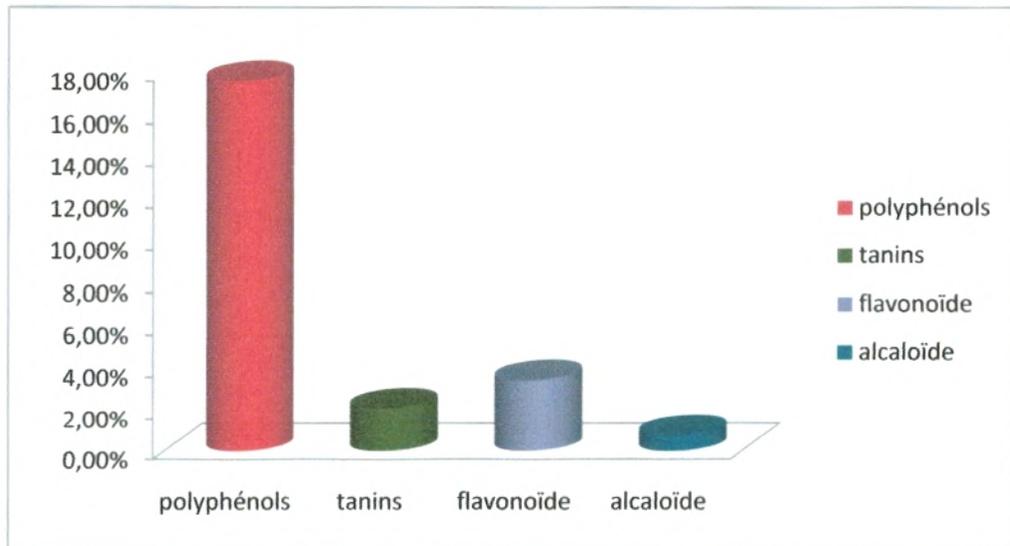


Figure 07: Rendement massique des tanins, des flavonoïdes et des alcaloïdes

On constate que le rendement le plus élevé des feuilles de *Pergularia tomentosa L* se situe au niveau des polyphénols totaux avec une valeur de **17.6 %** suivi des flavonoïdes (**3.46%**). Un rendement moyen des tanins (**2.1 %**), alors que les alcaloïdes présentent le rendement le plus faible (**0.8%**).

En comparant nos rendements avec d'autres plantes, les résultats de **Kholkhal et al. 2012** ont montré que au niveau de la plante *Eryngium maritimum*, la quantité de composés phénoliques totaux et des flavonoïdes était plus élevée dans l'extrait acétone ($55,80 \pm 2,75$ mg d'EP / g DW, $1,505 \pm 0,013$ mg RE / g DW) que l'extrait méthanolique ($46,72 \pm 4,69$ mg d'EP / g DW, $1,138 \pm 0,016$ mg RE / g DW). Donc, cette plante ne contient pas beaucoup de composés phénoliques par rapport aux autres.

Les travaux de **Achraf Khaldi et al, 2012** sur La partie aérienne de deux plants médicinales de la flore du Sahara algérien (Sud-ouest de l'Algérie) : *Zygophyllum album L* et *Asphodelus tenuifolius Cavan*, ont montré une richesse des deux espèces en tanins et les alcaloïdes sont présents uniquement dans le *Z.album et* qui contient un rendement d'extrait méthanolique de **17,01%**, plus élevé que *Asphodelus tenuifolius Cavan* **5,13%**.

Les études de **Benabdelkader, 2011** sur les feuilles d'*Anabasis articulata*. a montré que les rendements des tannins et des alcaloïdes sont de l'ordre de **0.96%** et **0.04%**, qui sont inférieurs à ceux trouvé dans notre échantillon **2.10%**et **0.80%**.

1/Bactéries et levures

1\1 AntibioGramme.

C'est un examen qui permet de tester les réactions de sensibilités et /ou de résistance des micro organismes aux différents types des antibiotiques.

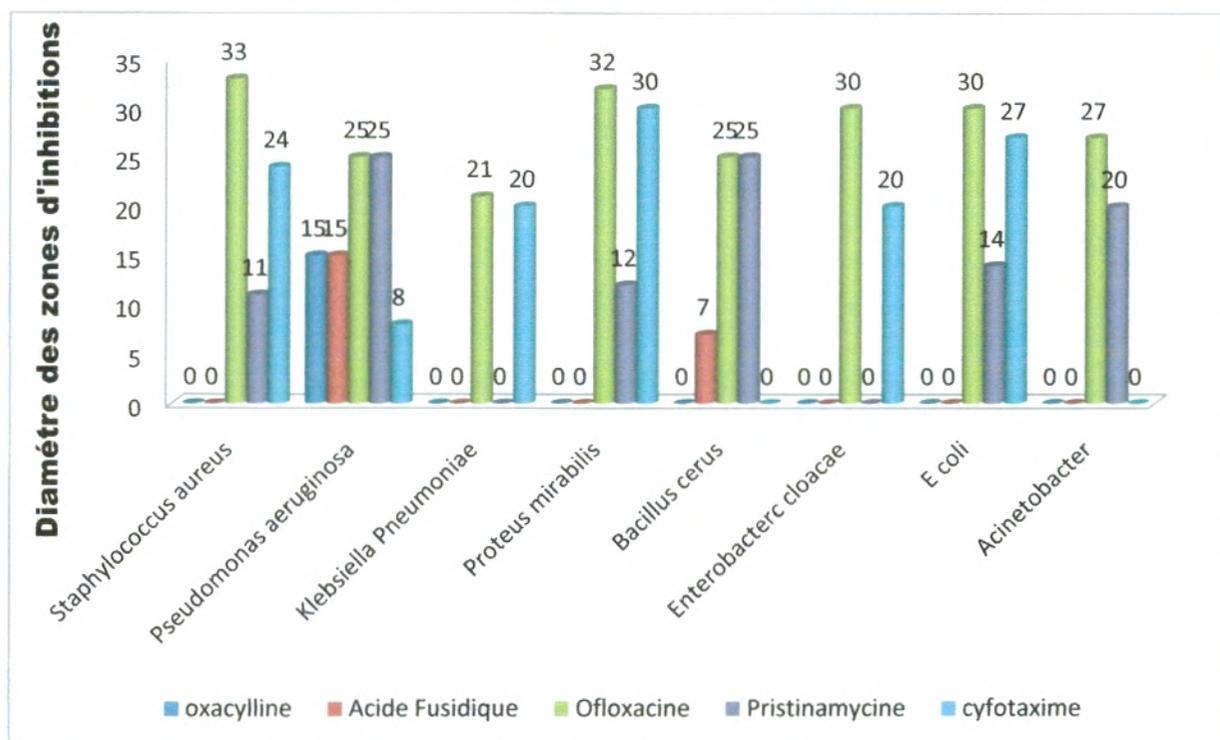


Figure8 : diamètre des zones d'inhibition relative aux souches testées

D'après la figure 8 nous remarquons que la majorité des souches testées présentent une sensibilité envers les antibiotiques utilisés surtout ofloxacine et cefotaxime et pristinamycine. La différence de acide fusidique et oxacilline qui ont marqué les plus faibles diamètres.

En effet *Pseudomonas aeruginosa* ont montré une forte sensibilité aux antibiotiques utilisés. Les autres souches sont plus en moins sensible en particulier les souches *E.coli* et *Proteus mirabilis* qui présentent une résistance à l'oxacilline et acide fusidique.

La souche *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* ont présenté le même comportement au contact des antibiotiques utilisés en montrant une résistance à l'oxacilline et pristinamycine et acide fusidique.

Staphylococcus aureus c'est révélé beaucoup sensible à l'ofloxacine moins sensible a pristinamycine , céfotaxine et très résistante a oxacilline et acide fusidique.

Acinetobacter baumannii et *Bacillus cereus* ces montré plus en moins sensible au pristinamycine et ofloxacine avec une résistance au cefotaxine et oxacilline.

1\2 Pouvoir antimicrobien des extrait phénolique.

A\ Aromatogramme.

Les souches testées ont montré des différences de sensibilité aux différents extraits utilisés.

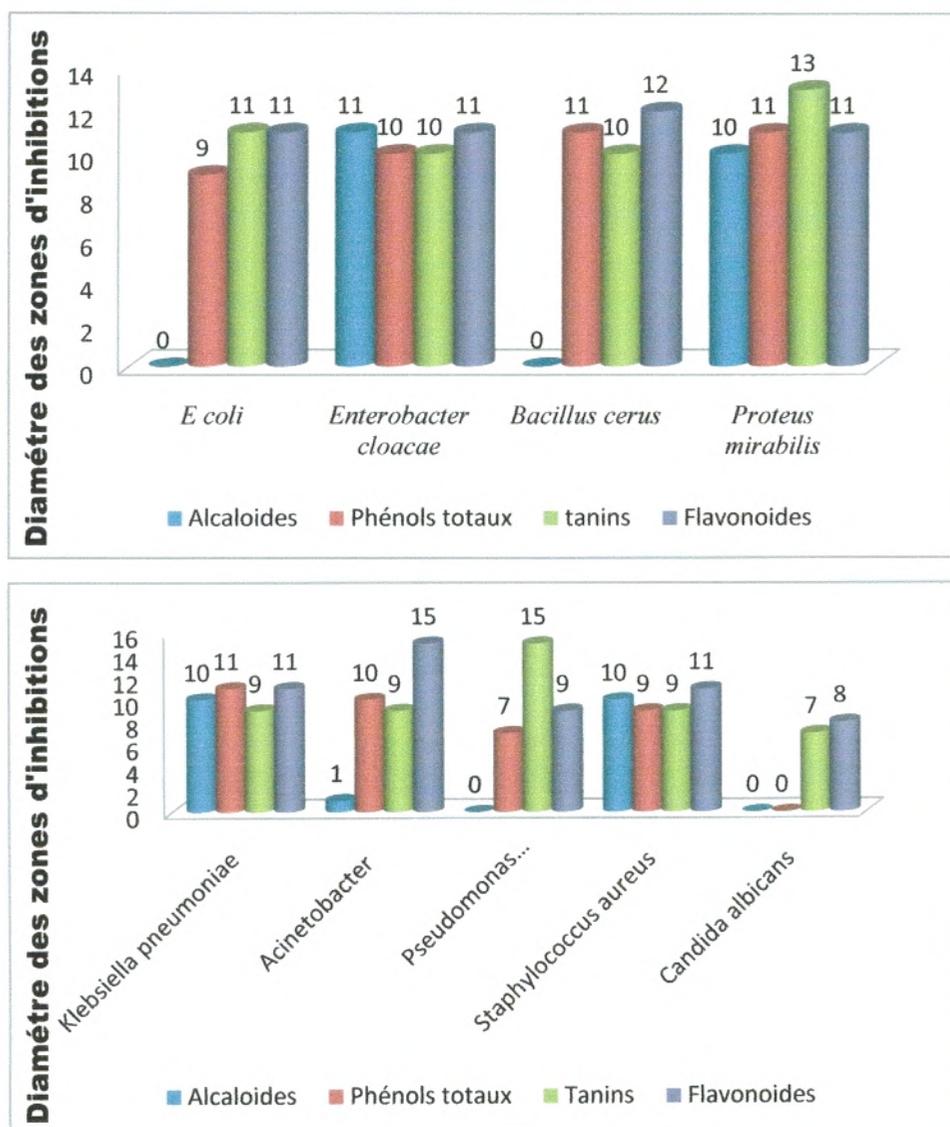


Figure 9 : diamètres des zones d'inhibitions des extraits testés relatifs aux souches bactériennes et la levure

D'après la figure 9 nous remarquons que l'extrait des flavonoïdes exerce un effet remarquable pour l'ensemble des souches à l'exception de *candida albicans*.

Les résultats obtenue par **Aissata., 2004** n'ont montré aucune activité des extrait de *Maerua crassifolia forsk* vis a vis *candida albicans*.

L'extrait des flavonoïdes a exercé un effet inhibiteur sur *S.aureus* 11 mm et *E .coli* 12 mmet *B cerus* 14mm, ce résultat concorde avec les résultats de **N,Sridhar** qui a teste l'action antimicrobienne des flavonoïdes des feuilles de *Pergularia daemia*.. Les résultats de **N.Sridhar et al 2012** ont montre que les flavonoïdes de *Pergularia deamia* sont actifs sur *S.aureus*16mm, *E.coli* 12mm, et *B.subtilus*17mm.

Les flavonoïdes de *Maerua crassifolia forsk* ont aussi un effet inhibiteur sur *Staphylococcus aureus* avec 11mm de diamètres.

Les tannins ont diminué la croissance des bactéries mais cette leur action est moins importante que celle des flavonoïdes.

Les alcaloïdes ont exercé une inhibition totale des souches : *E.coli*,*Bacillus cereus*, *Pseudomonas* ,*Acinétobacter* et même les levures *candidas albicans*. Les alcaloïdes peuvent être utiliser comme antifongique.

Les phénols totaux se sont montrés moins efficaces que les tanins et flavonoïde alors l'effet de chaque extrait seul est meilleur que celui des phénols totaux sur la majorité des bactéries.

La majorité des bactéries sont inhibées au moins par l'un des extraits les plus sensibles sont : *Pseudomonas aeroginosa*, *Acinétobacter baumanii* d'autre par, *Proteus mirabilis*, *Bacillus cereus* , *Enterococcus cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* ,*staphylococcus aureus* ,*E.coli* .

L'ensemble des résultat nous montre que tous les extraits de *Pergularia* ont inhibé la croissance des bactéries, plus particulièrement les flavonoides,leur efficacité a été également remarquée chez d'autre plantes: *Pergularia deamia*, *Oldenlandia biflora* L **N.Sridhar et al 2012**.*Erythraea centaurium l.* pers **benhamaza, 2008**.....

2\Champignons:

2\1 Pouvoir antimicrobien de l'antifongique,

L antifongique est utilisé pour empêcher la croissance des champignons.

Dans notre étude nous avons déterminé le pourcentage d'inhibitions des souches fongiques par un seul antifongique Amphotéricine B et ceci a partir des diamètres des zones d'inhibition obtenu

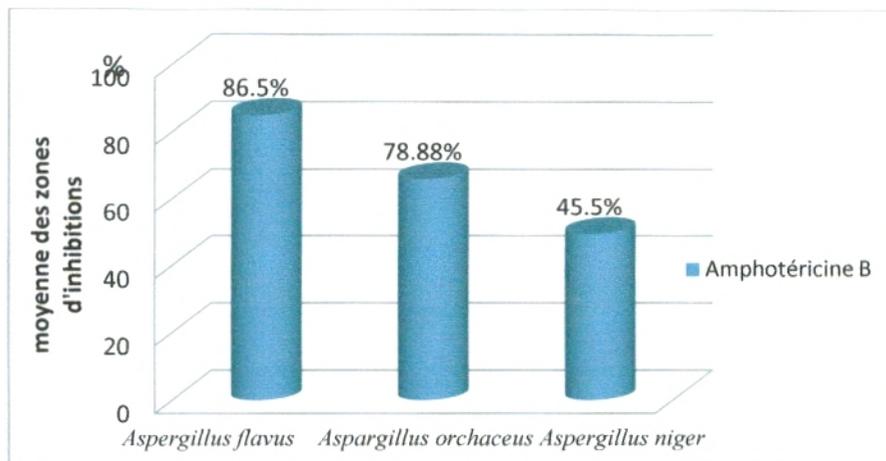


Figure10 : moyenne des zones d'inhibitions relative aux différents champignons

Les résultats obtenus montrent que l antifongique réduit la croissance des trois souches d'*Aspergillus*. Plus particulièrement la souche *Aspergillus flavus* 86.5%.

2\2 Pouvoir antifongique des extraits phénoliques.

Dans cette partie nous avons étudié l'activité antifongique des extraits phénoliques des feuilles de *Pergularia* sur les champignons.

Les résultats sont représentés dans la figure n°11:

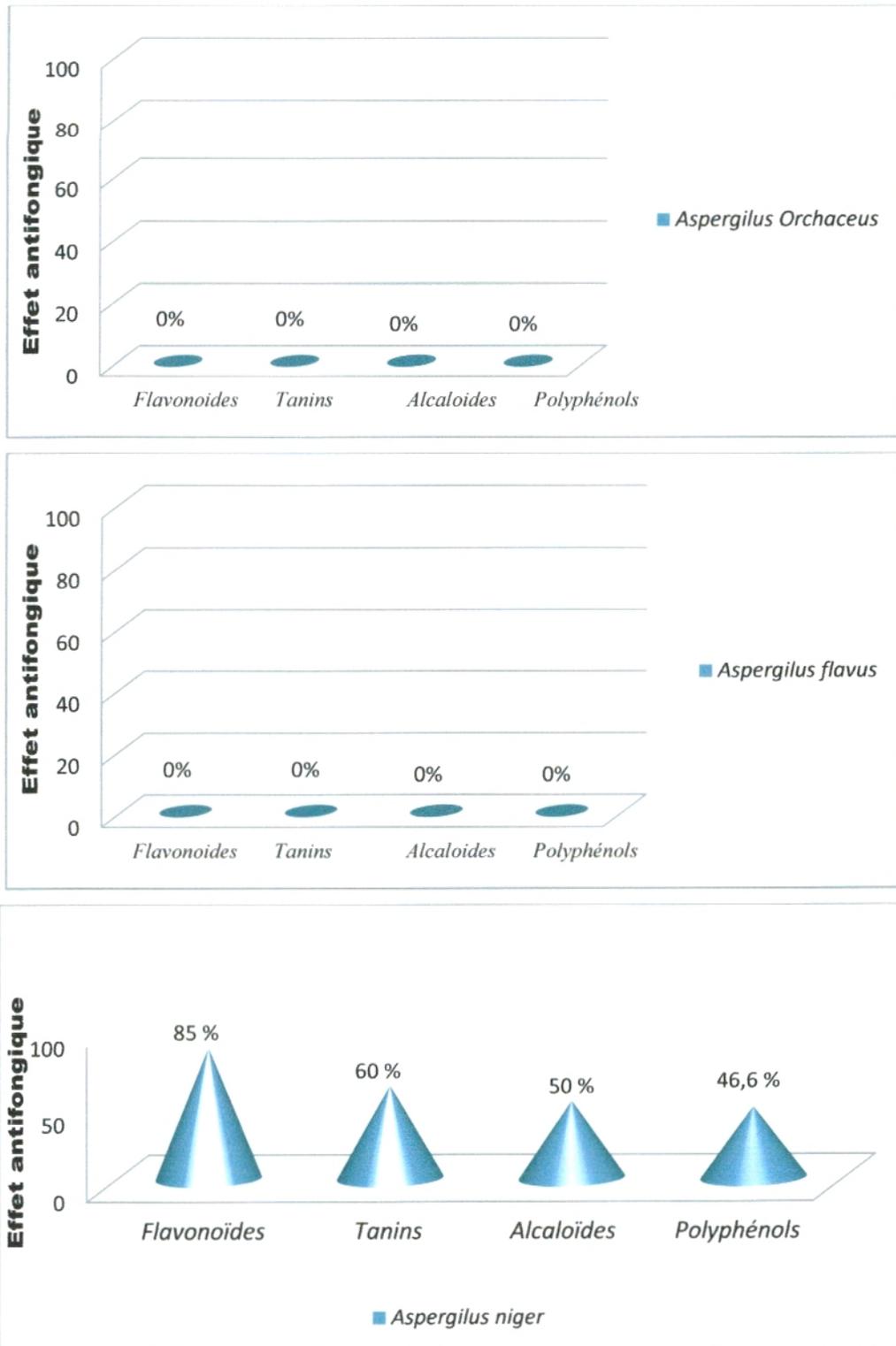


Figure 11: pourcentage d'inhibition des extraits sur la croissance des souches fongiques

Aucun effet n'a été observé des extraits (phénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes) sur la croissance de *Asp.flavus* et *Asp.orchaceus*, La souche d'*Asp.orchaceus* a montré une sensibilité aux extraits d' *A.tenuifolus* **78,57%** **Achraf khaldi et al., 2012.**

La comparaison de l'effet des quatre extraits n'a été possible qu'avec la souche *Asp niger*.

Le pourcentage d'inhibition des flavonoïdes est remarquable sur d'*Aspergillus niger* (**85%**) , suivi des tanins(**60%**) en suit les alcaloïdes **50%** et les polyphénols **46,6%**. les flavonoïdes des feuilles de zygophyllum par exemple ont également exercé un bon effet inhibiteur sur *Alternaria* de **61,54%** et de **64%** celle de *A. niger*. **Achraf Khaldi et al, 2012.**

Conclusion

CONCLUSION :

Le sud algérien est riche en espèces susceptibles d'avoir des propriétés thérapeutiques, c'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier cette plante *Pergularia tomentosa L* qui pousse à l'état spontané dans la région d'Adrar et qui est fréquemment employée comme une plante médicinales.

Nos résultats ont montré que notre échantillon est riche en eau **82,34%**, l'extraction sélective des métabolites secondaires nous a permis de constater que le rendement des phénols totaux **17.6%** est plus élevé suivi des flavonoïdes **3.46%** et un rendement moyen des tanins **2.1%**, alors que les alcaloïdes présentent le rendement le plus faible **0.8%**.

L'étude du pouvoir antimicrobien des extraits phénoliques des feuilles de *Pergularia tomentosa* vis-à-vis des souches microbiennes (8 souches bactériennes : 3 moisissures et 1 levure) a permis de montrer que les flavonoïdes sont plus efficaces sur la croissance des bactéries surtout les espèces : *Acinetobacter baumani et bacillus*, L'extrait des tanins ont également montré un effet plus particulièrement sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Concernant le pouvoir antifongique, l'effet des quatre types d'extraits a été observé sur *Asp.niger* dont : flavonoïdes **85%**, tanins **60%**, alcaloïdes **50%** et phénols totaux **46.6%**.

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active, il serait également intéressant de compléter ce travail par :

-l'étude phytochimique : isolation, caractérisation, et identification de métabolites secondaires de *Pergularia tomentosa L*.

-la détermination des concentrations minimales (CMI), bactéricides (CMB) et fongicide (CMF), des extraits de cette plante.

Références Bibliographique

Ahn J., Lee H. Park J. Ha T., 2008. The anti-obesity effects of quercetin is mediated by the AMPK and MPK signaling pathways. *Biochemical and biophysical research communications*, 373:545-549

Mlle Aïssata M., 2004. ETUDE DES PLANTES MEDICINALES DE NIAFUNKE (REGION TOMBOUCTOU), PHYTOCHIMIE ET PHARMACOLOGIE DE *Maerua crassifolia* Forsk. (Capparidacée) .Thèse de doctorat en Pharmacie (Diplôme d'Etat

Atefeibu E.S.I ., 2002. Contribution a l'étude des tanins et de l'activité antibacterienne d'Acacia Nilotica Var Andesonii . Thèse de Doctorat, université cheikh Anta Diop de Dakar.33p

Baharum.,1997. Substance naturelles actives, la flor mauricienne une source d'approvisionnement potentielle,AMAS. Food and agricultural research council.

Berthod A.,Billardello B et Geoffroy S.,1999. Polyphenol in counterwrrrent vchromatography.An exemple of large scale separation 1. Analisis.EDP.Sciences.Wiley.VCH. 27: 750-757

Bellakhdar, J., 1978. Médecine traditionnelle et toxicologie ouest-saharienne, contribution à l'étude de la pharmacopée marocaine. Edition techniques nord-africaines: Rabat

Benabdelkader S., 2011. Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante *d'anabasis articulata*. Mémoire pour l'obtention de diplôme d'ingénieur. Option :Contrôle de Qualité et Analyse. Université de Tlemcen,45,26-29.

BARMO Soukaradji et AMANI Abdou., 2010, contribution a l'état des connaissances de quelques plantes envahissantes au Niger. REPUBLIQUE DU NIGER , CABINET DU PREMIER MINISTRE.

Boizot N et Charpentier J-P., 2006.Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés Phénolique des organes d'un arbre foustier. Le cahier des TECHNIQUES DE L'Inra : 79-82.

De Bruyne T, Pieters L, Witvrouw M, De Clercq E, Vanden Berghe D & Vlietinck AJ., 1999 .Biological evaluation of proanthocyanidin dimmers and related polyphenols. *Journal of Natural Products* **62**:954–958.

Bruneton J., 1999. Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 3ème édition, Lavoisier, Paris, 1120 p.

Burnichon N., Texier A.5., 2003. L'antibiogramme : La détermination des sensibilités aux antibiotiques .Des bactériologie.

Boulos, L. 1995. *Flora of Egypt checklist*. Al Hadara Publishing, Cairo, Egypt.

Cabrera M ., Simoens M ., Falchi G. Lavaggi M.L ., Pao O-E ., Castellano E-E ., Vidal A., Azqueta A ., Monge A ., Cerain A.L ., Sagraera G ., Seoane G ., Grecetto H. and Gonzalez M., 2007 .Synthetic chalcones, flavanones and flavones as antitumoral agents. Biological evaluation and structure activity relationships . *Bioorganic et Medical Chemistry*, **15**:3356 -3367.

Catherine Guette., 2004. Les alcaloïdes . Article. Labo D'oncopharmacologie, Centre la lutte contre le cancer Paul Papin.

Chung K-t et Wei C-I., 1998. Are tannins a double edged sword in biology and health. *Trends in Food Science et Technology*, **9**:168-175.

Curtay J-P et Robin J-M., 2000. Intérêt des complexes antioxydants. Nutri-thérapie INFO.6p

.Da Diallo D ., Sanogo R ., Yasambou H ., Traré A ., Coulibaly K ., Maïga A., 2004. Etude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae). utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C.R.Chimie*, **7** :1073-1080.

Dacosta Y., 2003. Les phytonutriments bioactifs. (Ed) Paris. 317p.

Dauguet J.C., Foucher J.P., 1982. Plantes médicinales et phytothérapies .L'actualité chimique **13**(3): 185-191. 41 ± 143.

DAVIES R. L. and WHYTE P. B. D., 1989. *Adonis microcarpa* (pheasant's eye) toxicity in pigs fed field pea screenings. *Australian Veterinary Journal*, **66** :1

Fandahan P.,Gbenou J.D.,Gnolofin B.(2004).Effect of essential oils on the Growth or fusarium verticilloides and Fumonisin Contamination in Corn J.Agric.Food Chem,52:6824-6829.

Forkmann J et Martens S., 2001. Metabolic engineering and application of flavonoids.*Current Opinion in Biotechnology*, **12**:155-160.

Fouché J.G ,Marquet A,hambuchers A.,2000. Les plantes médicinales ; de la plante médicament ; observatoire du monde des plantes .Exposition du 19-09-2000.

Fostel J, Lartey P .,2000. Emerging novel antifungal agents. *Drug Discov. Today*, **5**: 25-32.

Gervais N.,2001 . Aliments fonctionnels et produits nutraceutiques. Les fibres, les vitamines et les autres éléments nutritif. *Le médecin de Québec*, **36** (4) : 64-68.

Gey KF., Moser UK., Jordan P., Stahelin HB., Eichholzer M., Ludin E., 1993.. Increased risk of cardiovascular disease at suboptimal plasma concentrations of essential antioxidants: an epidemiological update with special attention to carotene and vitamin C. *Am J Clin Nutr* **57** : 787S-797S.

Ghestem A., Segun E ., Paris M ., Orecchioni A-M., 2001.Le préparateur en pharmacie :Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie - Homéopathie. Lavoisier Tec et Doc, Paris ,273p

Girotti-channu C., 2006.Etude de la lipolyse et de synthèse des composés du Derme sous l'effet de la Cirsimarine ,Flavone extraite de *Microtea Debilis*. Thèse de Doctorat .Institut National des sciences appliquées de Lyon.127p

Guerin-Foublee V.,Carret G.,1999.L'antibiogramme :principe méthodologie, intérêt et limite.Jrnees nationales GTV-INTRA.5-12.Antioxydant Activity of defferent flavonoids by the chemiluminescence method.AAPS pharma.Sci,**5** :2-5.

Hadi M., 2004. La quercétine et ses derives: molécules à caractère peroxydant ou thérapeutiques. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg I.155p

Halliwell B et Whiteman M., 2004. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal of pharmacology* .**142**:31-2.

- Hashimoto F., One M., Masuoka C., Ito Y., Sakata Y., Chimizu K., Nonaka G., Nichioka I., Nohara T., 2003.** Evaluation of the antioxidative effects (in vitro) of tea polyphenols. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, **67** (2) :396-401
- Heim E-K., Tagliaferro A-R., Bobilya D-J., 2002.** Flavonoid antioxidants : chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. **13**:572-584.
- Hussein, H. I., Kamel, A., Abou-zeid, M., EL-Sebae, A. H. and Saleh, M. A., 1994.** Uscharin, the most potent molluscicidal compound tested against land snails. *Journal of Chemical Ecology*. **20**: 135 ± 140.
- Khaldi A., Boumediene Meddah., Abdellah Moussaoui., Houcine Benmehdi et Saif Gouri., 2012.** Phytochemical Screening and *in Vitro* Antifungal Effect of some Plants Extracts of *Asphodelus Tenuifolius Cavan* and *Zygophyllum Album L.* on Fungi Development *European Journal of Scientific Research* ISSN 1450-216X Vol.80 No.3 (2012), pp.311-321.
- King A et Young G., 1999.** Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of the American dietetic association*, **99**:213-218.
- Koo, H., Pedro, L.R., Jaime, A.C., Yong, K.P., William, H.B., 2002.** Effects of compounds found in Propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity. *Antimicrob. Agents Chemother.* **46** (5), 1302–1309.
- Macheix J.J., Fleuriet A., Jay Allemand C., 2005.** Les composés phénolique des végétaux I
- Mekiou R., 2004.** Thèse de Doctorat. Université de Mentouri Constantine.
- Mohammed Z., 2006.** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des Huiles essentielle et Flavonoïdes de quelques Plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère. Université de Tlemcen. 140p
- Maman S., 2003.** Contribution à l'étude de l'écologie de *Pergularia tomentosa* et son impact sur les ressources sylvopastorales au niveau du massif forestier de Daddaria (Mainé Soroa). Mémoire d'Ingénieur IPR/IFRA de Katibougou (Mali) 61 p.
- Memelink J., Verpoort R., Kijine J.W., 2001.** Organisation of jasmonate responsive gene expression in alkaloid metabolism. *Trends in Plant Science*. **6** (5):212-219

Marfak A.,2003. Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES.187 p

Mayachiew P.,Devahastin S.,2008.Antimicrobial and antioxydant activities of Indian gooseberry and galangal extraxts.LWT-Food Science and technologie,**41** :1552-1558.

Mbaveng A-T.,Ngament,Kuete V.,Simo I-K.,Ambassi P.,Roy R.,Bezabih M.,Etoa F-x.,Ngadjui B-T.,Abegaz B-M.,Meyer J-J-M.,Lalla N.,Beng V6p.,2008.Antimicrobial activity of crude extraxts and five flavonoids from the twigs of *Dorstenia barteria*(Moraceae).Journal of Ethnopharmacology,**116**;483-489.

M., Plumlee Galey, F. D., Holstege, D., K. H., Tor, E., Johnson, B.,Anderson, M. L., Blanchard, B. C. and Brown, F., 1996. Diagnosis of oleander poisoning in livestock. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **8**:358 ± 364.

Nauciel C.,2000 .Bactériologie medicale, Masson(Ed).Paris, 275p.

N. Sridhar*, N. V. S. Pradeep Kumar, D. Sasidhar, A. Kiran Venkatesh, L. K. Kanthal.,2012. Antibacterial and Phytochemical Evaluation of *Oldenlandia Biflora* L. and *Pergularia Daemia*. International Journal of Drug Development & Research April-June 2012.. Vol. 4.

Özcelik, B., Deliorman Orhan, D., Özgen, S., Ergun, F., 2008. Antimicrobial activity of flavonoids against extended-spectrum β -Lactamase (ES β L)-producing *Klebsiella pneumoniae*. Trop. J. Pharm. Res. 7 (4), 1151–1157.

Ould Hamidoun, M. 1952. Précis sur la Mauritanie. Etudes Mauritaniennes n°4 Centre IFANMauritanie,p.

Pelli K., Lyly M., 2003.Les antioxydants dans l'alimentation.Finlande.28p.

Pereira S ., 2006 :Antimicrobial activity of *indigofera suffruticosa*.

Peronny S.,2005. La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI

(Lemur Catta).Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle .Discipline Eco-Ethologie .151p

Piacente, S., Masullo, M., De Nève, N., Dewelle, J., Hamed, A., Kiss, R., Mijatovic, T.,

2009. Cardenolides from *Pergularia tomentosa* display cytotoxic activity resulting from their potent inhibition of Na⁺/K⁺-ATPase. *J. Nat. Prod.* 72, 1087–1091

Picman A-K ; Schneinder E –F ; Picman J.,1995. Effect of flavonoids on mycelial growth

of *verticillium albo-atrum*.*Biochemical Systematics and ecology*, 23:683-693.

P.Quezel., S.Santa., 1963. Tome 2 : édition du centre nationale de la recherche scientifique, 15,quai Anatol-France paris 7°.

Saadou M., 1990. La végétation des milieux drainés nigériens à l'Est du fleuve Niger. Thèse d'état Es-sciences Naturelles. Université de Niamey, 395 p

Saulet S., Iecoupeau J-P.,Vercauteren J., 2001. Implication chimique et biologique de la présence de polyphenols dans le cacao. Deuxième journée scientifique de l' UFR de sciences pharmaceutiques.*Pharm.Bordeaux.* 140:127-166

Scalbert, A., 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry.* 30: 3875-3883.

Skerget M ., Kotnik P ., Hadolin M ., Hras A-R ., Simonic M ., Knez Z.,2005.

Phenols,proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities . *Food chemistry.* 89:191-198

S.W. Hassan , R.A. Umar , M.J. Ladan , P. Nyemike , R.S.U. Wasagu , M. Lawal and A.A. Ebbo 2007. Nutritive Value, Phytochemical and Antifungal Properties of *Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadaceae)

Talwar, G.P., L.M. Strivastava and K.D. Mudgil.,1989. Textbook of Biochemistry and Human Biology. 2nd Edn., Prentice Hall of India Pvt. Ltd., India.

Tapiero H,Tew K.D ,Nguyen Ba G, Mathé G.,2002.Poly phenol: do they play a role in the prevention of human pathologies? *Biomed Pharmacother.* 56:200-207.

Trease E., Evans W.C., 1987. Pharmacognosy. Billiare. Tindall. London 13th Edn; pp:61-62

Vardar-Unlu G., Candan F, Su Kme A., Daferera D., Polisiou M., So Kmen M., 2003. Antimicrobial and antioxydant activity of the essential oil and méthanol extraxts of Tthymus pectinatus Fisch Et Mey .Var. pectinatus(lamiaceae), journal of Agricultural AND Food Chemistry, 46:4869-4873.

Viera ., 2001: Microbiocidol effect of medicinal plants extracts(Psidium guajava LINN, and Papaya LINN) upon bacteria isolated from fish muscle and Known to induce diarrhea in children.

Wen-Rehaba A-I., 2002. Etude des activités biologiques et la toxicité aigue de l'extrait aqueux des feuilles de Mangifera Indica L.(Anacardiaceae). Thèse de doctorat. Université de Bamako. 128p.

Wink M., 1999. Plant secondary metabolites from higer plants: biochemistry, fuction and biotechnology. Biochemistry of plant Secondary Metabolism, Sceffield Academic: 1-16

Yanez J-A ., Anderus P-K ., Davies N-M., 2007. Methods of analysis and separation of chiral flavonoïds . *Journal of Chromatography*, **B848:159-181**.

Annexes:

Annexe 1 : Préparation des réactifs :

- Réactif de mayer :

Dissoudre 1.358 g de Hg C12 dans 60 ml d'eau distillée. Dissoudre 5 g de KL dans 10 ml d'eau mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100 ml.

- Réctif de wanger :

Dissoudre 2 g de Kl et 1.27g de 12 dans 75 ml d'eau distillée. Ajuster le volume total à 100 ml

Annexe 2 : Composition des milieux de culture (g/1) :

▪ **Gélose nutritive :**

- Extrait de viande 0.1 g
- Extrait de levure 02 g
- Peptone 05g
- Chlorure de sodium 05 g
- Agar 15g

Ph =7.5

▪ **Bouillon nutritif :**

- Peptone 15g/1
- Yeast extract 3g/1
- Sodium chloride 6g/1
- D (+) glucose 1g/1

Ph=7.5

▪ **Muller-Hinton :**

- Infusion de viande de bœuf 300cm
- Peptone de caséine 17.5g
- Amidon de maïs 1.5g
- Agar 17g

Ph=7.4

▪ **Sabouraud :**

- Peptone 100g/l
- Glucose 20g/l
- Agar 15g/l
- Chloramphinicole 0.5g/l

▪ **PDA (potato dextrose agar)**

- Pomme de terre 200g/l
- Saccharose 10g/l
- Agar 15g/l

Annexe 03: Diamètres des zones d'inhibition en (mm) relative aux souches testés

Souches/ ATB	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Kelebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus cloacae</i>	<i>Esherichia coli</i>	<i>Acinéto bacter baumanii</i>
OX	-	15	-	-	-	-	-	-
PT	11	25	-	12	25	-	14	20
OF	33	25	21	32	25	30	30	27
FUS	-	15	-	-	-	-	-	-
CTX	24	8	20	30	-	20	27	-

Annexe 04 : Diamètres des zones d'inhibition en mm d'extrait testés relatifs aux souches étudiées.

Extrait /souches	Tanins 10 µL	Flavonoïdes 10 µL	Alcaloïdes 10µL	phénols Totaux 10µL
<i>Candida albicans</i>	7/6	8	-	-
<i>Esherichia coli</i>	11	11	-	9
<i>Enterobacter cloacae</i>	10	11	11	10
<i>Bacillus cereus</i>	10	12	-	11
<i>Proteus mirabilis</i>	13	11	10	11
<i>Kelebsiella pneumoniae</i>	9	11	10	11
<i>Acinéto bacter baumanii</i>	9	15	12	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15	9	-	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	11	10	9

Annexe 05 : diamètres des zones de croissance des moisissures (en mm) en présence de l'extrait phénolique à une concentration de 100 µl :

	Témoins	Flavonoïdes	Tanins	Alcaloïdes	phénols Totaux
<i>Aspergillus flavus</i>	4	4	4	4	4
<i>Aspergillus orchaceus</i>	6	6	6	6	6
<i>Aspergillus niger</i>	85	12	34	42.5	45.5

Annexe 06: Les pourcentages d'inhibition de l'extrait phénolique concernant les moisissures :

	Tanins	Flavonoïdes	Alcaloïdes	phénols Totaux
<i>Aspergillus flavus</i>	0%	0%	0%	0%
<i>Aspergillus orchaceus</i>	0%	0%	0%	0%
<i>Aspergillus niger</i>	60%	85%	50%	46.6%

Résumé

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche de nouveaux agents antimicrobiens naturels, extrait à partir de plante. Nous nous sommes intéressés à une espèce végétale qui pousse à l'état spontané dans la région d'Adrar appelé *Pergularia tomentosa* L.

Nos résultats ont montré que cette plante est riche en eau (82, 34%).

L'extraction sélective des métabolites secondaires nous a permis de constater que le rendement des phénols totaux est de 17, 6 %, les flavonoïdes 3, 46%, suivi des tannins 2,1% alors que les alcaloïdes présentent le rendement le plus faible 0,8%.

L'étude de pouvoir antimicrobien des extraits phénoliques (tannins et flavonoïdes ainsi que les alcaloïdes) des feuilles de *Pergularia tomentosa* a montré que les flavonoïdes possèdent une activité antimicrobienne très importante plus particulièrement sur les souches bactériennes : *Acinetobacter baumannii* et *Bacillus*, les tannins ont également inhibé la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*. L'effet des alcaloïdes a été remarquable sur *Candida albicans*. Les extraits ont agi sur la croissance de *Aspergillus niger* avec des taux d'inhibition : 85% pour les flavonoïdes et 60% pour les tannins.

L'ensemble des résultats nous a permis de conclure que cette plante possède des substances qui peuvent être très actives pour le traitement de certaines infections et même certaines maladies dermatologiques.

Mots clés : *Pergularia tomentosa*, extraits, pouvoir antimicrobien.

Summary

Our work is part of the search for new natural antimicrobial agents extracted from plants. We are interested in a plant species that grows wild in the Adrar region called *Pergularia tomentosa* L..

Our results showed that this plant is rich in water (82, 34%).

The selective extraction of secondary metabolites, we found that the yield of total phenols was 17, 6%, flavonoids 3, 46%, followed by 2.1% tannins while alkaloids present the performance the lowest 0, 8%.

The study of antimicrobial potency of phenolic extracts (tannins and flavonoids and alkaloids) leaves *Pergularia tomentosa* showed that flavonoids have an important antimicrobial activity particularly on bacterial strains: *Acinetobacter baumannii* and *Bacillus*. tannins also inhibited the growth of *Pseudomonas aeruginosa*. The effect of alkaloids has been outstanding on *Candida albicans*. The extracts affects growth *Aspergillus Niger* with inhibition rate: 85% flavonoids and 60% for tannins.

All the results we concluded that this plant has substances that can be very active for the treatment of certain infections and even some skin diseases.

Keywords: *Pergularia tomentosa* ,extraits ,antimicrobial potency.