

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Blida 1

جامعة سعد دحلب البليدة 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département des Biotechnologies

قسم البيوتكنولوجيا

Laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques

مختبر البحث في النباتات الطبية و العطرية

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme **MASTER**

**Thème :**

**Evaluation de quelques activités biologiques des extraits  
(polyphénols et hydrolat) d'*Inula viscosa* et formulation  
de produit phyto-thérapeutique.**

**Présenté par :**

Melle. RADOUANE Fatma

Melle. AKROUR Narimène

**Devant le jury :**

	<b>Grade</b>	<b>Organisme</b>
<b>Président</b> : Mme Ghanai R	MAA	USDB
<b>Promotrice</b> : Mme Belguendouz R	MCA	USDB
<b>Examinatrice</b> : Mme Arrar K	MAA	USDB

**Année universitaire : 2019/2020**

## Dédicaces et Remerciements

---

### **Dédicace :**

*Je dédie ce travail à, mes parents et mes frères qui grâce à eux, j'ai atteint ce que je suis aujourd'hui. Un mot de remerciement est peu pour eux Si je leur donne le monde entier, il ne suffira pas de les remercier.*

*Ama chère copine Daoud Daouia, je t'aime trop fort merci d'avoir m'accompagné*

*Tout le respect et l'appréciation à mon binôme, Fatma, qui a participé avec moi à la réalisation de ce travail, et je suis très heureuse d'avoir eu l'opportunité de vous connaître et d'étudier avec vous dans la même classe pendant 4 ans et voici nous sommes sur le point d'obtenir notre diplôme aujourd'hui, je vous souhaite du succès dans votre vie et j'espère vous revoir dans un autre travail.*

*À mes meilleur amie Ilham Je la trouvé, que ce soit dans ma joie ou dans mon chagrin, comme je n'oublie pas mes amies Tima et Imane je leur souhaite de réussir dans la réalisation de leur carrière éducative et de réussir dans leur vie.*

*À toutes les personnes qui m'ont aidé à réaliser ce travail y compris mon cousin Lyes Akrouf et Omar Abbasse et toutes la promo de biotechnologie et valorisation des plantes 2019/2020.*

### **Remerciement :**

*Tout d'abord, nous remercions Dieu, qui nous a donné la force de terminer notre chemin d'étude malgré toutes les difficultés. Aussi nous remercions dieu le tout puissant de nous avoir aidé à arriver au terme de ce travail qui représente le fruit de plusieurs années d'études.*

*Nous adressons nos sincères remerciements pour notre promoteur Belgeundouze Rachida pour sa patience et ses orientations précieuses.*

*Nous tenons également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont accordé en acceptant de juger notre travail (Madame Ghenai , Madame Arrar ).*

*Nous tenons à remercier aussi :*

*L'ensemble des responsables et des employés de laboratoire de biotechnologie et de la recherche des plantes médicinales et aromatique.*

*Le monsieur Megatli Ismail et toutes son équipes qui nous ont ouvert leur laboratoire afin réaliser une partie de notre travail.*

*Le laboratoire saidal qui est une expérience incroyable grâce à laquelle nous avons appris plusieurs choses précieuses.*

**Narimène**

## Dédicaces et Remerciements

---

### **Dédicace :**

*Avant toute chose je tiens à remercier dieu de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.*

*Je dédie ce modeste travail :*

*À mes parents sources constantes d'encouragement, de soutien, de confiance et d'affection*

*« Il faut travailler pour être utile, il faut être utile pour être aimé, il faut être aimé pour être heureux »*

*À mes frères : Faras, Side Ahmed et Wassim, aussi ma petite soeur Marya*

*À mon proche ami kassem qui m'encourageait toujours*

*Mes chères amies :Tima et Imène*

*À mon très chérie binôme Narimène :*

*Un profond respect et remerciement pour ses qualités humaines et sociales et pour les efforts qu'il a fournis pour réaliser ce travail.*

*À tous qui m'aide pour accomplir ce modeste travail*

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude, et frères de coeur.*

### **Remerciement :**

*Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide de ALLAH qui ma donné la force afin de l'accomplir.*

*Je tiens à exprimer mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à mon promoteur, le professeur Belgandouze , qui a su, à sa façon, me conseiller et m'orienter tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Je remercie également, Madame Ghanai pour avoir accepté la présidence du jury de ce travail et aussi, Madame Arrar pour avoir accepté l'examination.*

*Toutes mes salutations à tous mes collègues de la promotion de magister 2020 pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.*

*Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de mes très vifs remerciements.*

**Fatma**

## Résumé

---

Le bassin méditerranéen présente une très grande diversité en espèce végétale spontanées d'un grand intérêt phytothérapeutique. Dans ce contexte, nous avons choisi d'étudier une plante médicinale spontanée (*Inula viscosa*) qui pousse dans les montagnes d'Aissaouia dans la région de Médéa. Notre travail vise l'extraction des substances actives de la plante (polyphénols et hydrolat), l'étude phytochimique et l'étude des activités biologiques importantes tels que l'activité antimicrobienne sur cinq souches bactériennes (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella*) et deux souches fongiques (*Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis*), anti-inflammatoire et insecticide. Les résultats ont montré que les polyphénols ont un effet positif et efficace sur toute les souches microbiennes qui est différent de celui de l'hydrolat, qui a montré un effet considérable uniquement sur *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus*. Pour l'activité insecticide en fonction du temps (24h, 48h et 72h), sur les larves de la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata*, aucune efficacité de ces extraits n'a été observé sur les larves (pas de mortalité), pour l'autre insecte *Armadillidium vulgare*, montre une grande sensibilité vis-à-vis l'extrait éthanolique brut. Cette plante renferme des métabolites secondaires telle que les flavonoïdes, les tanins totaux, les glucosides et les saponosides, ce qui laisse dire que cette plante est une plante médicinale qui possède plusieurs propriétés phytothérapeutiques avec l'absence totale des alcaloïdes, irridoïdes, anthocyanes, amidon et proantocyanidols.

**Mots clés :** *Inula viscosa*, Algérie, polyphénols et hydrolat, activité anti-microbienne, activité anti-inflammatoire, activité insecticide, phytochimique.

## Abstract

---

The Mediterranean basin presents a very great diversity in spontaneous plant species of great phytotherapeutic interest. In this context, we have chosen to study a spontaneous medicinal plant (*Inula viscosa*) that grows in the mountains of Aissaouia in the Medea region. Our work targets the extraction of active substances from the plant (polyphenols and hydrolate), the phytochemical study and the study of important biological activities such as antimicrobial activity on five bacterial strains (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella*) and two fungal strains (*Candida albicans* and *Aspergillus brasiliensis*), anti-inflammatory and insecticide. The results showed that the polyphenols have a positive and effective effect on all microbial strains which is different from that of hydrosol, which showed a significant effect only on *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*. For the insecticidal activity as a function of time (24h, 48h and 72h), on the larvae of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata*, no efficacy of these extracts was observed on the larvae (no mortality), for other insect *Armadillidium vulgare*, we show great sensitivity. This plant contains secondary metabolites such as flavonoids, total tannins, glucosides and saponosides, which suggests that this plant is a medicinal plant which has several phytotherapeutic properties with the total absence of alkaloids, irridoids, anthocyanins, starch and Proantocyanidols.

**Key words :** *Inula viscosa*, Algeria, polyphenols and hydrolate, antimicrobial activity, anti-inflammatory activity, insecticidal activity, phytochemical.

## الملخص

يقدم حوض البحر الأبيض المتوسط تنوعًا كبيرًا جدًا في الأنواع النباتية العفوية ذات الأهمية العلاجية النباتية. في هذا السياق، إختارنا دراسة نبات طبي عفوي (*inula viciosa*) ينمو في جبال العيساوية في منطقة المدية. يستهدف عملنا إستخراج المواد الفعالة من النبات (بوليفينول وهيدرات) ، الدراسة الكيميائية الضوئية ودراسة الأنشطة البيولوجية المهمة مثل النشاط المضاد للميكروبات على خمس سلالات بكتيرية (العصيات الفرعية ، المكورات العنقودية الذهبية ، الإشريكية القولونية ، *Pseudomonas aeruginosa* و *Salmonella*) وإثنين من السلالات الفطرية (*Candida albicans* و *Aspergillus brasiliensis*) ، مضادات الإلتهابات والمبيدات الحشرية. أوضحت النتائج أن مادة البوليفينول لها تأثير إيجابي وفعال على جميع السلالات الميكروبية التي تختلف عن تلك الموجودة في الهيدروسول ، والتي أظهرت تأثيرًا هامًا فقط على *Staphylococcus aureus* و *Candida albicans*. بالنسبة لنشاط المبيدات الحشرية بدالة الزمن ( 24 ساعة و 48 ساعة و 72 ساعة) ، على يرقات ذبابة ثمار البحر الأبيض المتوسط *Ceratitidis capitata*، لم يلاحظ أي فعالية لهذه المستخلصات على اليرقات (لا توجد وفيات) ، أما بالنسبة للحشرة الأخرى *Armadillidium vulgare* فقد سجلنا تأثيرًا كبيرًا بالمستخلص الخام . يحتوي هذا النبات على مستقلبات ثانوية مثل الفلافونويد والتانينات الكلية والغلوكوزيدات والسابونوزيدات ، مما يشير إلى أن هذا النبات هو نبات طبي له العديد من الخصائص العلاجية النباتية مع الغياب التام للقلويدات والإريديويد والأنتوسيانين والنشاء والبرونتوسيانيدول .

**الكلمات المفتاحية:** مقرمان، الجزائر ، بوليفينول وهيدرات ، نشاط مضاد للميكروبات ، نشاط مضاد للإلتهابات ، نشاط مبيد للحشرات ، كيمياء ضوئية نباتية.

## Liste des Figures

---

<b>Figure 01 :</b>	Photographie d' <i>Inula viscosa</i> (L.) Ait.....	<b>05</b>
<b>Figure 02 :</b>	Les feuilles d' <i>Inula viscosa</i> .....	<b>05</b>
<b>Figure 03 :</b>	Les fleurs d' <i>Inula viscosa</i> .....	<b>06</b>
<b>Figure 04 :</b>	Le fruit d' <i>Inula viscosa</i> .....	<b>06</b>
<b>Figure 05 :</b>	Photo originale d' <i>Inula viscosa</i> au bord de route.....	<b>07</b>
<b>Figure 06 :</b>	<i>Ceratitis capitata</i> (adulte).....	<b>17</b>
<b>Figure 07 :</b>	Les étapes de développement de <i>Ceratitis capitata</i> .....	<b>18</b>
<b>Figure 08 :</b>	Situation géographique du site de collecte d' <i>Inula viscosa</i> Aissaouia.....	<b>20</b>
<b>Figure 09 :</b>	Photographie de plante étudiée <i>Inula viscosa</i> .....	<b>20</b>
<b>Figure 10 :</b>	La plante étudiée <i>Inula viscosa</i> dans sa région de récolte(Médeia).....	<b>22</b>
<b>Figure 11 :</b>	Montage d'hydrodistillation utilisé dans l'extraction des HEs.....	<b>23</b>
<b>Figure 12 :</b>	Hydrodistillateur ( Clevenger) utilisé dans l'extraction.....	<b>24</b>
<b>Figure 13 :</b>	L'hydrolat récupérée.....	<b>24</b>
<b>Figure 14 :</b>	Un pH-mètre original.....	<b>24</b>
<b>Figure 15 :</b>	Séchage de plante étudiée <i>Inula viscosa</i> (original).....	<b>25</b>
<b>Figure 16 :</b>	Les étapes de préparation de poudre.....	<b>26</b>
<b>Figure 17 :</b>	Les étapes d'extraction des polyphénols (extrait éthanolique).....	<b>28</b>
<b>Figure 18 :</b>	Préparation des dilutions d'extrait brut .....	<b>30</b>
<b>Figure 19 :</b>	Antibiotique "LAMIDAZ".....	<b>31</b>
<b>Figure 20 :</b>	Antibiotique"PRIMAZOL".....	<b>31</b>
<b>Figure 21 :</b>	Les étapes de préparation de milieu de culture.....	<b>32</b>
<b>Figure 22 :</b>	Les étapes de détermination d'activité antimicrobienne.....	<b>35</b>
<b>Figure 23 :</b>	Fruit d'orange attaquée par <i>Ceratitis capitata</i> .....	<b>35</b>
<b>Figure 24 :</b>	Traitement des larves de la mouche méditerranéenne des fruits.....	<b>37</b>
<b>Figure 25 :</b>	Insecticide chimique (DECIS 25 EC).....	<b>37</b>
<b>Figure 26 :</b>	Insecte <i>Armadillidium vulgare</i> .....	<b>37</b>

## Liste des Figures

---

<b>Figure 27 :</b>	Traitement d' <i>Armadillidium vulgare</i> .....	<b>38</b>
<b>Figure 28 :</b>	Formulation de pommade anti-inflammatoire.....	<b>40</b>
<b>Figure 29 :</b>	Formation de quelques gouttes d'huile essentielle dans l'hydrolat.....	<b>41</b>
<b>Figure 30 :</b>	Taux d'humidité des feuilles d' <i>Inula viscosa</i> .....	<b>42</b>
<b>Figure 31 :</b>	Taux de mortalité moyen des larves de la cératite traités par différentes doses de traitements (naturels et chimiques).....	<b>50</b>
<b>Figure 32 :</b>	Taux de mortalité moyen d' <i>Armadillidium vulgare</i> par différentes doses de traitements (naturels et chimiques).....	<b>51</b>



## Liste des tableaux et des annexes

---

### Liste des tableaux :

<b>Tableau 01 :</b>	La classification taxonomique d'espèces <i>Inula viscosa</i> .....	<b>07</b>
<b>Tableau 02 :</b>	Les coordonnées du lieu de récolte.....	<b>19</b>
<b>Tableau 03 :</b>	Les souches testées et leur références.....	<b>21</b>
<b>Tableau 04 :</b>	Les différentes concentrations des polyphénols.....	<b>31</b>
<b>Tableau 05 :</b>	Les différentes concentrations d'hydrolat.....	<b>31</b>
<b>Tableau 06 :</b>	Teneur en eau des feuilles d' <i>Inula viscosa</i> .....	<b>42</b>
<b>Tableau 07 :</b>	Taux d'extraction des polyphénols.....	<b>43</b>
<b>Tableau 08 :</b>	Résultats de screening phytochimique.....	<b>43</b>
<b>Tableau 09 :</b>	Diamètre des zones d'inhibition (mm) de l'extrait brut et de l'hydrolat pur (avec des dilutions), des antibiotiques et des antifongiques sur la croissance de différentes souches testées.....	<b>46</b>
<b>Tableau 10 :</b>	CMI de chaque traitement vis-à-vis les micro-organismes.....	<b>49</b>

### Liste des annexes :

<b>Annexe I :</b>	Les souches microbiennes utilisées
<b>Annexe II :</b>	Matériels non biologiques
<b>Annexe III :</b>	Produit et réactifs
<b>Annexe IV :</b>	Résultats de l'activité antimicrobienne
<b>Annexe V :</b>	Préparation des réactifs
<b>Annexe VI :</b>	Caractéristiques des souches utilisées
<b>Annexe VII :</b>	Présentation des pathogènes sur leurs milieux sélectifs
<b>Annexe VIII :</b>	Techniques d'ensemencement

## Liste des Abréviations

---

<b>Abréviation</b>	<b>Désignation</b>
<b>AFNOR</b>	: Association Française de Normalisation
<b>ATCC</b>	: American Type Culture Cells
<b><i>C. Capitata</i></b>	: <i>Ceratitis capitata</i>
<b>CMI</b>	: Concentration minimale inhibitrice
<b>CRD</b>	: Central Registration Depository
<b>DMSO</b>	: Diméthyle sulfoxyde
<b>DO</b>	: Densité Optique
<b>DZI</b>	: Diamètre de zone d’Inhibition
<b><i>E.coli</i></b>	: <i>Escherichia coli</i>
<b>FAO</b>	: Organisation des Nations unies pour l’alimentation et l’agriculture
<b>FeCl3</b>	: Trichlorure ferrique
<b>HCl</b>	: Acide chlorhydrique
<b>HE/Hes</b>	: Huile essentielle
<b>H2SO4</b>	: Acide sulfurique
<b><i>I.viscosa</i></b>	: <i>Inula viscosa</i>
<b>MH</b>	: Mueller Hinton
<b>OMS</b>	: Organisation Mondiale de la Santé
<b>ONS</b>	: Office National des Statistiques(Algérie)
<b>R</b>	: Rendement
<b><i>S.aureus</i></b>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>UFC</b>	: Unité Formant Colonie
<b>UV</b>	: Ultra-violet

## Glossaire

---

- **Akène** : petit fruit sec qui ne contient qu'une seule graine dont le péricarpe, qui ne s'ouvre pas à maturité plus ou moins sclérifié, n'est pas soudé à la graine.
- **Anthelminthiques**: substance capable de traiter des infections d'origine Parasitaire provoquées par les helminthes.
- **Antiémétique** : substance qui permet de prévenir ou de traiter les vomissements et les nausées.
- **Antipyrétique** : substance qui diminue la fièvre.
- **Antiseptique** : remède contre la gangrène. Produit utilisé sur les surfaces externes du corps, qui détruit les micro-organismes : bactéries, etc
- **Antitussif** : médicament destiné à lutter contre la toux, à en limiter les effets.
- **Antiulcéreux** : destiné à lutter contre l'ulcère.
- **Apyrène** : dont les fruits ne contiennent pas de graines.
- **Arthrite** : nom générique qui désigne les inflammations aiguës ou chroniques des articulations.
- **Athérome** : pathologie artérielle, par lésion de la couche de la paroi de l'artère nommée intima qui se trouve épaissie.
- **Athérosclérose** : sclérose artérielle secondaire à l'athérome.
- **Atonie** : diminution de l'élasticité des tissus contractiles.
- **Bronchite** : inflammation de la muqueuse des bronches.
- **Diurétique** : qui augmente la sécrétion de l'urine.
- **Homéostasie** : capacité d'un organisme à maintenir son équilibre physiologique interne malgré les contraintes extérieures.
- **Neurodégénératif** : qui entraîne la dégénérescence du tissu nerveux avec perte de neurones et de leurs fonctions.

# Table des matières

---

Remerciement / Dédicace

Résumé

Liste des figures / Liste des tableaux

Liste des annexes / Liste des abréviations

Glossaire

Introduction..... 01

## Partie I :Synthèse des données bibliographiques

### Chapitre I : Les plantes médicinales et la phytothérapie

1. Les plantes médicinales..... 03

2. La phytothérapie..... 03

3. Présentation de plante étudiée : *Inula viscosa*..... 04

### Chapitre II : Extraits de la plante

1. Huiles essentielles..... 09

2. Un hydrolat..... 10

3. Les composés phénoliques..... 11

### Chapitre III : Les activités biologiques

1.Activité anti-inflammatoire..... 13

2. Activité antimicrobienne..... 15

3. Activité insecticide..... 17

## Partie II : Partie expérimentale

### Chapitre IV : Matériels et méthodes

1. Matériels..... 20

## Table des matières

---

1.1. Matériels biologiques.....	20
1.2. Matériels non biologiques.....	21
<b>2. Méthodes.....</b>	<b>22</b>
2.1. Récolte et identification du matériel végétale.....	22
2.2. Extraction des huiles essentielles et hydrolat.....	23
2.3. Extraction des polyphénols.....	25
2.4. Test phytochimique (screening chimique).....	28
2.5. Etude des activités biologiques.....	30
2.6. Formulation de produit phytothérapeutiques.....	39

### Chapitre V: Résultats et discussion

1. Rendement des huiles essentielles et hydrolat.....	41
2. Détermination du pH.....	41
3. Taux d'humidité.....	42
4. Taux d'extraction des polyphénols.....	42
5. Screening phytochimique.....	43
6. Activité antimicrobienne.....	46
7. Activité insecticide.....	50
<b>Conclusion.....</b>	<b>52</b>
<b>Perspective.....</b>	<b>53</b>
<b>Référence.....</b>	<b>54</b>

### Annexes

## Introduction

---

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales ont joué un rôle essentiel dans la prévention de la santé humaine. Elles continuent de fournir à l'humanité de nouveaux remèdes. Il est donc important d'explorer les plantes médicinales pour leur sécurité, leur qualité, leur toxicité et leur efficacité. Les chercheurs s'intéressent beaucoup à l'étude de ces plantes dans le but d'isoler de nouveaux médicaments naturels et actifs pour la médecine moderne (**Nemudzivhadi et Masoko, 2014**). Á ce jour, 20000 à 25000 plantes seraient utilisées dans la pharmacopée humaine. Environ 75 % des médicaments auraient une origine végétale dont 25 % d'entre eux contiendraient au moins une molécule active d'origine végétale (**Fouché et al., 2000**).

Les plantes médicinales sont des plantes dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Omar et El haykle, 1993**). Elle contient au niveau de leurs organes, un ou plusieurs principes actifs appelés métabolites secondaire (**Fransworth et al., 1986**), considérés comme des sources potentielles de nouveaux médicaments, des antibiotiques naturels (**Bouzouita et al., 2008**). Ils font aussi l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative à la protection des végétaux (**Boudjemaa S, 1999 ; Chabou A, 2000; Ben abedelkrim A, 2009; Guerrida S, 2010**).

Malgré l'effet thérapeutique des plantes médicinales elles doivent être utilisées avec la plus grande vigilance car elle peut avoir un risque de toxicité (**Fouché et al., 2000**).

L'Algérie, de part sa position géographique, présente une large gamme d'étages bioclimatiques, induisant une biodiversité de plantes utilisées comme condiments, aliments naturels et pour des buts thérapeutiques (**Emberger L, 1971**). *Inula viscosa* (L), connu en Algérie sous le nom de Magraméne, appartient à la famille des Astéraceae, pousse à l'état spontané dans les montagnes de la région de Médea et se trouve en abondance dans plusieurs régions montagneuses. Cette plante est fortement utilisée en phytothérapie traditionnelle en Algérie. Pour cela, le présent travail a l'objectif de confirmer et de compléter les informations scientifique déjà noté sur cette plante, notamment, l'étude phytochimique de la poudre de la plante et l'activité anti-microbienne, anti-inflammatoire et insecticide des extraits polyphénoliques et de l'hydrolat.

Ce mémoire est composé de deux parties. La première partie propose une recherche bibliographique divisé en chapitre I consacré à l'étude des plantes médicinales et la phytothérapie et chapitre II qui traite la valorisation des ressources végétales par une meilleure connaissance de la composition chimique et le troisième chapitre étude des activités biologiques d'extrait polyphénolique et hydrolat.

## Introduction

---

Dans la seconde partie (pratique), nous avons décrit le matériel végétal et animale avec une présentation des différentes techniques d'analyse utilisées au cours de ce travail, puis l'extraction des polyphénols et hydrolat, suivi de l'étude de son activités biologiques. Enfin formulation de produit phyto-thérapeutique. Les résultats obtenus sont ensuite amplement discutés. Le manuscrit est achevé par une conclusion générale, la liste des références bibliographiques et les annexes.

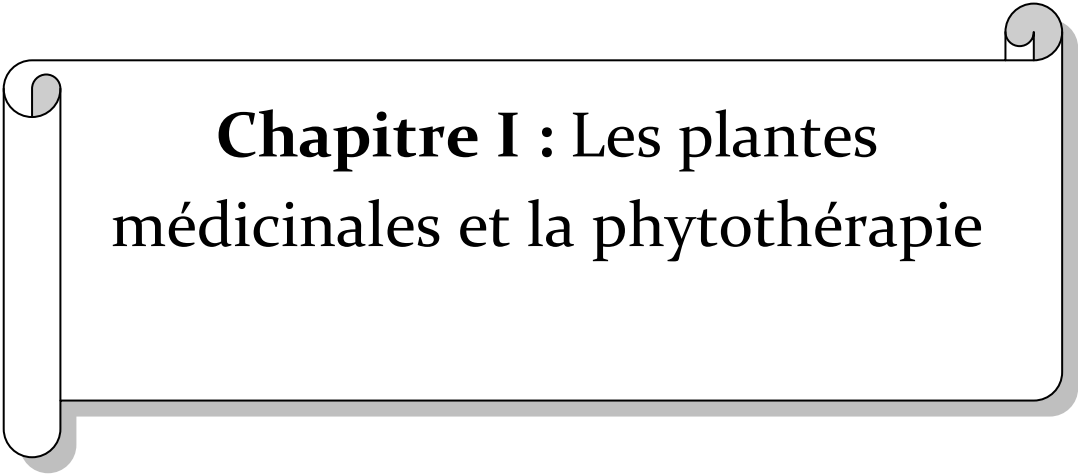
L'objectif principale de notre travail consiste à valoriser *Inula viscosa* sur le plan phytochimique, médicinal et phytopharmaceutique (lutte biologique), en mettant en évidence l'efficacité de son extrait polyphénolique et hydrolat comme agents antimicrobien, insecticide et anti-inflammatoire.

L'hypothèse de recherche que soutient ce travail est donc ainsi formulée : les extraits polyphénoliques et hydrolat des parties aériennes d'*Inula viscosa* possèdent-ils une activité anti-microbienne, anti-inflammatoire et insecticide.



**Partie bibliographique**





**Chapitre I : Les plantes  
médicinales et la phytothérapie**

## **1. Les plantes médicinales :**

### **1.1. Définition des plantes médicinales :**

Les plantes médicinales sont les plantes utilisées en phytothérapie pour leurs principes actifs, elles peuvent être vendues en herboristerie, en pharmacie, avec ou sans prescription selon la réglementation du pays (**Debuigne G, 1974**).

### **1.2. Les plantes médicinales et leurs utilisations :**

Les plantes médicinales sont utilisées pour prévenir, soigner ou soulager différentes maladies. Elles sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme des agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (**Decaux I, 2002**). Les plantes sont donc la source principale de substances actives, et pas uniquement dans la médecine traditionnelle (**Palomo N, 2011**).

### **1.3. Composition photochimique des plantes :**

**1.3.1. Métabolites primaires :** sont nécessaire et vital à la survie de la cellule et de l'organisme (**Michel B, 2010**).

**1.3.2. Métabolites secondaires :** il appartient à des groupes chimiques variés (**Macheix et al., 2005**). Il intervient dans l'adaptation de la plante à son environnement ; la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allopathiques et pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (**Judd et al., 2002**).

## **2. La phytothérapie :**

### **2.1. Définition :**

La phytothérapie, est le traitement par les plantes ; c'est-à-dire par la consommation ou l'utilisation de produits préparés à partir de plantes sans passer par une étape de sélection de molécules, on ne consomme donc pas que le principe actif mais tout ce que contient la plante (**Bruneton J, 1999**).

## 2.2. Les différents types de phytothérapie :

On peut distinguer différents types de thérapies par les plantes :

- **La phytothérapie** : l'utilisation des différentes parties des plantes (feuilles, fleurs, racine ou la plante entière) sous différents formes galéniques.
- **La gemmothérapie** : l'utilisation des bourgeons de la plante.
- **L'aromathérapie** : l'utilisation des huiles essentielles obtenues grâce à divers procédés d'extraction (**Vernex-Lozet C, 2011**).
- **Phytothérapie pharmaceutique** : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules (**Strang C, 2006**).

## 3. Présentation de plante étudiée : *Inula viscosa*

### 3.1. Origine du nom :

L'Inule visqueuse doit son nom au grec « inaein » qui signifie purgé. Le nom Inule vient de l'ancien nom de l'Aunée, probablement par déformation du grec hélénion. En Algérie (la Kabylie et l'est d'Algérie) cette plante est nommée « Amagraman » qui vient de magar : rencontrer, amane : eau (**Lecomte J, 2015**).

### 3.2. Nomenclature :

Synonymie *Capularia viscosa* ou *Dittrichia viscosa* (L) Greuter, car elle possède des poils glanduleux sur l'ovaire, ce qui n'est pas le cas des autres plantes du genre *Inula* (**Ciccarelli D et al., 2007**).

- Anglais Rock flea-bane (**Halimi A, 1997**).
- Français : Inule visqueuse, Aunée visqueuse (**Léger, 2007**).
- Maroc : Terhalâ (**Zeggwagh N.A et al ., 2006**).
- Kabylie : Amagramane (**Baba Aissa F, 2000**).
- Vernaculaires : Magramane (**Baba Aissa F, 2000**).



Figure 01 : Photographie d'*Inula viscosa* (L.) Ait.

### 3.3. Description botanique :

*Inula viscosa* ou l'inule visqueuse est une plante arbuste, vivace, elle pousse dans les champs «sauvages» dans les alentours du bassin méditerranéen, dans les collines, les zones humides et les bords de la route et apprécie les sols secs et calcaires (Baytop T, 1984; Wang W et al., 2004). *I.viscosa* est une plante d'une hauteur de 0,5 à 01 mètre qui appartient à la famille des Asteraceae. La floraison est à la fin d'été et le début d'automne. Les fleurs sont de couleur jaune. La croissance de l'inule visqueuse est rapide, son nom vernaculaire est « magramen = مقرمان » (Quezel P et Santa, 1963).

La famille des actéracées (Compositae) est l'une des plus grandes familles d'angiospermes, avec environ 1 600 genres et environ 25 000 espèces (Hattori et Nakajima, 2008).

#### - La phénologie d'Inule visqueuse :

- ✓ **Les feuilles :** la plante commence à produire des nouvelles feuilles au mois de mars de taille 1 cm. Ces dernières sont positionnées sur la base inférieure des tiges, occupant bien sûr la place des feuilles sèches de l'année antérieure (Parolin P et al., 2013). Sont entières ou dentées, aiguës, sinuées, les caulinaires amplexicaules, plus largement lancérolées (Quezel P et Santa, 1963).



Figure 02 : Les feuilles d'*Inula viscosa*

- ✓ **Les fleurs :** les boutons floraux apparaissent à la fin du mois de juillet. Dans la deuxième décennie du mois d'août la plupart des fleurs seront matures, brillantes, jaunes et étendues aussi des nouvelles fleurs seront produites lors du mois d'octobre (**Parolin P et al., 2013**).



**Figure 03 :** Les fleurs d'*Inula viscosa*

- ✓ **Le fruit :** au début du mois d'octobre, il y a l'apparition des premiers fruits avec akènes et pappus poilus, ces fruits sont régulièrement présents jusqu'au mois de novembre. Au-delà de cette période et sous l'action du vent, les graines seront dispersées et le reste de fruit (capsule sèche) persiste sur la tige durant l'hiver (**Parolin P et al., 2014**).



**Figure 04 :** Le fruit d'*Inula viscosa*

### 3.4. Classification taxonomique :

Selon **Quezel P et Santa (1963)** ; **Dupont F et Guignard J.L (2007)**, la position systématique d'*Inula viscosa* est représenté dans le **Tableau 01** .

**Tableau 01** : La classification taxonomique d'espèces *Inula viscosa*.

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotyledones
Sous classe	Gamopetales
Ordre	Campunulales
Famille	Astéraceae ou Compositeae
Genre	<i>Inula</i>
Espèce	<i>Inula viscosa</i> (L) Ait

### 3.5. Ecologie :

L'Inule visqueuse est fréquente en région méditerranéenne, l'Europe du Sud-Est et en Asie occidentale (**Paquet J.M, 2014**). Se trouve dans l'Afrique, en Asie (beaucoup plus en chine) (**Gökbulut A, 2016**). Elle est largement répandue en Algérie dans les rocailles, les garrigues et les terrains argileux un peu humide (**Benayache S et al., 1991**).

**Figure 05** : Photo originale d'*Inula viscosa* au bord de route

### 3.6. Composition chimique :

Cette plante est composée de flavonoïdes et polyphénols. Ses composants majoritaires sont le camphre, l'eucalyptol et le thymol (**Benchohra M.A et al., 2011**).

Les travaux de **Benayache et al.(1991)**, rapportent que les parties aériennes d'*Inula viscosa* contiennent des flavonoïdes, des acides sesquiterpéniques, des triterpènes

et des esters. Selon **Oksuz S (1976)**, la plante contient d'autres substances dites mineures comportant des résines et des pectines constituant une matière noirâtre : la phytomélane.

### **3.7. L'utilisation traditionnelle:**

En Algérie, les feuilles sont utilisées séchées en tisanes et les huiles essentielles en sont extraites pour le traitement de diverses maladies telles que la bronchite, le diabète, le rhumatisme, les blessures et les maladies du système urinaire et digestif (**Talib W.H et al., 2012 ; Haoui I.E et al., 2015 ; Reeb C, 2010**).

L'inule visqueuse est couramment utilisée en médecine traditionnelle comme anti-gale, anti-inflammatoire (**Danino O et al.,2009**), antimicrobien, antidiabétique, antihelminthique et antipyrétique (**Cafarchia C et al., 2002**) et utilisée aussi comme antioxydant (**Schinella G.R et al.,2002 ; Benseguini-Tounsi L, 2001**).

Dans la médecine traditionnelle Espagnole, *I.viscosa* est utilisée dans le traitement de désordre gastroduodéal. Dans la Jordanie et la région de moyen orient, la médecine traditionnelle attribue à l'Inule visqueuse plusieurs utilités telle que : anthelminthique, expectorant, diurétique, traitement de bronchite, tuberculose, l'anémie et le cataplasme pour les douleurs de rhumatisme. Elle est aussi prescrite comme un agent promoteur dans l'induction de l'avortement et la stérilité des femelles (**Karim F et Quraan S, 1986**).

Au niveau de l'appareil respiratoire, elle agit comme sédatif de la toux et des spasmes bronchiques c'est un antiseptique certain de l'arbre respiratoire (**Benayache S et al., 1991**). Comme c'est le cas pour toutes les plantes aromatiques, l'inule corrige l'atonie de l'estomac et de l'intestin, elle améliore l'appétit et elle est antiémétique (**Roulier G, 1990**). Il a été rapporté aussi que la poudre d'*Inula viscosa* de la partie aérienne est utilisée dans le traitement des mycoses cutanées (**Benguerba A, 2008**).

### **3.8. Pouvoir toxiques de l'inule visqueuse :**

- **Activité anti fongique :** (**Qasem J et al., 1995**).
- **Activité phytotoxique :** (**Araniti F, 2017**).
- **Activité nématocide :** (**Ntalliet E.G, 2014**).
- **Insecticide végétal :** (**Bouchelta A et al., 2005**).



**Chapitre II : Extraits de**



### 1.1. Définition :

Une huile essentielle appelée aussi essence est un mélange de substances aromatiques volatiles peu complexe issue et produit par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytopathogènes (Lahlou M, 2004). Sont peuvent être présentes dans différents organes végétaux (Bruneton J, 1999). Les HEs doit être utilisées uniquement sur conseils du médecin d'aromathérapie aussi, nous conseillons de ne jamais prendre plus de trois gouttes (Bencheikh S.D, 2017 ; Scimeca D, 2006 ; Garreta R, 2006). Délai de leurs conservations de 6 mois à 3 ans (A.F.N.O.R., 2000).

### 1.2. Propriétés physiques et chimiques :

Il y a plus de 200 substances actives dans chaque huile essentielle : des alcools, des éthers, des terpènes, des acétates, des cétones et des phénols (Festy D, 2014).

Les huiles essentielles sont volatiles, elles ne sont que très rarement colorées, leur densité est en général inférieure à celle de l'eau. Elles ont un indice de réfraction élevé, sont solubles dans les solvants organiques usuels, liposolubles, entraînables à la vapeur d'eau (Bruneton J, 1993).

### 1.3. Propriétés biologiques et thérapeutiques :

Elles sont devenues utiles dans le traitement des différentes maladies, des blessures et des attaques diverses grâce à leurs propriétés pharmacologiques et biologiques (Rabelo A et al., 2014) :

- Propriétés anticancéreuses (Béliveau R et Gingras D., 2005).
- Propriétés antibactérienne et antifongique (Pauli A, 2001 ; Rasooli I et Mirmostafa S.A, 2002).
- Propriétés antioxydants (Braga P.C et al., 2006).
- Propriétés anti-inflammatoires (Maruyama N et al., 2005).

### 1.4. Les huiles essentielles du genre *Inula* :

#### - Activités biologiques:

Les huiles essentielles du genre *Inula* ont des propriétés antifongique, antiseptique, anti-inflammatoire, anti-infectieuse, microbicide, anticatarrhale, mucolytique puissante, calmante, régulatrice cardiaque, spasmolytique, antitussive et tonicardiaque (Haoui I.E et al., 2011 ; Zhao et al., 2010; Cafarchia et al., 2002).

**2.1. Définition :**

Produit issu de la distillation de plantes aromatiques (appelé eau florale lorsqu'il s'agit de la distillation de fleurs), l'hydrolat est une eau imprégnée d'une fraction de molécules odorantes. À la sortie du serpentin, l'hydrolat se distingue de l'huile essentielle, qui se situe en dessous, en raison de sa densité plus importante, a un parfum et un goût plus ou moins prononcé mais beaucoup moins concentré qu'une HE (Fontaine I, 2017).

**2.2. Les composés principaux :**

D'un point de vue moléculaire, les composés principaux de l'hydrolat sont en général les mêmes que ceux qui sont présents dans la fraction oxygénée de l'HE correspondante (Price L et Price S, 2004), lesquels sont responsables de l'odeur de cette solution aqueuse.

**2.3. Conservation et utilisations :**

L'hydrolat est proportionnellement fragile. En effet, sa faible concentration en huile essentielle et l'éventuelle présence de microparticules végétales favorisent la prolifération de bactéries. D'une durée d'utilisation de six mois à deux ans, ils sont à conserver de préférence au frais (idéalement au réfrigérateur), à l'abri de la lumière et de l'air (Fontaine I, 2017).

Il est en général utilisé à des fins nettoyants, toniques, apaisants, dans l'usage pharmaceutique. En usage externe, il est appliqué directement par vaporisation ou sous forme de compresse comme lotion ou comme tonique pour le visage et le corps. En usage interne, il est très utile dans le cadre des cures (pour une période de vingt jours lors des changements de saison) : drainage, stimulation du système immunitaire...etc. Les hydrolats peuvent être utilisés sous forme diluée ou pure (Watt M, 1999).

Autre utilisation : les inflammations et allergies (Fontaine I, 2017).

**2.4. Activité biologique des hydrolats :**

Les hydrolats ont été utilisés dans les industries alimentaires et cosmétiques. Selon certains auteurs, ils sont aussi utilisés en agriculture biologique contre les champignons, le mildiou et les insectes et pour la fertilisation (Özcan M et al., 2008).

### 3.1. Définition :

Les composés phénoliques constituent l'une des grandes familles de molécules largement répandues dans le règne végétal (**Beta T et al.,2005**). Sont des métabolites secondaires, d'un poids moléculaire élevé. Ils sont largement distribués dans le règne végétal (**Haslam E.,1993**). Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (**Urquiaga I et Leighton F., 2000**). Sont dérivent de la biogenèse de l'acide shikimique et/ou l'acétate et qui ne contiennent pas de l'azote (**Hugues A et al.,2011**).

### 3.2. Utilisation et propriété biologique des polyphénols :

Les polyphénols ont diverses fonctions biologiques (**Macheix J.J et al.,2005**), sont utilisés particulièrement dans la phytothérapie et l'industrie (**Ioana I et al.,2011**), en effet, ils sont utilisés comme colorant naturel, conservateur des aliments, dans la production de peintures, de papiers et de produits cosmétiques, ils ont aussi une activité antimicrobienne, antivirale et anti-inflammatoire (**Macheix J.J et al.,2005**), une activité anti-oxydante (**Kontogiorgis C et al., 2016**), anti-thrombotique, anti-allergique (**Arribas et al., 2013**), antiulcéreux, anti-carcinogène et anti-mutagène (**Nawaze et al., 2006**), prévention des maladies liées au vieillissement : infarctus du myocarde, cancers, maladies neurodégénératives. Mais on continue de s'interroger sur le réel impact de leur action anti-oxydante sur la santé humaine (**Hennebelle T et al.,2004**).

### 3.3. Biosynthèse des polyphénols :

Les composés phénoliques sont synthétisés par deux voies métaboliques : la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate :

- a. **La voie de l'acide shikimique** : qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples (**Boubekri C, 2014; Knaggs A.R, 2003**).
- b. **La voie de l'acétate** : qui conduit à des poly  $\beta$ -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphthoquinones (**Naczki M et Shahidi F,2004**).

### 3.4. Classification :

Il existe environ 8 000 composés phénoliques et poly-phénoliques actuellement connus avec des caractéristiques structurales phénoliques typiques (**Seca A.M et al., 2014**).

#### ❖ Les flavonoïdes :

Sont des constituants pigments quasi universels des végétaux, dont plusieurs sont responsables de couleur vive des fleurs, des fruits et des feuilles (**Boubekri C, 2014; Pietta P.G,2000**). Assurant ainsi la protection des tissus contre les agressions des UV (**Çakar S et al., 2016**). Sont une grande classe de métabolites secondaires englobant plus de 10 000 structures (**Kebieche M.,2009**). Sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (**Imelouane B et al.,2009**).

#### ❖ Les coumarines :

Sont des substances naturelles connues, il s'agit de composés à neuf atomes de carbone possédant le noyau benzo pyranone-2. Sont parmi les composés phénoliques les plus connus; se trouve dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (**Igor, 2002**).

#### ❖ Les Tanins :

Sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant un poids moléculaire (PM) compris entre 500 et 3000 Da (**Brunet S,2008**). Sont des macromolécules qui se divisent en deux groupes selon leur structure : les tannins hydrolysables et les tannins condensés (**Lucchesi M. E,2005**).

#### ❖ Les anthocyanes :

Anthocyane (du grec *antho*, fleur et *kuanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés ou anthocyanosides. La formation des anthocyanes est favorisée par la lumière ce qui correspond à leur rôle anti UV. L'action de la lumière, jointe à celle des basses températures, explique par ailleurs la pigmentation éclatante des fleurs de montagnes (**Guignard J,1996**). Ils sont très répandus dans le règne végétal sous forme d'hétérosides. On les trouve dans nombreuses fleurs, fruits murs, parfois dans les feuilles, auxquels ils confèrent leur couleur (**Ghestman C et al., 2001**).



**Chapitre III : Les activités  
biologiques**

**1.1. Inflammation :**

L'inflammation est un processus physiologique complexe de défense utilisée par l'organisme, après une agression étrangère, vasculaire et tissulaire, vis à éliminer ou isolé l'agresseur et maintenir l'intégrité des tissus infectés. L'inflammation est un état morbide caractérisé par les signes cardinaux suivants : chaleur, douleur, rougeur et tuméfaction de la partie malade (**Sarkhel S, 2015**).

**1.2. Les causes de l'inflammation :**

Les principales causes de l'inflammation sont :

- **L'infection par des agents pathogènes** : toxines bactériennes, virus, parasites et champignons (**Revillard J.P, 2001; Rousselet M.C et al., 2005**).
- **Les agents physiques** : chaleur, froid, traumatisme et l'irradiation par les rayons UV, X, ou Y (**Revillard J.P, 2001; Rousselet M.C et al., 2005**).
- **Les agents chimiques et métaboliques** : minérales, organiques ou biologiques (**Revillard J.P, 2001**).

**1.3. Symptômes :**

Il existe des différents symptômes de l'inflammation :

- les symptômes locaux (rougeur, chaleur, tumeur, douleur).
- les symptômes généraux (fièvre, asthénie, anorexie, myalgies, torpeur (**Muster M, 2005**)).

**1.4. Les type de l'inflammation :****1.4.1. Inflammation aiguë :**

Une réaction inflammatoire immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours ou semaines), caractérisée par l'adhérence des plaquettes, de neutrophiles puis les monocytes à l'endothélium (**Revillard J.P,2001**). Elle est la réponse typique du système immunitaire inné (**Espinosa E et chillet P,2006**), résidente à la guérison complète de la lésion initiale (**Genetet N,1997**). L'inflammation aiguë peut être divisée en trois grandes phases (**Weill B et al.,2003**) :

- **Phase vasculaire (initiation)** : elle se caractérise par la vasodilatation, transsudation plasmatique, œdème et fibrinof ormation (**Franco De et al.,2009**).

- **Phase cellulaire (amplification)** : faite d'un afflux extravasculaire interstitiel de leucocytes, principalement des polynucléaires neutrophiles, puis des cellules mononucléées dans un deuxième temps (**Franco De et al.,2009**).
- **Phase de résolution (réparation)** : lorsque neutrophiles et macrophages ont terminé leur travail de phagocytes, la réponse inflammatoire s'amenuise par l'élimination des neutrophiles apoptotiques et l'arrêt de l'afflux de neutrophiles (**Blétry O et JEK A,2006**). Cela permet la cicatrisation et la régénération tissulaire (**Weill B et al.,2003; Medzhitov R,2010**).

#### 1.4.2. Inflammation chronique :

Est une inflammation aiguë persistante, conduit à la formation de lésions focalisées (**Cavaillon J,1993**), formées par les cellules endothéliales, les fibroblastes et les macrophages (**Revillard J.P,2001**) où la production accrue des médiateurs qui maintient le processus inflammatoire (**Genetet N,1997**).

#### 1.5. Les anti-inflammatoires :

□ **Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)** : leur mécanisme d'action repose sur l'inhibition compétitive de la cyclo-oxygénase, qui est une enzyme qui permet la production de prostaglandines (importants médiateurs de l'inflammation) à partir de l'acide arachidonique. Cette caractéristique conduit à une diminution de la production des prostaglandines (**Delatour P et al.,1993**).

□ **Anti-inflammatoires stéroïdiens (Glucocorticoïdes)(AIS)** : ils constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol, principal glucocorticoïde surrénalien qui est l'hormone naturellement fabriquée par les glandes endocrines situées au-dessus du rein (**Ferradji A,2011**). Ils agissent sur de nombreux métabolismes : augmentent la production de la lipocortine, inhibant ainsi la phospholipase, donc la libération de l'acide arachidonique, et diminuent fortement la production d'autres médiateurs comme l'histamine, la sérotonine, les cytokines, les ions superoxydes (**Mezzoug N et al.,2007**).

□ **Anti-inflammatoires d'origine végétale** : certains des composés photochimiques des plantes ont des propriétés anti-inflammatoires. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclo-oxygénase et la lipoxygénase ainsi que par d'autres mécanismes (**Govindappa M et al., 2011**).

**2.1. Définition :**

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris les antibiotiques et autres agents antibactériens, antiviraux, antifongiques et antiparasitaires (**Cowan M.M, 1999**).

**2.2. Les micro-organismes :**

Un microbe ou micro-organisme est un organisme vivant autonome, généralement unicellulaire, invisible à l'œil nu. Les protozoaires, les champignons microscopiques, les bactéries et les virus sont des microbes (**Prigent-Combaret C et lejeune P,1999**).

**2.3. Les infections microbiennes :**

Les maladies infectieuses représentent la cause majeure de mortalité dans le monde; ce sont des affections provoquées par des micro-organismes pathogènes telles que les bactéries, les virus, les parasites ou les champignons et touchent des millions de personnes dans le monde (**Alwash et al.,2013**).

**2.4. Les antibiotiques :**

Du grec anti, "contre" et bios, "vie", les antibiotiques sont des composés chimiques ayant la propriété de tuer ou d'empêcher la prolifération des micro-organismes pathogènes. Certains sont des substances produites naturellement par les moisissures et bactéries (**SalbonièreB, 2006**).

**2.5. La résistance microbienne aux antibiotiques :**

Elle est définie comme une résistance d'un micro-organisme à un médicament antimicrobien auquel il était précédemment sensible (**Alwash M.S et al., 2013**). Cette résistance provient de l'utilisation intensive d'antibiotiques à des fins humaines, vétérinaire et agricole, causant leur libération continue dans l'environnement et l'évolution des gènes résistants (**Rizzo L et al., 2013; Sahu M.C et al., 2012**), les maladies d'immuno-suppression peuvent causer aussi le développement de cette résistance (**Sivananthan M, 2013**).

**2.6. Antimicrobiens naturels :**

Depuis quelques années, les recherches sont orientées vers la caractérisation de nouveaux agents antimicrobiens d'origine naturelle comme les peptides bactériens, les bactériophages



et les molécules bioactives des plantes qui peuvent substituer les antibiotiques classiques ou agir d'une manière synergique avec ces derniers (**Kordali et al., 2008**).

### **2.7. Les méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne :**

Selon le **Comité national des normes du laboratoire clinique**, deux méthodes différentes ont été utilisées pour la détermination de l'activité anti-microbienne, in vivo :

- La diffusion en disque dans un milieu gélosé.
- La dilution en milieu liquide

### **2.8. Les activités antimicrobiennes des polyphénols :**

Les polyphénols sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des micro-organismes (**Cowan, 1999**). Plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des micro-organismes (**Scalbert A, 1999**).

#### **2.8.1. L'activité antibactérienne :**

D'après **Daglia M (2012)**, les composés phénoliques possèdent des activités antibactériennes. Les composés appartenant aux acides phénoliques les plus représentatifs de ces activités sont les acides cinnamiques et caféiques, lesquels sont particulièrement efficaces contre de nombreuses souches de bactéries (**Rezaire A, 2012**).

#### **2.8.2. L'activité antifongique :**

Parmi les composés phénoliques ayant une activité antifongique on cite les tanins. Ces derniers possèdent une activité toxique contre les champignons filamenteux et les levures (**Dixon R.A et al., 2005; Engels C et al., 2011**).

L'utilisation intensif des insecticides chimiques conduire à la pollution de la biosphère et déséquilibre de la chaîne alimentaire, ainsi que l'apparition d'insectes résistants. Ces dangers ont conduit l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) à interdire l'usage de certains insecticides chimiques, d'autres vont être prohibés dans un futur proche (**VarmaA, 1999; KogelK.H, 2005**). Il est donc nécessaire de prolongés la recherches pour trouve autres molécules naturelles actives, non polluantes , moins nocive et plus raisonnée, ce recherche oriente vers la lutte biologiques.

### 3.1. Utilisation d'*inula viscosa* en lutte biologique :

L'inule visqueuse est réputée être un "insecticide végétal" (**Bouchelta et al., 2005**). Des observations faites en Grèce montrent que dans une oliveraie "rénovée", l'arrachage de l'Inule a été suivi d'une attaque de mouche de l'Olive sans précédent. Après réintroduction de l'Inule, il faut compter 4 à 5 ans pour que le cycle de la plante relais s'amorce avec l'Olivier (**Bssaibis et al.,2009**).

### 3.2. Présentation de la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* :

#### 3.2.1. Nomenclature et position systématique :

Dans le langage commun, l'espèce se nomme Cératite ou encore mouche méditerranéenne des fruits, et pour les anglo-saxons "Mediterranean fruit fly, medfly" (**Fellah, 1996**).

D'après **Balachowsky et Mensil (1935);Dyck et al. (2005)**, la position systématique de *Ceratitis capitata* est la suivante :

<b>Classe</b>	: Insecte
<b>Ordre</b>	: Diptère
<b>Sous ordre</b>	: Brachycères
<b>Division</b>	: Cyclorraphes
<b>Groupe</b>	: Schizophores
<b>Famille</b>	: Tephritidae
<b>Sous famille</b>	: Trypetinae
<b>Genre</b>	: <i>Ceratitis</i>



**Figure 06** : *Ceratitis capitata* (adulte)

### 3.2.3. Biologie de la cératite :

Son cycle de développement est caractérisé par la présence de quatre stades :

**Œuf** : est de couleur blanche nacré, brillant, de forme allongée et arquée en son milieu, convexe du côté dorsal et concave du côté ventral. Il a une longueur de 0.9 à 1.1 mm et une largeur de 0.2 à 0.25 mm. Ce stade dure environ 2 à 4 jours (**Balachowsky et Mensil, 1935**).

**Larve** : est communément appelée asticot est acéphale, apode, lisse et de couleur blanc crème. Elle mesure environ 1 mm à l'éclosion. La larve passe par trois stades larvaires L1, L2 et L3. Elle atteint 7 à 8 mm à la fin de son développement c'est à dire au stade L3 (**Jerraya, 2003**).

**Pupe** : le troisième stade larvaire (L3) ne rejette pas son exuvie larvaire qui va lui servir d'une enveloppe à l'intérieur de laquelle il se nymphose formant le puparium. La pupa est de 4 à 5 mm de longueur, à la forme d'un petit tonnelet elliptique, lisse et résistant. Elle change progressivement de couleur pour devenir brun foncé (**Jerraya, 2003**).

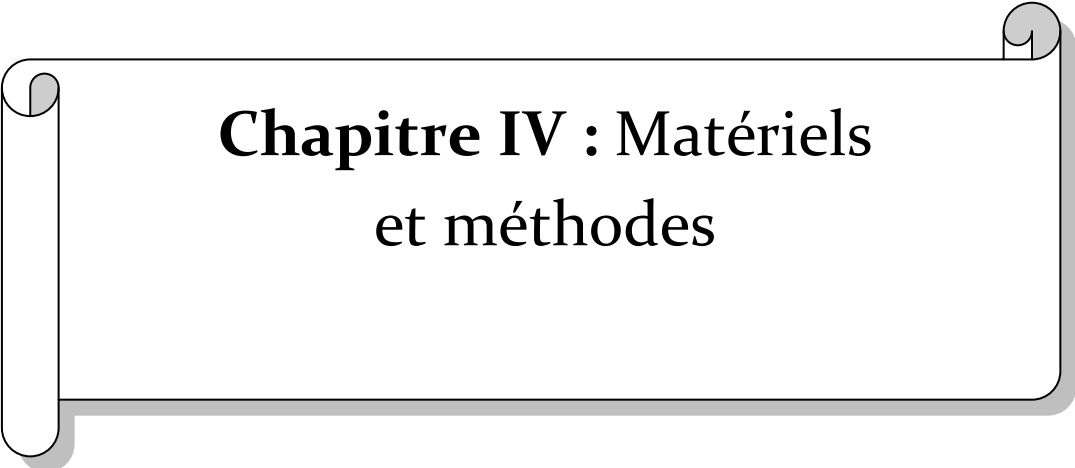
**Adulte** : est une mouche qui mesure environ 5 à 6 mm de long, il est caractérisé par un thorax noir luisant portant des ailes transparentes à larges bandes jaunes serties de brun (**Balachowsky et Mesnil, 1935**).



**Figure 07** : Les étapes de développement de *Ceratitidis capitata*



# **Partie expérimentale**



**Chapitre IV : Matériels  
et méthodes**

## Matériels et Méthode

Ce travail a été réalisé dans une période de cinq mois de novembre à mars 2019/2020. Le travail expérimental, ayant pour objet d'évaluation de l'activité antimicrobienne, anti-inflammatoire et insecticide des polyphénols et d'hydrolat de la plantes médicinale « *inula viscosa* ». La partie expérimentale a été réalisée au sein de différents laboratoires :

- Laboratoire de Biotechnologie et de Recherche des plantes médicinales et aromatiques (Faculté des Sciences de la Nature et de Vie -Université Saad Dahlab de Blida 1-) pour l'extraction des huiles essentielles et hydrolat.
- Laboratoire d'agro-alimentaire 301 (Faculté des Sciences de la Nature et de Vie - Université Saad Dahlab de Blida 1-) pour réaliser le screening phytochimique, extraction des polyphénols et préparation des milieux de culture.
- Laboratoire de Contrôle Qualité Site de Production GDC(SAIDAL) pour la réalisation de l'activité antimicrobienne.

### Caractérisation du lieu de récolte :

Les coordonnées et la situation géographique du site de récolte de la plante *Inula viscosa* sont notées dans le **Tableau 02** et la **fig. 08**.

**Tableau 02** : Les coordonnées du lieu de récolte (ONS).

<b>Nom arabe</b>	العيساوية
<b>Pays</b>	Algérie
<b>Région</b>	Basse Kabylie
<b>Wilaya</b>	Médéa
<b>Daïra</b>	Tablat
<b>Code postal</b>	26680
<b>Code ONS</b>	2605
<b>Altitude</b>	754m
<b>Les coordonnées géographiques en DMS (Degrés, minutes, secondes)</b>	Latitude :36.4191,Longitude :3.216 36° 25' 09'' Nord,3° 12' 58''Est
<b>Superficie</b>	70 Km <sup>2</sup>
<b>Climat</b>	Climat méditerranéen avec été chaud

## Matériels et Méthode



**Figure 08 :** Situation géographique du site de collecte d'*Inula viscosa* Aissaouia (Médea)

### Lieu d'étude :

Notre étude a été réalisée au laboratoire de Contrôle Qualité Site de Production GDC (SAIDAL) « leader dans la production des médicaments en Algérie ».

### 1. Matériels :

#### 1.1. Matériels biologiques :

##### 1.1.1. Matériel végétal :

Une plante aromatique et médicinale a été utilisée dans cette étude : *Inula viscosa*.



**Figure 09 :** Photographie de plante étudiée *Inula viscosa*

## Matériels et Méthode

### 1.1.2. Les souches microbiennes pathogènes :

Les souches microbiennes pathogènes sont d'une collection de culture type Américaine (ATCC). Ces souches ont été fournies par le laboratoire de Contrôle Qualité Site de Production GDC (SAIDAL). Le **Tableau 03** montre les souches testées + **Annexe I**.

**Tableau 03** : Les souches testées et leurs références.

Nature des micro-organismes	Souches	Références	Origine
Bactériennes	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	Institu Pasteur (Paris)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	
	<i>Salmonella</i>	ATCC 14028	
Fongiques	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404	

### 1.1.3. Matériel animal :

Deux insectes ont été choisis pour réaliser l'activité insecticide : la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* et l'insecte *Armadillidium vulgare*.

### 1.2. Matériels non biologiques :

L'ensemble du matériel utilisé pour réaliser cette étude est composé d'appareillage, de réactifs, de produits chimiques, des antibiotiques et de verrerie (**Annexe II –III**).



### 2. Méthodes :

#### Méthodes d'étude :

L'étude est essentiellement axée sur :

- Extraction des huiles essentiels et l'hydrolat par Clevinger.
- Préparation de l'extrait éthanolique brut d'*Inula viscosa* .
- Un screening phytochimique de l'extrait aqueux et de la poudre végétale des feuilles d'*I. viscosa*.
- Evaluation de l'activité antimicrobienne et insecticide d'extrait éthanolique et hydrolat.
- Production de produit phytothérapeutique.

#### 2.1. Récolte et identification du matériel végétale :

Les parties aériennes (feuilles et tiges) d'*Inula viscosa* ont été récoltées au début de mois de novembre 2019 (02 novembre, après-midi 14h) sur les montagnes de la région d'Aissaouia (Médea). La récolte a été faite manuellement et au hasard. Les feuilles récoltées sont murs et ne présentent aucun signe de blessure.

La plante collectée (4 Kg) a subi un nettoyage et lavage à l'eau pour éliminer tous les traces de poussière puis séchée à température ambiante à l'air libre, à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant trois mois.

L'étape de séchage a pour but d'abaisser la teneur en eau des feuilles récoltées à fin d'éviter toute réaction d'altération et la prolifération des micro-organismes.



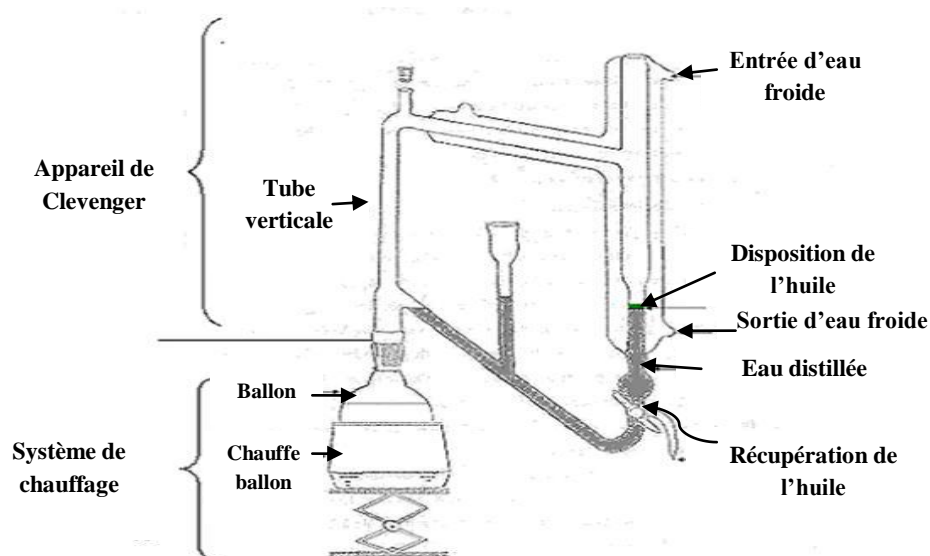
**Figure 10 :** La plante étudiée *Inula viscosa* dans sa région de récolte (Médea).

### 2.2. Extraction des huiles essentielles et hydrolat :

#### ❖ Extraction

Les huiles essentielles (HEs) ont été obtenues par hydrodistillation en utilisant un montage inspiré de celui de Clevenger (**Clevenger, 1928**). La chaleur provoque l'évaporation de l'eau et la libération de l'huile essentielle. Cette dernière est entraînée par la vapeur d'eau et condensée puis séparée de la phase aqueuse par différence de densité dans une ampoule à décanter.

Le matériel végétal séché est soumis à une hydrodistillation au moyen d'un dispositif d'extraction type Clevenger (**Fig. 11**). Cette technique se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles. L'opération consiste à introduire 40 g de masse végétale séchée dans un grand ballon en verre, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'une chauffe ballon sous l'action de l'humidité et de la chaleur. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation et retournent à l'état liquide. Ce liquide, mélange d'eau et d'huile essentielle.



**Figure 11** : Montage d'hydrodistillation utilisé dans l'extraction des huiles essentielles (Clevenger) (**Lamara,2007**).

## Matériels et Méthode

---



**Figure 12 :** Hydrodistilateur (Clevenger) utilisé dans l'extraction.

Au cours d'extraction des huiles on a récupéré l'hydrolat formuler dans une bouteille recouverte par papier cartonné à fin d'évité la pénétration de la lumière (**fig. 13**).



**Figure 13 :** L'hydrolat récupéré.

Dans ce travail, nous avons collecté cette plante de quatre régions différentes (montagnes de Médéa, Matidja, Tipaza et Oran) afin de savoir laquelle de ces zones donne le meilleur rendement des huiles essentiels (observation à l'œil nu).

### ❖ Détermination du pH d'hydrolat:

Le pH d'hydrolat a été mesuré à température ambiante à l'aide d'une électrode de Phéquipée sur un PH-mètre.



**Figure 14 :** Un PH-mètre original.

### 2.3. Extraction des polyphénols :

#### ❖ Séchage de la plante :

Après la récolte, les feuilles sont séparées de la plante, puis séchées à l'ombre et à température ambiante pendant trois jours. De temps en temps, l'échantillon est pesé jusqu'à la stabilisation du poids.



**Figure 15 :** Séchage de plante étudiée *Inula viscosa* (original).

#### ❖ Détermination de la teneur en eau des feuilles fraîches :

Poids de l'échantillon après la récolte (plante fraîche) est 500 g.

Le calcul des résultats se fait selon la formule suivante :

$$H \% = (M1 - M2) / M1 \times 100$$

Où : **H%**:Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

**M1** : Poids de l'échantillon en gramme après la récolte (plante fraîche).

**M2** : Poids de l'échantillon en gramme après le séchage (plante sèche).

#### ❖ Broyage et tamisage des feuilles :

Après le séchage, la plante est réduite en poudre grâce à un broyeur électrique puis tamisée pour éliminer toutes les grandes particules (cette étape a pour but d'obtenir une taille homogène des particules des échantillons broyés). Le broyat de la plante constitue le matériel végétal final, prêt à être utilisé pour la préparation des extraits. Ce broyat est séché aussi dans une étuve (0° humidité) après est stocké dans un flacon en verre, hermétiquement fermés et couvert par papier aluminium, qui porte le nom de l'espèce, la date et le lieu de récolte et conservés à sec (température ambiante) à l'abri de l'humidité en attendant l'analyse. Le broyage de la plante permet d'augmenter la surface de contact solvant-échantillon, une meilleure filtration du solvant au sein du matériel végétal ce qui a pour conséquence une augmentation de l'extraction (solide-liquide).

## Matériels et Méthode



**Figure 16** : Les étapes de préparation de poudre.

### ❖ Extraction par macération dans l'éthanol aqueux (extraction solide/liquide) :

L'extraction par macération sous agitation permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact d'eau avec l'extrait tout en préservant la bioactivité de ses constituants. De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante ainsi que l'épuisement d'extrait à pression réduite permet d'obtenir le maximum des composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans l'éthanol aqueux pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes). Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **Hamia et al. (2014)**, avec quelques modifications.

Le protocole de la macération de cette plante est le suivant :

- Peser 100 gramme de la matière végétale.
- Chauffer 600ml d'éthanol aqueux (70:30) dans un bécher de 500 ml jusqu'à 40°C.
- Mettre la matière végétale (100 g) sur l'éthanol aqueux Chauffer (v : 70:30), laisser ensuite macérer sous agitation continue jusqu'à parfaite refroidissement.
- Laisser macérer pendant 24 h, ensuite filtrer sur un papier filtre, pour éliminer la matière insoluble.
- Récupérer le filtrat dans un flacon.

## Matériels et Méthode

---

- Répéter la procédure trois fois pour le filtrat (fraction retenue par le filtre) dans 200 ml d'éthanol aqueux chaud (le 2<sup>ème</sup> jour et 3<sup>ème</sup> jour).
- Les macéras hydroalcoolique de 3 jours sont mélangé et placés dans un seul récipient.

### ❖ Evaporation :

Les trois solutions obtenues ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif, ou rotavap (ROTADEST type : 2108) qui permet a éliminé le solvant sous vide à 70°C.

Le protocole d'évaporation est le suivant :

- Peser le ballon d'évaporation vide.
- Placer la solution dans le ballon.
- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant
- Retirer le ballon du rotavap et attendre qu'il soit froid .
- Peser le ballon afin de calculer le rendement d'extraction.
- Recueillir l'extrait à l'aide d'un produit DMSO (l'intérêt de l'utilisation de DMSO c'est pour assurer la récupération des composés restés accolés à la paroi du ballon d'évaporation).
- Récupération d'extrait brut dans un boîte de pétris en verre stérile bien fermé par papier film et recouvert par un papier aluminium.

### ❖ Détermination du rendement :

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation) (**Mohammedi Z, 2006**).

Le taux d'extraction est le rapport entre le poids de l'extrait sec obtenu après évaporation du solvant et le poids de la plante à traiter (poudre) (**Carré, 1953**). Le rendement a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction \%} = (\text{Pe/Pp}) \times 100$$

Où : **Pe** : Poids de l'extrait sec (g).

**Pp** : Poids de la poudre végétale (g).

## Matériels et Méthode



- 1- Macération
- 2- Agitation magnétique
- 3- Filtration de l'extrait
- 4- Mélange des 03 macéras dans un flacon
- 5- Pesage de ballon d'évaporation vide
- 6- Évaporation du filtrat
- 7- Pesage de ballon après l'évaporation
- 8- Récupération d'extrait brut
- 9- Calcul de rendement d'extraction

**Figure 17 :** Les étapes d'extraction des polyphénols (extrait éthanolique).

### 2.4. Test phytochimique (screening chimique) :

Le but de ces tests est de connaître la composition en métabolites secondaires, ils sont effectués soit sur la poudre de broyat, soit sur un infusé (Bouyer T, 1996).

#### ❖ Préparation de l'infusé :

10 g de poudre végétale ont pesés puis additionné à 100 ml d'eau distillée bouillante, laissé infuser pendant 15min avec agitation de temps en temps, après filtrés pour éliminer la matière insoluble.

L'extrait aqueux d'*Inula viscosa* est d'une couleur marron.

## Matériels et Méthode

---

- **Recherche des flavonoïdes :** à 5 ml d'infusé on additionne 5 ml de HCl, un coupeau de magnésium et 1 ml d'alcool isoamylique. La réaction positive donne une coloration rouge orangée en présence des flavonoïdes (**Debray et al., 1971; Paris et al., 1969**).
- **Recherche des glucosides :** on rajoute quelques gouttes de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 2 g de poudre végétale. La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides (**Paris et al., 1969**).
- **Recherche des anthocyanes :** on rajoute quelques gouttes de HCl à 5 ml d'infusé. La réaction positive donne une coloration rouge en présence des anthocyanes (**Debray et al., 1971**).
- **Recherche des tanins :** à 2 ml de la solution à tester, 2 à 3 gouttes de la solution de FeCl<sub>3</sub> à 2 % sont ajoutés. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire et un précipité (laissé reposer quelques minutes).

### Les tests de (**Tona et al., 1998; Longaga et al., 2000**) :

- **Recherche des irridoides :** 2 ml de l'infusé + quelques gouttes de HCl. Puis chauffé le mélange. Coloration bleu.
- **Recherche des saponosides :** 2 ml de l'infusé + quelques gouttes d'acétate de plomb. Précipitation blanc.
- **Recherche des proanthocyanidols :** 2 ml de l'infusé + 2 ml de HCl. Laissé 5 min au bain marie. Coloration rouge.
- **Recherche des alcaloïdes :** 5ml de l'infusé + quelques gouttes de dragen Droff. Coloration rouge ou précipitation rouge orangée.
- **Recherche d'amidon :** 2 g de poudre + quelques gouttes d'iode. Coloration bleu violette.



### 2.5. Etude des activités biologiques :

#### 2.5.1. Etude de l'activité antimicrobienne :

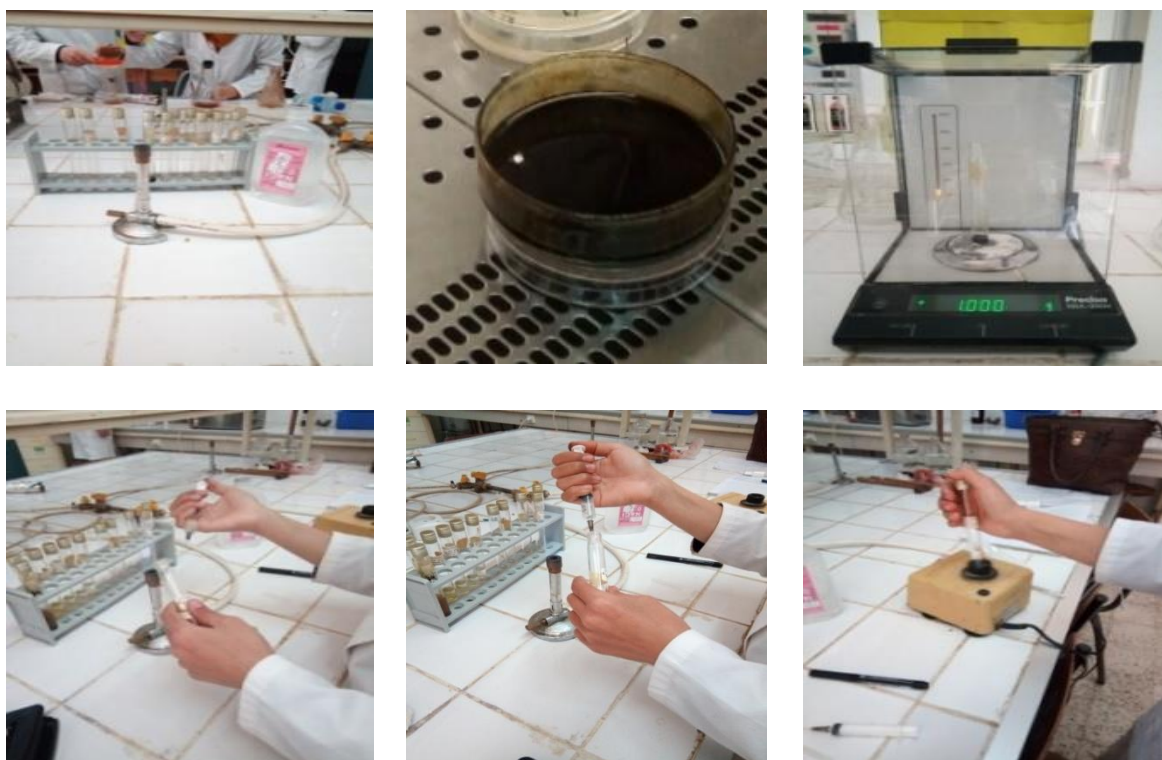
Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections (CCE, 2001).

Les souches ont été testées par différentes concentrations de l'extrait éthanoliques brut et l'hydrolat d'*Inula viscosa* et leur dilutions, ainsi qu'avec un antibiotique (PRIMAZOL) et antifongique (LAMIDAZ).

#### ❖ Préparation des dilutions d'extrait :

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne d'extrait éthanolique et l'hydrolat d'*Inula viscosa*, on a préparé les dilutions présenté dans les **Tableaux 04** et **05**.

Cette méthode a pour but d'évaluer des concentrations minimales inhibitrices (CMI). Elle consiste à déterminer la plus faible concentration inhibitrice d'un agent antimicrobien, nécessaire pour inhiber la croissance d'un micro-organisme (Oussou *et al.*, 2008; Derwich *et al.*, 2010).



**Figure 18** : Préparation des dilutions d'extrait brut.

## Matériels et Méthode

**Tableau 04 :** Les différentes concentrations des polyphénols.

	extrait éthanolique brut C	Solution mère C1	C2	C3	C4
<b>Concentrations</b>	100%	1g d'extrait éthanolique brut + 9 ml d'eau physio- logique	5% de solution mère dans 95% d'eau physio- logique (0.05g)	50% de C2 dans 50% d'eau physio- logique (0.025g)	50 % de solution mère (C1) (0.5g)

**Tableau 05 :** Les différentes concentrations d'hydrolat.

Concentrations	C	C1	C2	C3
	Hydrolat pur	50% pur	25% pur	12.5% pur

### ❖ Préparation d'antibiotique et antifongique par dilution :

- **LAMIDAZ** (pour les champignons):  
2 comprimé (250mg) + 5ml de solution Ph7.



**Figure 19 :** Antifongique "LAMIDAZ"

- **PRIMAZOL** (pour les bactéries):  
1 comprimés (400mg-80mg) + 4ml de solution  
Ph7.



**Figure 20 :** Antibiotique "PRIMAZOL"

## Matériels et Méthode

---

### ❖ Préparation des disques :

Les disques sont préparés à partir de papier filtre, avec un diamètre de 6 mm. Ensuite ils sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave et conservés jusqu'à l'utilisation.

### ❖ Préparation de milieu de culture :

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens sont les suivants :

- La gélose Mueller-Hinton(M.H) pour l'étude de la sensibilité des bactéries au l'extraits de plante.
- La gélose Sabouraud pour l'isolement et l'entretien des suspensions fongiques et l'étude de leur sensibilité aux extraits.

#### ➤ Gélose Mueller Hinton (M.H) :

Suspendre 38.0 g dans 1 litre d'eau distillée. Chauffer et agiter jusqu'à la dissolution totale. Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.

#### ➤ Gélose Sabouraud :

Suspendre 65.0 g dans 1 litre d'eau distillée. Chauffer et agiter jusqu'à la dissolution totale. Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.



**Figure 21** : Les étapes de préparation de milieu de culture.

### ❖ Préparation de l'inoculum :

La méthode consiste à préparer une suspension en prélevant 2 à 3 colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes et fongiques à tester d'une culture de 18h à 24h; les Introduire dans des tubes à essais de 5 ml d'eau physiologique (NaCl à 0.9 %) stérile. La suspension est bien homogénéisée dont l'opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une DO de 0.08 à 0.10 pour les bactéries et de 1 à 2 pour les levures et moisissures à 625 nm qui correspondent à une concentration de  $10^7$ - $10^8$  UFC/ml (**Standardisation de l'antibiogramme selon l'OMS,1999**).

## Matériels et Méthode

---

### ❖ **Technique par écouvillonnage (Kirby-Bauer recommandée par l'OMS) :**

L'ensemencement est réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile; imbibé de la suspension bactérienne ou fongique puis l'essor sur la paroi interne du tube et faire des stries serrés à la surface de la gélose préalablement solidifiée dans des boîtes de pétris stériles. Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Laisser imprégner les boîtes pendant 05 minutes à température ambiante. Les couvercles des boîtes doivent être fermés.

### ❖ **Dépôt des disques imprégnés :**

La méthode de diffusion à partir d'un disque solide a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne de ces germes vis-à-vis des antibiotiques et des extraits bruts et hydrolat.

### ❖ **Test de sensibilité :**

#### - **Test de sensibilité au extrait éthanolique brut et hydrolat de plante *Inula viscosa* (test d'inhibition):**

- La gélose appropriée est coulée dans des boîtes de pétri de 90 mm de diamètre (l'épaisseur du milieu doit être de 04 mm car une couche plus fine augmente la taille de la zone d'inhibition ce qui peut donner un résultat erroné).
- Inoculée avec une suspension microbienne pure fraîchement préparée (ensemencement à l'aide des écouvillons stériles). Deux boîtes sont utilisées pour chaque souche.
- A l'aide d'une pince stérile, des disques de papier filtre stérile de 06 mm de diamètre est imbibé par les quatre concentrations de l'extrait éthanolique à tester et quatre concentrations de l'hydrolat, puis les déposés à la surface de la gélose ensemencée, appuyer doucement sur le disque imbibé pour assurer un contact uniforme avec le milieu.
- Laisser les boîtes pendant quelques instants (15 minutes) à la surface de la hotte (à température ambiante) pour permettre la diffusion de l'échantillon étudié.
- Incuber à 35C° pendant 18 à 24h pour les bactéries et à 25C° pendant 48h pour les champignons (la levure et moisissure).
- Dès l'application des disques imprégnés, l'extrait diffuse de manière uniforme.

## Matériels et Méthode

---

### - Test de sensibilité aux antibiotiques "antibiogramme" :

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer avec l'effet de nos extraits. Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole qu'avec les disques de papiers imprégnés d'extrait.

#### ❖ Lecture des résultats :

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (DZI) autour de chaque disque en mm à l'aide d'une règle en mm ou d'un pied à coulisse.

#### ❖ Interprétation des résultats :

L'interprétation des résultats se fait selon l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne donnée par **Meena et Sethi (1994)**, ces derniers mentionnant que ces diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne sont divisés en quatre classes (pour les disques 6 mm).

- Non inhibitrice (souche résistante) : diamètre de la zone d'inhibition  $< 7$  mm.
- Légèrement inhibitrice (souche sensible) :  $7 \text{ mm} \leq$  diamètre de la zone d'inhibition  $< 13$  mm.
- Modérément inhibitrice (souche très sensible) :  $13 \leq$  diamètre de la zone d'inhibition  $< 25$  mm.
- Diamètre de la zone d'inhibition  $\geq 25$  mm fortement inhibitrice (souche extrêmement sensible).

## Matériels et Méthode



**Figure 22 :** Les étapes de détermination d'activité antimicrobienne.

### ❖ Détermination des CMI :

La CMI est déterminée par la plus petite concentration d'antibiotique donnant une inhibition de la croissance après un temps de contact avec l'antibiotique de 18 à 24 heures (**Michel Briand, 1986**).

### 2.5.2. Etude de l'activité insecticide :

L'activité insecticide a été réalisée au printemps au mois de mars sur les larves de la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata*, que nous avons extraite de fruit d'orange.



**Figure 23 :** Fruit d'orange attaqué par *Ceratitis capitata*.

## Matériels et Méthode

---

### ❖ Préparation des doses :

Pour les traitements des insectes on a réalisé :

- 03 doses différentes pour l'extrait éthanolique.
- ❖ La dose pure, il s'agit de traiter directement avec l'extrait polyphénolique pur.
- ❖ La dose SM, il s'agit de diluer d'abord l'extrait pur, prenant 50% de l'extrait pur et rajouter 50% d'eau distillée.
- ❖ La dose D50%, il s'agit de diluer d'abord la solution mère, en prenant 50% de l'extrait et rajouter 50% d'eau distillée.
  - 02 doses différentes pour l'hydrolat :
- ❖ La dose pure, il s'agit de traiter directement avec l'hydrolat pur.
- ❖ La dose D50%, il s'agit de diluer d'abord l'hydrolat, en prenant 50% de l'hydrolat et rajouter 50% d'eau distillée.
  - 01 dose pour le traitement chimique : DECIS 25 EC.

### ❖ Réalisation des essais :

#### Traitement sur les larves de la cératite :

Soixante (60) larves de *C. capitata* sont traités par dépôt des disques imprégnés dans les boîtes de Pétri (05 larves par boîte) (**fig.24**). À l'aide d'une pince on imprégne les disques par les différentes doses des traitements et les pose dans les boîtes. Le témoin est traité par un traitement chimique. Deux répétitions sont appliquées pour chaque traitement. Après le dépôt des disques, toutes les boîtes sont fermées, afin d'éviter l'évasion des individus et éviter l'intervention d'insectes ravageurs.

Des observations quotidiennes sont effectuées après 24 heures, 48 heures et 72 heures, afin de déterminer le taux de mortalité provoqués par les traitements sur l'insecte.

## Matériels et Méthode



Figure 24 : Traitement des larves de la mouche méditerranéenne des fruits *C. Capitata*



Figure 25 : Insecticide chimique (DECIS 25 EC)

### ❖ L'efficacité d'extrait brut :

#### Traitement sur l'insecte *Armadillidium vulgare* :

Pour confirmer l'efficacité d'extrait éthanplique et assurer leur propriété comme un insecticide, on a réalisé un essai sur un insecte non nuisible : *Armadillidium vulgare*, sous-ordre des Onisidea dans l'ordre isopoda, d'embranchement Arthropoda et de sous-embranchement Crustacea.



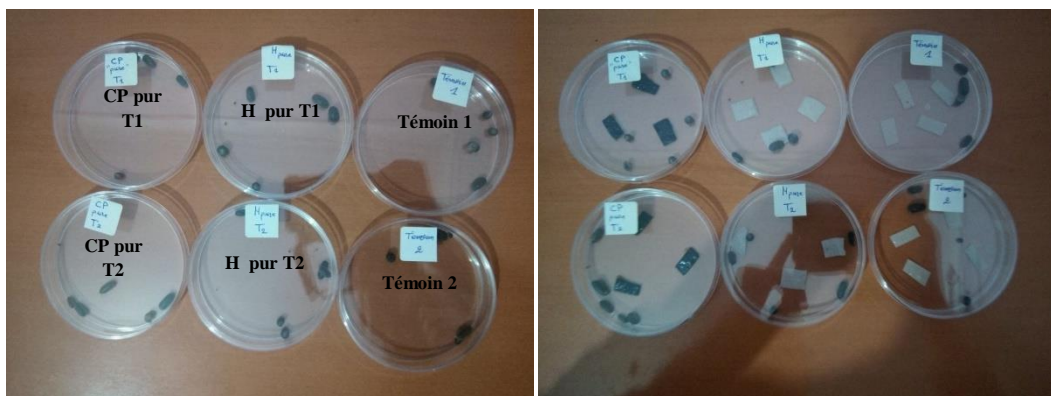
Figure 26 : Insecte *Armadillidium vulgare*.



## Matériels et Méthode

Pour le traitement on a appliqué l'extrait brut, hydrolat pur et l'eau physiologique (pour le témoin).

Trente insectes d'*Armadillidium vulgare* sont traités par dépôt des disques imprégnés dans les boîtes de Pétri (05 insectes par boîte) (**fig.27**). Deux répétitions sont appliquées (par la même méthode précédente).



**Figure 27** : Traitement d'*Armadillidium vulgare*.

Des observations quotidiennes sont effectuées après 24 heures, 48 heures et 72 heures, afin de déterminer le taux de mortalité provoquées par les traitements sur l'insecte.

### ❖ Exploitation des résultats :

#### ✓ Calcul du pourcentage de mortalité :

Le pourcentage de mortalité observée est calculé à l'aide de la formule suivante (**Acheuk et Doumandji-Mitiche, 2013**) :

$$\text{Taux de mortalité} = \frac{\text{Nombre d'individus morts}}{\text{Nombre total d'individus}} \times 100$$

## Matériels et Méthode

---

### 2.6. Formulation de produit phytothérapeutiques :

#### Ingrédients :

- 10 ml d'huile de noix de coco (forme liquide) : utilisée pour la phase huileuse de nombreuses crèmes.
- 03 boites de 45g de vaseline naturel : constitue la phase solide de la crème.
- 20gouttes d'huile essentielle de camphre.
- 20 gouttes d'huile essentielle de menthe.

La menthe est utilisée pour soulager les douleurs et pour ses bienfaits sur les problèmes musculaires et articulaires.

- Poudre d'inule visqueuse de 02 concentrations de : 20 g et 40g.
- Vitamine E et C.

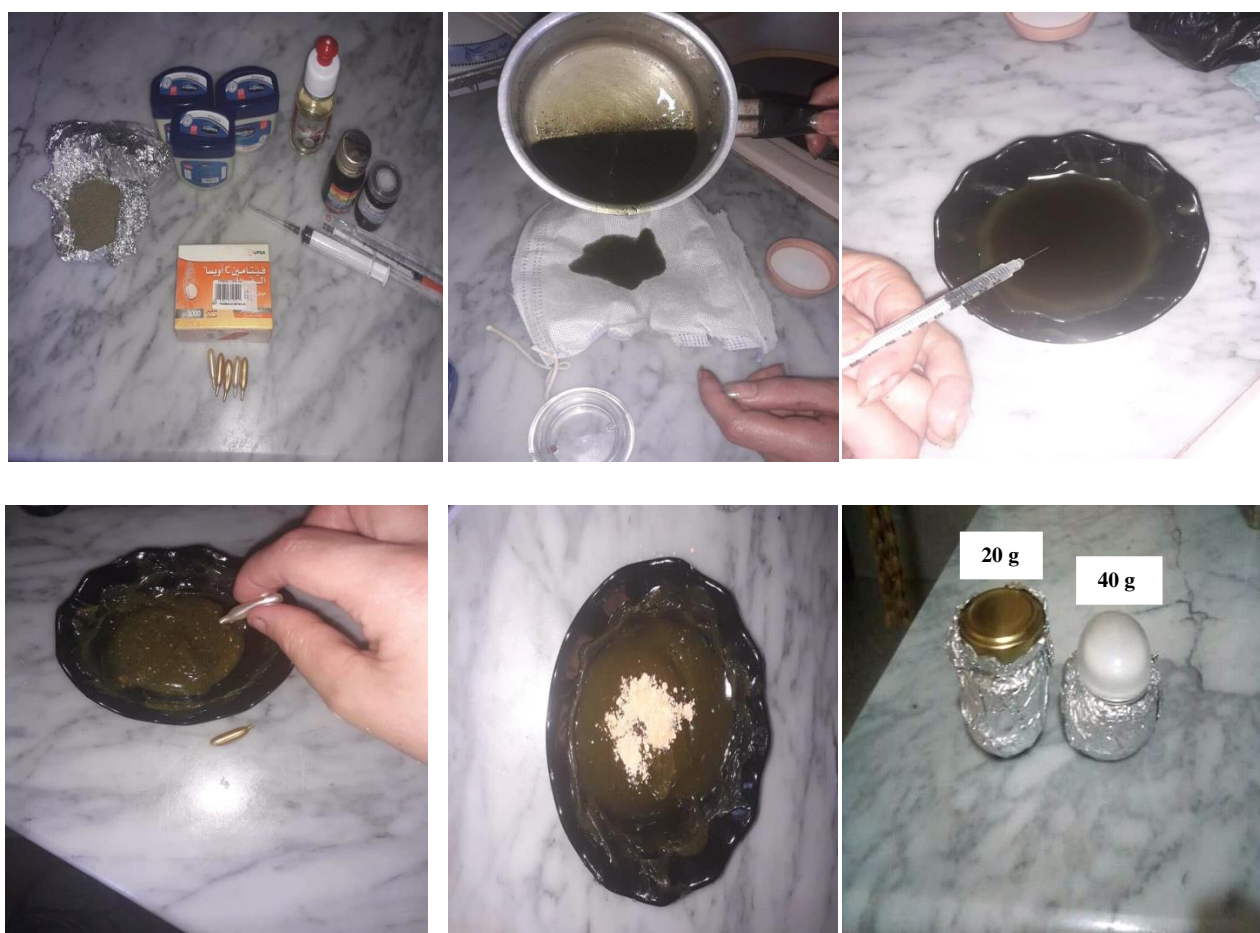
Donc on a deux pommades pour l'essai sur des personnes qui ont des problèmes d'arthrose et douleurs des articulations.

#### Méthode :

- ✓ Faire fondre l'huile de noix de coco et la vaseline naturel ensemble. Vous pouvez le faire dans le micro-ondes ou bien au bain-marie.
- ✓ Remuez jusqu'à ce que le tout soit bien fondu.
- ✓ Laissez le mélange refroidir un peu pendant quelques minutes, puis ajoutez la poudre végétale d'inule visqueuse et laissez chauffer pendant 30 minutes, mélangez bien.
- ✓ Filtrez le contenu à l'aide d'un tissu de filtration.
- ✓ Ajoutez 20 gouttes d'huile essentielle de menthe et 20 gouttes d'huile essentielle de camphre.
- ✓ Ajoutez les vitamines E et C.
- ✓ Mettre dans des flacons en verre et laissez refroidir complètement puis fermer.

Quand c'est complètement refroidi, cela redeviendra solide c'est normal, mais dès qu'elle sera en contact avec la chaleur de la peau, elle se liquéfiera à nouveau.

## Matériels et Méthode



**Figure 28 :** Formulation de pommade anti-inflammatoire.



**Chapitre V: Résultats**  
et discussion

### 1. Rendement des huiles essentielles et hydrolat :

Nous avons remarqué que l'huile essentielle s'est accumulée en petites masses sur les parois du Clevenger, à cause de sa viscosité importante. C'est pour cela que sa récupération est très difficile, cette caractéristique est responsable de la récupération d'une très faible quantité d'huile même après 15 opérations d'extraction.



**Figure 29** : Formation de quelques gouttes d'huile essentielle dans l'hydrolat.

Les résultats des rendements des huiles essentielles de quatre régions par estimation visuelle, ont montré que, la plante issue des montagnes de Médea possède un meilleur rendement en huiles essentielles suivi de celle de la région d'Oran ensuite celle de Tipaza et en dernier celle de la Matidja.

Ces différences sont dues à plusieurs facteurs :

Le degré de maturité, l'interaction avec l'environnement (type de climat, sol) et le moment de la récolte (après la floraison, 70 % des huiles essentielles s'évaporent dans l'air) (**Besombes C, 2008; Lee et al., 2003**), ont signalé que le rendement en HE varie beaucoup selon la plante utilisée, la partie de la plante utilisée, le matériel employé pour l'extraction et la méthode d'extraction et aussi bien et les conditions d'environnement (sol, climat) et l'origine de la plante (**Chalchat et al., 1997; Mansouri et al., 2011**).

**2. Détermination du pH** : Ph = 6.27 sa signifié que l'hydrolat de plante *Inula viscosa* est légèrement acide.

## Résultats et Discussion

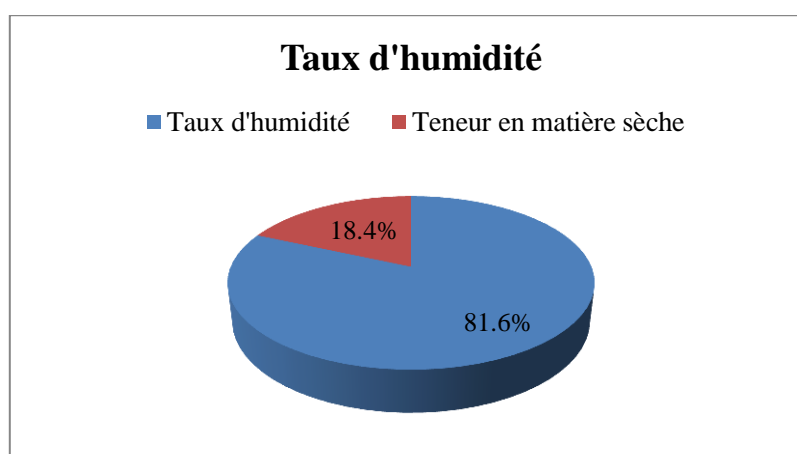
### 3. Taux d'humidité :

Après séchage des échantillons à l'aire libre à l'abri de la lumière et de température jusqu'à atteindre un poids constant, le taux d'humidité est déterminé et le résultat obtenu est noté dans le **Tableau 06** :

**Tableau 06** : Teneur en eau des feuilles d'*Inula viscosa* (Médea).

La plante	Poids des feuilles fraîches	Poids des feuilles Sèches	Taux d'humidité
<i>Inula viscosa</i>	500 g	92g	81,6 %

Les analyses des feuilles d'*Inula viscosa* de la région de Médea ont révélé un taux important d'humidité 81,6 %, ce qui signifie que plus de la moitié du poids des feuilles fraîches d'*I.viscosa* est constituée par l'eau, le reste représente la matière sèche.



**Figure 30** : Taux d'humidité des feuilles d'*Inula viscosa*

Selon **Paris et Moyse (1965)**, les plantes fraîches renferment une teneur en eau allant de 60% à 80 %. Donc notre espèce est plus riche en eau. En comparaison, **Remli (2013)** a trouvé un pourcentage important d'eau dans les feuilles de la plante *inula viscosa* d'Oran qui est de 85 % par contre **Kheyar (2009)** souligne un taux de 81.66% à Bejaia. Également **Al-Dissi (2001)** à Al-Hommer (nord d'Amman) et **Benayache (1991)** à Constantine ont trouvés un pourcentage environ 80%.

### 4. Taux d'extraction des polyphénols:

Après extraction et évaporation des filtrats, le taux d'extraction est déterminé et le résultat obtenu est noté dans le **Tableau 07** :

## Résultats et Discussion

**Tableau 07 :** Taux d'extraction des polyphénols (Médea).

La plante	Poids du ballon plein (après évaporation)	Poids du ballon vide (avant évaporation)	Poids de plante (poudre)	Taux d'extraction
<i>Inula viscosa</i>	257.304 g	271.542 g	100 g	14,24 %



Le rendement d'extraction dépend de plusieurs facteurs à savoir la durée d'extraction, la température ainsi que la localisation géographique, la durée de stockage, la génétique, le climat et aussi la période de récolte qui semble avoir un impact direct sur le rendement (**Faten et al., 2012**).

Les résultats de **Mohsen et Ammar (2009)** ont prouvé que l'éthanol était le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques, suivi du méthanolet enfin l'eau.








### 5. Screening phytochimique :

L'analyse phytochimique effectuées sur l'extrait des feuilles de l'espèce *Inula viscosa* de la région de Médea a permis d'identifier les différents groupes chimiques. Les résultats sont regroupés dans le **Tableau 08** :

**Tableau 08 :** Résultats de screening phytochimique (Médea).

Molécules recherchées	Résultat	Observation	Réaction
Flavonoïde		Coloration rouge orange	+
Tannin totaux		Bleu noir	+

## Résultats et Discussion

<b>Glucosides</b>		Coloration rouge brique	+
<b>Saponosides</b>		Précipité blanc	+
<b>Proanthocyanidols</b>		Coloration marron claire	-
<b>Alcaloïdes</b>		Coloration vert foncé	-
<b>Anthocyanes</b>		Coloration marron	-
<b>Irridoïde</b>		Coloration beige (orange claire)	-
<b>Amidon</b>		Coloration vert	-

NB : (-) : Absence de substance      (+) : Présence de substance



## Résultats et Discussion

---

D'après les résultats obtenus, on constate que les feuilles d'*Inula viscosa* présentent une diversité moléculaire en métabolites secondaires, riches en flavonoïdes, en tanins totaux, en glucosides et en saponosides. Par contre, une absence totale des alcaloïdes, des irridoïdes, des anthocyanes, de l'amidon et des proanthocyanidols est révélée.

**Cafarchia et al. (2002)** ont marqués une richesse des feuilles d'inula en flavonoïdes, tanins et glucosides par contre un manque total de l'amidon est noté. Également **Boumaza (2011)** à Oran a aussi aperçue une abondance importante des flavonoïdes et saponosides. **Benhammou (2006)** a classé *Dittrichia viscosa* de la région de Tlemcen comme étant une espèce à usage antidiabétique et antioxydant vu sa richesse en flavonoïdes. En comparant nos résultats avec ceux obtenus par **Khalil et al. (2007)** sur les feuilles de la même espèce récoltées dans la région de Tlemcen au mois de novembre, il ressort que les composants de cette plante présentent des similitudes pour certains composés et des dissimilitudes pour d'autres.

**NB :** la présence ou l'absence de ces éléments varie d'une espèce à une autre selon les différentes parties de la plante (feuille, fleur, racine), lieu et période de récolte et les conditions climatiques (**Lee et al.,2003**).

## Résultats et Discussion

### 6. Activité antimicrobienne:

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique, d'hydrolat d'*Inula viscosa* et des antibiotiques ainsi que des antifongiques sont notés dans le **Tableau 09** et l'**Annex IV**.

**Tableau 09** : Diamètre des zones d'inhibition (mm) de l'extrait brut et de l'hydrolat pur (avec des dilutions), des antibiotiques et des antifongiques sur la croissance de différentes souches testées.

Résultats de deux répétitions		Concentrations des polyphénols				Concentrations d'hydrolat				Anti-biotiques/fongiques	
		brut C	Solution mère C1	C2	C3	C	C1	C2	C3	Pri-mazol	Lami-daze
Souches bactériennes	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30 29.5	-	-	-	-	-	-	-	23	/
	<i>Echerichia coli</i>	36 34	-	-	-	-	-	-	-	45	/
	<i>Salmonella</i>	33 32.5	-	-	-	-	-	-	-	40	/
	<i>Bacillus subtilis</i>	42 33	30 20	-	-	-	-	-	-	44	/
	<i>Staphylococcus aureus</i>	30 31.5	14 13.5	13 12	-	11 12.25	11 09	8.5	-	37	/
Souches fongiques	<i>Condida albicans</i>	25 24	9.25 09	8 8.75	-	08 9.25	7.25 09	-	-	/	38
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	21 24	-	-	-	-	-	-	-	/	47

Résultats de la moyenne (de deux répétitions)		Concentrations des polyphénols				Concentrations d'hydrolat				Anti-biotiques/fongiques	
		brut C	Solution mère C1	C2	C3	C	C1	C2	C3	Pri-mazol	Lami-daze
Souches bactériennes	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29.75 +++	-	-	-	-	-	-	-	23	/
	<i>Echerichia coli</i>	35 +++	-	-	-	-	-	-	-	45	/
	<i>Salmonella</i>	32.75 +++	-	-	-	-	-	-	-	40	/
	<i>Bacillus subtilis</i>	37.5 +++	25 ++	-	-	-	-	-	-	44	/
	<i>Staphylococcus aureus</i>	30.75 +++	13.75 ++	12.5 +	-	11.62 +	10 +	8.5 +	-	37	/
Souches fongiques	<i>Condida albicans</i>	24.5 ++	9.12 +	8.37 +	-	8.87 +	8.12 +	-	-	/	38
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	22.5 ++	-	-	-	-	-	-	-	/	47

## Résultats et Discussion

---

**Bacillus subtilis** : 50 % de solution mère (C4 = 0.5g) donne 9 mm, 25 % de solution mère ne donne aucun résultat.

+++ : Fortement inhibitrice (souche extrêmement sensible).

++ : Modérément inhibitrice (souche très sensible).

+ : Légèrement inhibitrice (souche sensible).

- : Non inhibitrice (souche résistante).

Dans cette partie, nous avons évalué *in vitro* l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique brut et de l'hydrolat pur d'*Inula viscosa* et les dilutions (C1, C2, C3) pour chaque extrait.

### A. Action antibactérienne :

- **Pour l'extrait brut** : toutes les bactéries sont sensible, classé respectivement comme suite selon la sensibilité : *Bacillus subtilis* (37.5 mm), *Echerichia coli* (35 mm), *Salmonella* (32.75mm), *Staphylococcus aureus* (30.75 mm) après *Pseudomonas aeruginosa* (29.75 mm).
- **Pour les dilutions d'extrait brut** : sauf deux bactéries sont sensible : *Bacillus subtilis* (solution mère (C1), 50% de solution mère (0.5g) et *Staphylococcus aureus* (solution mère C1, solution C2), avec des diamètres (25 mm, 9mm), (13.5mm ,12.5 mm) classé respectivement.
- **Pour l'hydrolat et ces dilutions** : une seule bactérie est sensible : *Staphylococcus aureus* (pour C=11.62 mm, C1=10 mm, C2=8.5 mm). Les autres bactéries sont résistantes aux biomolécules végétales contenues dans l'hydrolat de la plante *Inula viscosa*.
- **Pour les antibiotiques (Primazol)** : se sont révélés très actifs vis-à-vis des souches bactériennes de référence avec des diamètres d'inhibition variant de 23 à 44 mm.

On remarque une sensibilité très élevée de *Staphylococcus aureus* par l'extrait éthanolique et l'hydrolat.

L'hypersensibilité de *Staphylococcus aureus* ATCC peut s'expliquer par la probabilité de la sensibilité des bactéries Gram (+) aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH et l'extraits naturels due à l'absence de la membrane externe (**Balentine et al.,2006**). Aussi **Bensegueni tounsi (2001)** a indiqué que les extraits hydroalcooliques et chloroformiques des parties aériennes d'*Inula viscosa* de la région de Constantine ont une légère activité antibactérienne sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

## Résultats et Discussion

---

Pour l'ensemble on remarque que *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* (Gram+) sont plus sensibles que *Pseudomonas aeruginosa*, *Echerichia coli* et *Salmonella* (Gram-). Selon **Turkmen et al.(2007)**, les bactéries Gram (+) sont plus sensibles que les bactéries Gram (-), cette sensibilité peut s'attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries. Les bactéries Gram (-) possèdent une couche additionnelle à la membrane externe; qui se compose de phospholipides, des protéines et des lipopolysacharides, cette membrane est imperméable à la plus part des molécules. Pour cette raison, **Masibo et son collaborateur (2009)** considère *E. Coli* Gram négatif renferme une paroi qui limite l'accès des agents antimicrobiens à leurs cibles ; tandis que les bactéries Gram positif qui sont moins protégées contre les agents externes. **Okoro et al. (2010)** a confirmé aussi que les extraits de plantes sont habituellement plus actifs contre les bactéries Gram positif que les bactéries Gram négatif. **Mohamedi (2006) et Smith (2001)**, ils confirment que les bactéries Gram positif sont plus sensibles que Gram négatif ceci peut s'expliquer par la différence de la structure de la paroi constituant les différentes bactéries Gram+ et Gram-.

D'après **Abdoune (2012)** à Bab-Ezzouar (Alger) et **Benhammou (2006)** à Tlemcen, cette plante est légèrement inhibitrice sur *E.coli* et fortement inhibitrice sur *Staphylococcus aureus*.

Les diamètres des zones d'inhibition obtenues avec les bactéries gram positifs sont plus importants que ceux obtenus avec les bactéries gram négatifs (**Al-Bakri A et Afifi F.U, 2007**).

On conclusion, les souches bactériennes testées à Gram positif étaient plus sensibles que les gram négatif. En effet les résultats obtenus par tous ces auteurs sont compatibles avec les résultats de notre étude.

On a noté précédemment que l'extrait est riche en flavonoïdes; **Xiao et ses collaborateurs (2014)** ont montré que les flavonoïdes sont parmi les plus communs des produits naturels qui présentent un large spectre d'activité antibactérienne.

### **B. Action antifongique :**

- **Pour l'extrait brut :** les deux souches fongiques sont sensibles : *Condida albicans* (24.5 mm) et *Aspergillus brasiliensis* (22.5 mm).
- **Pour les dilutions d'extrait brut :** seulement *Condida albicans* est sensible (solution mère (C1) et solution C2) avec des diamètres classé respectivement (9.12 mm et 8.37 mm).
- **Pour l'hydrolat et ces dilutions :** seulement *Condida albicans* est sensible (pour C= 8.87 mm et C1= 8.12 mm).

## Résultats et Discussion

- **Pour les antifongiques (Lamidaze) :** se sont révélés très actifs vis-à-vis des souches fongiques de référence avec des diamètres d'inhibition variant de 38 et 47 mm.

D'après les résultats obtenus, on remarque que les substances naturelles de la plante *Inula viscosa* sont de bons agents antimicrobiens, on peut déduire donc, que l'extrait éthanol/eau de cette plante agit comme un antibiotique.

À la lumière de tous ces résultats, nous pouvons dire que les effets antibactériens et antifongiques obtenus seraient dus à l'action des flavonoïdes existants au niveau des parties aériennes de notre plante (Remli, 2013). Cette activité antimicrobienne est associée aussi avec l'origine de l'extrait (feuilles, fleurs ou racine), les conditions climatiques, la souche testée et la nature du solvant.

Les résultats de notre travail d'activité antimicrobienne peuvent varier selon plusieurs facteurs :

- La composition des extraits de cette plante en composés phénoliques.
- La méthode et les conditions d'extraction.
- Les conditions de conservation, de stockage et de transport.
- La concentration en extrait utilisée.
- La diffusion des extraits à travers la gélose.
- L'état physiologique de micro-organismes.
- La nature du matériel d'extraction (risque d'oxydation).

### ▪ Détermination des CMI :

Le CMI de chaque traitement vis-à-vis des micro-organismes est représenté dans le **Tableau 10**.

**Tableau10 :** CMI de chaque traitement vis-à-vis les micro-organismes.

	Souches bactériennes								Souches fongiques					
	<i>Pseudo- monas aeruginosa</i>		<i>Echerichia coli</i>		<i>Salmonella</i>		<i>Bacillus subtillis</i>		<i>Staphylo- coccus aureus</i>		<i>Condida albicans</i>		<i>Aspergillus brasiliensis</i>	
	CP	H	CP	H	CP	H	CP	H	CP	H	CP	H	CP	H
CMI	brut	/	brut	/	brut	/	C4 0.5g	/	C2 0.05g	C2 25% pur	C2 0.05 g	C1 50% pur	brut	/

CP : composé phynolique

H : hydrolat

## Résultats et Discussion

Pour pouvoir comparer les CMI de différents micro-organismes, il est indispensable de travailler sur des cellules à des stades de croissance (de 18 à 20 h d'incubation) et à des concentrations similaires. Selon les résultats des CMI des différentes concentrations, nous avons remarqué que :

- Les CMI d'extrait éthanolique des souches microbiennes sont comme suite :
  - *Pseudomonas aeruginos*, *Echerichia coli*, *Salmonella* et *Aspergillus brasiliensis* ne présente aucune sensibilité vis-à-vis les dilutions mais montre une sensibilité avec l'extrait brut, alors ce dernier est leur CMI.
  - *Bacillus subtilis* montre une sensibilité vis-à-vis les dilutions et leur CMI est C4= 0.5 g (50% d'extrait brut).
  - *Staphylococcus aureus* et *Condida albicans* révélé aussi une sensibilité vis-à-vis les dilutions et leur CMI est C2= 0.05 g (5 % de solution mère).
- Pour les CMI d'hydrolat :

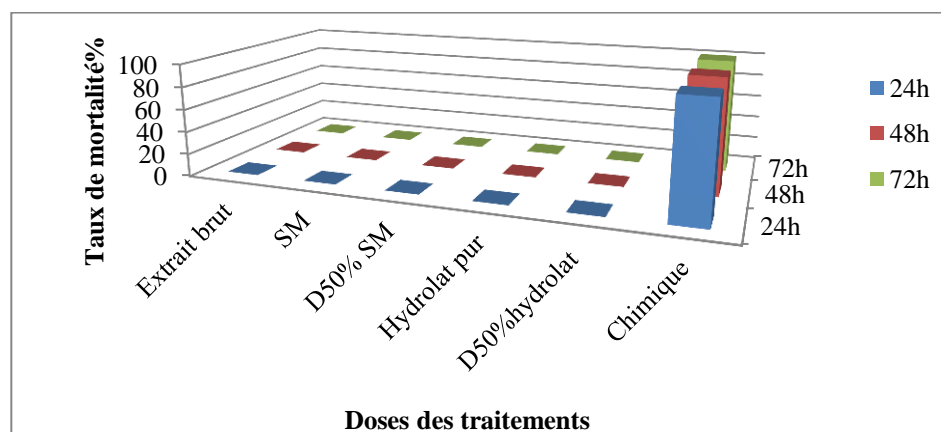
*Staphylococcus aureus* et *Condida albicans* les seules souches qui réagirent avec l'hydrolat.

- CMI de *Staphylococcus aureus* est : C2= 25 % d'hydrolat pur.
- CMI de *Condida albicans* est : C1= 50 % d'hydrolat pur.

### 7. Activité insecticide sur les larves de la *C. capitata* et *Armadillidium vulgare*:

#### 7.1. Effet des différentes doses des traitements sur les larves de la cératite :

L'effet des doses différentes des traitements sur les larves est mentionné dans la figure suivante :



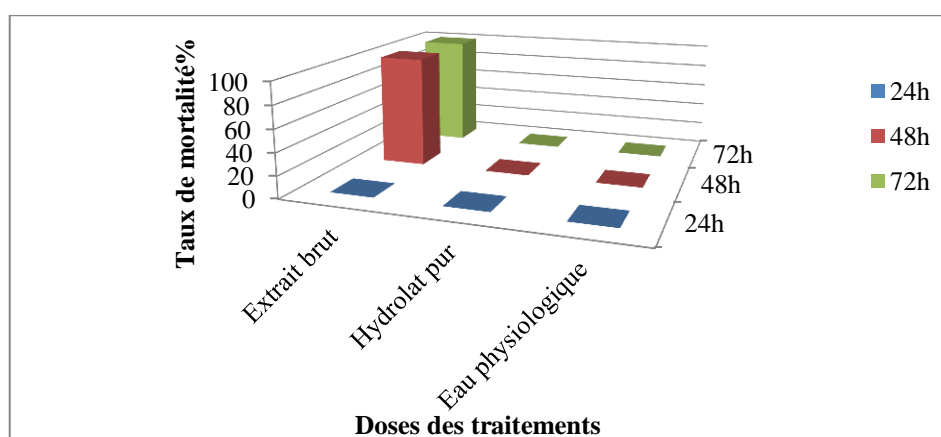
**Figure 31 :** Taux de mortalité moyen des larves de la cératite traitées par différentes doses de traitements (naturels et chimiques).

## Résultats et Discussion

D'après la **figu. 30**, nous remarquons que le taux de mortalité évolue selon la période, le taux le plus élevé atteint 100 % pour la dose chimique et aucune mortalité n'a été signalée pour toutes les différentes doses des extraits naturels (l'extrait d'inule visqueuse ne montre aucun effet sur les larves de la cératite).

### 7.2. Effet des différentes doses des traitements sur *Armadillidium vulgare* :

L'effet des différentes doses des traitements sur *Armadillidium vulgare* mentionné dans la figure suivante :



**Figure 32 :** Taux de mortalité moyen d'*Armadillidium vulgare* par différentes doses de traitements (naturels et chimiques).

Concernant l'autre insecte *Armadillidium vulgare*, les résultats ont montré la mort totale des insectes traités par l'extrait brut après 48 h, par contre, les insectes traités par l'hydrolat et l'eau physiologique n'ont eu aucun résultat (après 72 h).

Les résultats montrent que l'extrait brut est efficace pour certains insectes comme un insecticide mais pas pour les autres. L'absence d'efficacité sur le ciratitid capitata peut être expliquée par la tolérance physiologique de cet insecte pour les biomolécules actives de l'inule. La sensibilité peut différer pour un insecte donné d'un stade à un autre (**Gueye et al., 2011**).



**Conclusion  
et Perspective**



## Conclusion

---

Le présent travail a porté sur l'étude des activités biologiques (antimicrobienne et insecticide) d'extrait éthanolique et d'hydrolat d'*Inula viscosa* préparés après extraction par macération et hydrodistillation. Ces extraits sont fréquemment utilisés dans la médecine traditionnelle en Algérie grâce à ses propriétés thérapeutiques.

La teneur en eau de cette plante a révélé un taux élevé d'humidité 81,6 %, ce qui signifie que plus de la moitié du poids des feuilles fraîches d'*I.viscosa* sont constituées de l'eau.

Le screening phytochimique a révélé la richesse des feuilles d'*Inula viscosa* en composants actifs (les flavonoïdes, les taninstotaux, les glucosides et les saponosides), ainsi que l'absence totale des alcaloïdes, irridoïdes, anthocyanes, amidon et proanthocyanidols.

L'extraction des HEs par la méthode d'hydrodistillation a permis de donner une très faible masse difficile à récupérer à cause de sa forte viscosité, mais l'hydrolat très aromatisé a été récupéré. Le rendement en polyphénols est de 14,24%.

L'activité antimicrobienne selon la méthode de diffusion sur disques, a révélé que tous les micro-organismes sont sensibles vis-à-vis l'extrait éthanolique brut. Pour l'hydrolat, seulement *Staphylococcus aureus* et *Condida albicans* étaient sensibles.

Les substances naturelles d'*Inula viscosa* sont de bons agents antimicrobiens, on peut déduire donc, que l'extrait éthanol/eau de cette plante agisse comme un antibiotique.

L'activité insecticide a été réalisée sur les larves de *Ceratitis capitata*; une résistance des larves de *Ceratitis capitata* à été observée avec toutes les doses par contre l'insecte non pathogène a montré une grande sensibilité vis-à-vis l'extraits éthanolique brut.

## Perspective

---

Étant donné que notre pays possède une biodiversité spontanée immense, son exploitation dans le domaine de phytothérapie par les recherches est très demandé, et en perspective il est recommandé de proposer :

- D'étudier l'activité anti-inflammatoire in-vivo des polyphénols et d'hydrolat d'*Inula viscosa*.
- D'appliquer le produit phyto-thérapeutique formulé sur les souris et les rats.

Ce travail n'a pas été possible de la réaliser pour les problèmes du confinement du **COVID19**.

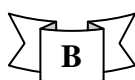
Nous proposons une étude pratique sur cette partie restante dans les années prochaines en raison de son importance.

## Références

---



- **Abdoune Y. (2012).** Contribution à l'extraction des huiles essentielles de l'inule visqueuse Algérienne par diverses méthodes, étude de ses propriétés antimicrobiennes et antioxydantes. Thèse de magister : spécialité biologie. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediène -Alger-, 72p.
- **Acheuk F., Doumandji-Mitiche B. (2013).** Insecticidal activity of alkaloids extract of *Pergularia tomentosa* (Asclepiadaceae) against fifth instar larvae of *Locusta migratoria cinerascens* (Fabricius, 1781) (Orthoptera : Acrididae). *International Journal of Science and Advanced Technology*, 3(6) : p.8-13.
- **Afnor. (2000).** Recueil de normes : les huiles essentielles . Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles. Afnor, Paris, France, p.661-663.
- **Al-Bakri A., Afifi F.U. (2007).** Evaluation of antimicrobial activity of selected plant extracts by rapid XTT colorimetry and bacterial enumeration. *J. Microbiol. Methods*, 68 : p.19–25.
- **Al-Dissi N.M., Salhab A.S., et Al-hajj H.A. (2001).** Effects of *Inula viscosa* leaf extracts on abortion and implantation in rats. *J Ethnopharmacol*, 77 : p.117-121.
- **Alwash M.S., Ibrahim N., et Ahmad W.Y. (2013).** Identification and mode of action of antibacterial components from *Melastoma malabathricum linn* leaves. *American Journal of Infectious Diseases*, 9(2): p.46-58.
- **Araniti F. (2017).** Allelopathic Potential of *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter Mediated by VOCs : A Physiological and Metabolomic Approach. *PLoS ONE*, 12(1) : p.1-23.
- **Arribas A. S., Martínez-Fernández M., Moreno M., Bermejo E., Zapardiel A., et Chicharro M.(2013).** Analysis of total polyphenols in wines by FIA with highly stable amperometric. *Food Chemistry*, 136: p.1183–1192.



- **Baba Aissa F. (2000).** Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et de Magherb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident). Éd. EDAS-Librairie moderne Rouiba, Algérie, 368p.
- **Balachowsky A., Mensil L.(1935).** Les insectes nuisibles aux plantes cultivées. Leurs moeurs, leur distribution. Insectes nuisibles aux arbres fruitiers, à la vigne, aux céréales et aux graminées de prairies. Imprimé sur les presses des établissements Busson, Paris, France, 1137p.

## Références

---

- **Balentine C.W., Crandall P.G., O'Bryan C.A., Duong D.Q., et Pohlman F.W. (2006).** The preand post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*, 73 : p.413-421.
- **Baytop T. (1984).** Therapy with Medicinal Plants in Turkey (past and present). *Publication of the Istanbul University* ,volume 40 , N° : 3255. Istanbul Üniversitesi yayinlari, P: 520.
- **Ben abedelkrim A. (2009).** Effet des extraits aqueux des grains de *peganunharmala l.* (zygophllaceae) sur les larves de 5<sup>ème</sup> stade de *locusta migratoriacinerascens* (orthoptera : oedipodinae) . Mémoire ingénieur agronomique : Ecole Nationale Supérieure Agronomique. El-Harrach-Alger, p.1-59.
- **Benayache S., Benayach F., Dendougui H ., et Jay M. (1991).** Les flavonoides d'*Inula viscosa L.* *Plantes médicinales et phytothérapie*, 25(4) : p.170-176.
- **Bencheikh S.d. (2017).** Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium ssp Aurasianum Labiatae*. Thèse de doctorat : Genie des Procédés et Environnement. Université Kasdi Merbah-Ouargla,120p.
- **Benchohra M.A., Hamel L., Bendimered F.Z., et Benchohra M. (2011).** Chemical composition of essential oil of *Inula viscosa*. *Science Lib*, Éd. Mersenne,3:p.1-7.
- **Benguerba A. (2008).** Etude phytochimique et de la phase butanolique de l'espèce *Inula crithmoides L.* Thèse de magister : chimie organique. Université Mentouri-Constantine, 110p.
- **Benhammou N. (2006).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydant des huiles essentielles et des composés phénolique de *Pistacia lentiscus*, *Pistacia atlantica* et *Inula viscosa* de la région de Tlemcen. Magister : en biologie. Université Abou-bekr Belkaïd, Faculté des sciences , Département de Biologie, p.1-145.
- **Benseguini-Tounsi L.(2001).** Etude in vitro de l'effet antibactérien et antifongiques de : *Inula Viscosa*, *Lawsonia inermis*, *Asphodelus microcarpus*, *Aloe vera* et *Juniperus oxycedrus*. Mémoire de magistère : en médecine vétérinaire. Université de Constantine, 110p.
- **Besombes C. (2008).** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse Doctorat : Génie des Procédés Industriels. Université de la Rochelle, p.40-45.
- **Beta T., Nam S., Dexter J., et Sapirstein H. (2005).** Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and Roller-Milled fractions. *Cereal chem*, 82 : p.390-393.
- **Béliveau R., Gingras D. (2005).** Les aliments contre le cancer : La prévention du cancer par l'alimentation. Édition du Trécarré, Outremont, 213p.

## Références

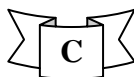
---

- **Blétry O., Kahn J-E., et Somogyi A. (2006).** Immunopathologie - Réaction inflammatoire, 2<sup>ème</sup> édition, 408 p.
- **Boubekri C. (2014).** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse pour le doctorat : chimi. Université Mohamed Khider-Biskra , 210p.
- **Bouchelta A., Boughdad A., et Blenzar A. (2005).** Effets biocides des alcaloïdes; des Saponosides, et des flavonoides extraits de *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae) sur *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera : Aleyrodidae). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 9 : p.1780-4507.
- **Boudjemaa S.(1999).** Contribution à l'étude de l'influence des extraits foliaires de *Melia azedarach* et *Eucalyptus globulus* sur le comportement de ponte de *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera : Gelechiidae) dans les stocks. Mémoire ingénieur agronome : Ecole Nationale Supérieure Agronomique. El Harrach-Alger, p.1-54.
- **Boumaza D. (2011).** Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales : *Inula viscosa*, *Rosmarinus officinalis* de la région d'Oran. Mémoire de Magister : Chimie Organique .Université d'Oran , Faculté des sciences. Département de chimie, p. 78.
- **Bouyer T. (1996).** Description d'une nouvelle espèce de *Maltagorea* Bouyer, 1993 (Lepidoptera, Saturniidae). Bulletin et Annales de la Société royale belge d'Entomologie, 132 : p.3-5.
- **Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M., et Chaabouni MM. (2008).** Composition chimique et activités : antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 10 : p.119-125.
- **Braga P.C., Dal Sasso M., Culici M., GaSastri L., Marceca M.X., et Guffanti E.E. (2006).** Antioxidant potential of thymol determined by chemi luminescence inhibition in human neutrophils and cell-free systems. *Pharmacology*, 76 : p.61-68.
- **Brunet S. (2008).** Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants. En vue de l'obtention du Doctorat : Pathologie et Nutrition. Université De Toulouse, 246 p.
- **Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> édition, techniques et documentation-Lavoisier, Paris , France, 915 p.
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> édition. Editeur : Technique et documentation- Lavoisier, Paris, France, 1243 p.

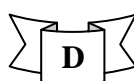
## Références

---

**Bssaibis F., Gmira N., et Meziane. (2009).** Activité antibactérienne de *Ditrichia viscosa* (L.). *W Greuter.Rev. Microbial. Ind. San et Environn*, 3(1) : p.44-45.



- **Cafarchia C., De Laurentis N., Milillo M.A., Losacco V., et Puccini V. (2002).** Antifungal activity of essential oils from leaves and flowers of *Inula viscosa* (Asteraceae) by Apulian region. *Parassitologia*, 44 : p.153-156.
- **Carrée P. (1953).** Précis de technologie et de chimie industrielle. Éd Balliere, Paris, France, 475p.
- **Cavaillon J.(1993).** Cytokines et inflammation. *J. Veterinary Research, Bio Med Central*, 24(C4) : p.368-369.
- **CCE. (2001).** Commission des Communautés Européennes : propositions de la commission en matière de lutte contre la résistance antimicrobienne. *Bruxelles*, vol 885.
- **Chabou A.(2000).** Contribution à l'étude de l'influence des extraits de fruits et de feuilles de *Melia azedarach* sur le comportement de ponte et des chenilles de *phthorimae aoperculella* (zeller) (lepidoptera : gelechiidae) dans les 4 stocks. Mémoire ingénieur agronomique : Ecole Nationale Supérieure Agronomique. El Harrach-Alger- , p.1-50.
- **Chalchat J.C., Muhayimana A., Habimana J.B., et Chabard J.L. (1997).** Aromatic plants of Rwanda : chemical composition of essential oils of ten Eucalyptus species growing in Ruhande Arboretum, Butare, Rwanda. *Journal of Essential Oil Research*, 9 (2) : 159-165.
- **Ciccarelli D.,Garbari F ., et Pagni A.M. (2007).** Glandularhairs of the ovary, a helpful character for Asteroideae (Asteraceae) taxonomy. *Annales Botanici Fennici*, 44(1) : p.1-7.
- **Clevenger J.F. (1928).** Apparatus for the Determination of Volatile Oil. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 17 : p.345-349.
- **Cowan M.M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4) : p.564-582.
- **Çakar S., Güy N., Özacar M., et Fındık F.(2016).** Investigation of Vegetable Tannins and Their Iron Complex Dyes for Dye Sensitized Solar Cell Applications. *Electrochimica Acta*, 209 : p.407-22.

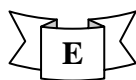


- **Daglia M. (2012).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23 (2) :p.174-181.

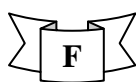
## Références

---

- **Danino O., Gottlieb H.E ., Grossaman S., et Bergman M. (2009).** Antioxidant activity of 1,3-dicaffeoylquinic acid isolated from *Inula viscosa*. *Article in Food Research International*, 42(9) : p.1273-1280.
- **Debray M., Jacquemin H., et Razafindrambao R.(1971).** Contribution à l'inventaire des plantes médicinales de Madagascar. Travaux et Documents No 8. ORSTOM, Paris, France, 150 p.
- **Debuigne G.(1974).** Larousse des plantes qui guérissent. Ed. Larousse, 254p
- **Decaux I.(2002).** Phytothérapie: mode d'emploi. Éd Le Bien Public : p 6-7.
- **Delatour P., Benoit E., Bourdin M., Gobron M., Moysan F., Polonovski J., Aron E., Cara M., et Auquier L. (1993).** Enantio sélectivité comparée de la disposition de deux anti-inflammatoires non stéroïdiens, le kétoprofène et le carprofène, chez l'homme et l'animal. *Bulletin de l'Académie National de Medecine*, 177(3) : p.515-527.
- **Derwish E., Benzian E Z., et Boukir A. (2010).** Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. *Aust. J. Basic & Appl. Sci*, 3(4) : p.3818-3824.
- **Dixon R.A., Xie D.Y., et Shrima S.B .(2005).** Proanthocyanidins-A final frontier in flavonoid research. *New Phytologist*, 165 (1) : p.9-28.
- **Dupont F., Guignard J.L. (2007).** Abrèges botanique systématique moléculaire. 14<sup>ème</sup> édition révisée, Elsevier-Masson, 285p.
- **Dyck V.A., Hendrichs J., et Robinson A.S.(2005).** Sterilizing insects with ionizing radiation. Sterile insect technique, principles and practice in Area-wide integrated pest management : p.250-253, 431.



- **Emberger L.(1971).** Travaux de botanique et d'écologie. Masson, Paris, France, 520 p.
- **Engels C., Schieber A., et Ganzle M.G.(2011).** Inhibitory spectra and modes of antimicrobial action of gallotannins from mango Kernels *Mangifera indica* L. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(7) : p.2215-2223.
- **Espinosa E., Chillet P.(2006).** Immunologie. Ellipses édition , 511 p.

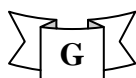


- **Faten R ., Abdel G ., Ibrahim A., et El-elaimy. (2011).** Antioxidant and scavenging active of Hibiscus EOSA SIEN crude extract. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 02(01) : p.51-58

## Références

---

- **Fellah H. (1996).** Contribution à l'étude de la bioécologie de la mouche Méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* Wiedemann 1829 (Diptera: Tephritidae) sur fruits d'été. Mémoire de Fin d'Etudes de Cycle de Spécialisation de l' Institut National Agronomique de Tunisie, Tunisie, 237 p.
- **Ferradji A. (2001).** Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*. Magister : En Bio-chimie, Option : Biochimie appliquée. Université FERHAT Abbas –SETIF, 90p.
- **Festy D. (2014).** Ma bible des huiles essentielles. Edition : *Quotidiens Malin. Paris, France,* 552 p.
- **Fontaine I. (2017).** Le pouvoir subtil des hydrolats. Magazine *Plantes et Santé* : p.1-5.
- **Fouché J.G., Marquet A., et Hambuckers A. (2000).** Les plantes médicinales, de la plante au médicament. « Observatoire du monde des plantes », édition., *Sart-tilman, Liege* : p.1-8.
- **Franco De A.L., Robertson M., et Locksley R.M.(2009).** Immunité : La réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires. 1<sup>ère</sup> édition, Pière Masson, 365 p.
- **Fransworth N-R., Akerele O., Bingel A-S., Soejarto D-D., et GUO Z. (1986).** Place des plantes medecinales dans la thérapeutique. *Bultin de l'organisation mondiales de la santé* ,64(2) : p.159-175.



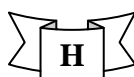
- **Garreta R. (2006).** Des simples à l'essentiel: de l'herboristerie à l'aromathérapie, pratiques et représentations des plantes médicinales. Bulletin bibliographique : Les Anthropologiques, Toulouse, Presses. Université du Mirail coll, 368p.
- **Genetet N.(1997).** Immunologie. 37<sup>ème</sup> édition. Chapitre 6 : Les systèmes non spécifiques de défense, la réaction inflammatoire et les autres moyens, ISBN : 2-7430-0158-5, Paris, France, p.221-230.
- **Ghestman C., Culea M., et Cozar O. (2001).** Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS. *Talanta*, 53 : p. 253-262.
- **Govindappa M., Naga Sravya S., Poojashri M. N., Sadananda T. S., et Chandrappa C.P. (2011).** Antimicrobial, antioxidant and *in vitro* antiinflammatory activity of ethanol extract and active phytochemical screening of *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 3(3) : p.43-51.
- **Gökbulut A. (2016).** Determination of Hispidulin in the flowers of *Inula viscosa* (L.) Aiton Using HPLC and HPTLC Methods. Article in *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(2) : p.159-166.



## Références

---

- **Guerrida S. (2010).** Evaluation de l'activité systémique de trois extraits végétaux et d'un insecticide sur puceron. Mémoire ingénieur agronomique : Ecole Nationale Supérieure Agronomique , El Harrach-Alger- , p.1-65.
- **Gueye M.T., Seck D., Wathelet J.P., et Lognay G. (2011).** Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale : Synthèse bibliographique. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 15(1) : p.183-194.
- **Guignard J. (1996).** L'abrégé de biochimie végétale, 10<sup>ème</sup> édition, Ed. *Masson*, Paris, France, 160p.



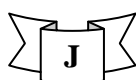
- **Halimi A. (1997).** Les plantes médicinales en Algérie, p.158-159.
- **Hamia C., Guergab A., Rennane N., Birache M., Haddad M., Saidi M., et Yousfi M. (2014).** Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du rhanterium adpressium. *Annales des sciences et technologie*, 6(1) : p.33-39.
- **Haoui I E., Derriche R., Madani L., et Oukali Z. (2011).** Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Arabian Journal of Chemistry*, 8 : p.587–590.
- **Haslam E. (1993).** Polyphenol complexation. In : « Polyphenolic phenomena ». Ed. *Scalbert A*, ed, *inra* edition, paris, France, p.23-31.
- **Hattori Eic K-O., Nakajima J-N. (2008).** La famille des actéracées à Galheiro Environmental Research and Development Station, Perdizes, Minas Gerais, Brésil. *Rodriguesia*, 59(4) : p.687-749.
- **Hennebelle T., Sahpaz S., et Bailleul F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *De La Recherche A La Pratique*, 2 : p.3-6.
- **Hugues A., N'guessan O., Evelyne C., Deliko D., Akhanovna J., et Mamyrbékova-Bekro. (2011).** Teneurs en composés phénoliques de 10 plantes médicinales employées dans la tradithérapie de l'hypertension artérielle, une pathologie émergente en Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research, EuroJournals*, 66(4) : p.575-585.

## Références

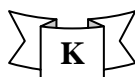
---



- **Igor Passi L.B. (2002).** Etude des activités biologique de *Fagara zanthoxyloides*, lam (Rutaceae). Thèse pour obtenir le grade de docteur en pharmacie : médecine de pharmacie et d'onto-stamalogie. Université de BamakoMali, 127 p.
- **Imelouane B., Amhamdi H., Wathelet J.P., Ankit M., Khedid K., et El Bachiri A. (2009).** Chemical composition of the essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *Int. J. Agric. Biol*, 11: p.205-208.
- **Ioana Ignat., Irina Volf., Valentin I.Popa. (2011).** A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Article littérature review*, 126(4) : p.1821-1835.



- **Jerraya A.(2003).** Principaux nuisibles des plantes cultivées et des denrées stockées en Afrique du Nord. Leur biologie, leurs ennemis naturels, leurs dégâts et leur contrôle. Édition Climat Publications, Tunis, 415 p.
- **Judd W.S., Bouharmont D., Compbell C.S., Evard C.M., Kelloggen F.A., et Stevens P. (2002).** Botanique systématique : une prespective phylogique.Ed. BOECK Université : p.167-383-396-398.

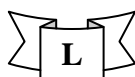


- **Karim F., Quraan S. (1986).** Medicinal Plants of Jordan. *Jordan Natural History Museum, Irbid*, p : 65.
- **Kebieche M. (2009).** Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens* L : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. Thèse de doctorat : biochemie. Université de Jijel, 143p.
- **Khalil E.A., Afifi F.U., et Al-Hussaini M. (2007).** Evaluation of the woundhealing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in pluronic F127 usingmice (*Mus musculus*). *Journal of Ethnopharmacology*, 129 : p.104-112.
- **Kheyar N.(2009).** Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et anti-bactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa* L., *Salvia officinalis* L et *Laurusnobilis* L.Chimique Magister : en Biologie. Université A. Mira de Bejaia Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biologie , 100 p.
- **Knaggs A.R. (2003).** The biosynthesis of shikimate metabolites. *Natural Product Reports*, 20 : p.119-36.

## Références

---

- **Kogel K.H. (2005)**. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proc Natl Acad Sci (PNAS)*, 02(38) : p.13386–13391.
- **Kontogiorgis C., Deligiannidou G.E., Hadjipavlou-Litinac D., Lazari D., et Papadopoulos A.(2016)**. Antioxidant protection : The contribution of proper preparation of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) beverage. *Industrial Corps and Products*, 79 : p.57-62.
- **Kordali S., Cakir A., Ozer AH., Cakmakci R., Kesdek M., et Mete E . (2008)**. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and pcymentene. *Bioresour Technol*, 99(18) : p.8788-8795.



- **Lahlou M. (2004)**. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of the essential oils. *Phytotherapy research*, 18(6) : p.435-448.
- **Lamara M. (2007)**. Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb. Thèse de magister : Biologie et Physiologie Végétale, option Valorisation des Ressources Végétales. Université Ferhat Abbas-Setif, 75p.
- **Lecomte J** : Lutter naturellement contre la Mouche de l'Olive, Saint-Rémy de Provence, édition sud, « Le choix durable », France : 216 p. [PDF](2015), disponible sur : <http://www.edisud.com>, page consulté en Mai 2017.
- **Lee K.W ., Kim Y., Lee H.J., et Lee C.Y .(2003)**. Cocoa Has More PHENOLIC phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem*, 51 : p.7292-7295.
- **Léger J. (2007)**. Fiche de flore de *Dittrichia viscosa subsp. Viscosa*. *Tela botanica*, vol 3 :3.
- **Longaga A., Otshudi ., Vercruysse A., et Foriers A. (2000)**. Contribution to the ethnobotanical, phytochemical and pharmacological studies of traditionally used medicinal plants in the treatment of dysentery and diarrhea in Lomola area, Democratic Republic of Congo (RDC). *J. Ethnopharmacol*, 71(3) : p.411-423.
- **Lucchesi M. E.(2005)**. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat : Chimie. Université de La Réunion, 147p.

## Références

---



- **Macheix J-J., Fleuriet A., et Jay-Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. 5<sup>ème</sup>, Ed Presses polytechnologiques et universitaires romand, 192 p.
- **Mansouri A.N., Satrani N., Ghanmi M., El Ghadraoui L., et Aafi A. (2011).** Étude chimique et biologique des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* sp. *lycia* et *Juniperus phoenicea* sp. *turbinata* du Maroc», *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 15 (3) : p.415-424.
- **Maruyama N., Sekimoto Y., Ishibashi H., Inouye S., Oshima H., Yamaguchi H., et Abe S. (2005).** Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. *Journal of inflammation*, 2(1) : p.1-11.
- **Masibo M., He Q. (2009).** In vitro antimicrobial activity and the major polyphenol in leaf extract of *Mangifera indica* L. *Malaysian Journal of Microbiology*, 5(2) : p.73-80.
- **May J., Chan C.H., May J., King A., Williams L., et French G.L. (2000).** Time kill studies of tea tree oils on clinical isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 45 : p.639-643.
- **Medzhitov R. (2010).** Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell*, 140 (6) : p.771-776.
- **Meena M.R., Sethi V. (1994).** Antimicrobial activity of essential oils from pice. *J. Food sci. Technol.*, 31 : p.68-70.
- **Mezzoug N., Elhadri A., Dallouh A., Amkiss S., Skali N.S., Abrini J., Zhiri A. Baudoux D., Diallo B., et El Jaziri A. (2007).** Investigation of the mutagenic and antimutagenic effects of *Origanum compactum* essential oil and some of its constituents. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 629(2) : p.100-110.
- **Michel-Briand Y. (1986).** Mécanismes moléculaires de l'action des antibiotiques. Collections de Biologie moléculaire. Edition Masson, 370 p.
- **Michel B. (2010).** Boutanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed Tec et Doc-Lavorsier, Paris, France, 1335p.
- **Mohammedi Z. (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magistère, Université Abou-Bakr Belkaid, Tlemcen.
- **Mohsen S.M., Ammar A.S.M. (2009).** Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chem.*, 112 : p.595-598.
- **Muster M., 2005.** Médicaments de l'inflammation. *J. EMC-Stomatologie*, 1(C005) : p.21-29.

## Références

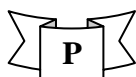
---



- **Nacz M., Shahidi F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054 : p.95–111.
- **Nawaz H., Shi J., Mittal G. S., et Kakuda Y. (2006).** Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultra filtration. *Separation and Purification Technology*, 48 : p.176-181.
- **Nemudzivhadi V., Masoko P. (2014).** In Vitro Assessment of Cytotoxicity, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Activities of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) Leaf Extracts. *J. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Vol. 2014 : p. 1-8.
- **Ntalliet E.G. (2014).** Chemical composition, toxicity and growth inhibitory activities of essential oils of three *Achillea* species and their nano-emulsions against *Tribolium castaneum* (Herbst). *Industrial Crops and Products*, 53 : p.252-260.



- **Okoro I.O., Osagie A., et Asibor E.O. (2010).** Antioxydant and antimicrobial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 9 (20) : p.2989-2993.
- **Omar A., El haykle M., 1993.** Plantes médicinales et aromatiques. 2<sup>ème</sup> édition, installation connaissance d'Alexandrie, p.13-134.
- **Oussou K.R., Yolou S., Boti J.B., Guessennnd K.N., Kanko C., Ahibo C., et Casanovad J. (2008).** Étude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne. *European Journal of Scientific Research*, 24(1) : p.94-103.
- **Öksüz S. (1976).** Taraxasterol oacetate from *Inula viscosa* . *Planta medica* , 29 : p.343-345.
- **Özcan M., Arslan D., et Aydar A.(2008).** The use of the oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil and hydrosol in green olive fermentation. *J. Food Sci. Technol*, 51(3) : p.1678-4324.



- **Palomo N.(2010).** La gestion des plantes médicinales chez les communautés autochtones Nahuas de la Huasteca Potosina, Mexique. Grade de Maîtrise en Géographie : géographie. Université de Montréal Nadja Palomo Contreras, 224 p.
- **Paquet J.M. (2014).** L'inule visqueuse (*Inula viscosa*). *Bulltin de la Société Botanique de France*, 70(1) : p.139-141.

## Références

---

- **Paris R.R ., Moyses H. (1965).** Précis de Matière médicale, tome II : pharmacognosie spéciale. Ed. Masson et Cie, Tome I, 511 p.
- **Paris R.R ., Moyses H.(1969).** Matière médicale. Collection de précis de pharmacie. Edition Masson. 2<sup>ème</sup> édition. Tome II, Paris, France, 518 p.
- **Parolin P., Ion Scotta M., et Bresch C. (2013).** Notes on the phenology of *Dittrichia viscosa*. *Journal of Mediterranean Ecology*, 12 : p.27-35.
- **Parolin P., Ion Scotta M., et Bresch C. (2014).** Biology of *Dittrichia viscosa*, a Mediterranean ruderal plant : a review. *International of Experimental Botany*, 83 : p.251-262.
- **Pauli A.(2001).** Antimicrobial properties of essential oil constituents. *International Journal of Aromatherapy*, 11(3) : p.126-133.
- **Pietta P.G. (2000).** Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63: p.1035-1042.
- **Price L., Price S. (2004).** Understanding Hydrolats : The Specific Hydrosols for Aromatherapy A Guide for Health Professionals. 1<sup>er</sup> édition, Churchill Livingstone, 300 p.
- **Prigent-Combaret C., Lejeune P. (1999).** La génétique de la formation du développement des biofilms. *Bull. Soc. Fr. Microbiol*, 14(2) : p.121-126.



- **Qasem J., Al-Abed A., et Abu-Blan H :** Antifungal activity of clammy inula (*Inula viscosa*) on *Helminthosporium sativum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathologia Mediterranea*, 34(1) : p.7-14. [PDF ] (1995:7-14), disponible sur : [https://www.jstor.org/stable/42685960?seq=1#page\\_scan\\_tab\\_contents](https://www.jstor.org/stable/42685960?seq=1#page_scan_tab_contents). Page consultée le 29/07/2017.
- **Quezel P., Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Tome 2, CNRS, Paris, France ,1170 p.

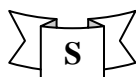


- **Rabelo A., Serafini M., Rabelo T.K., Melo M., Prado D., Gelain D., Moreira J., Bezerra M., Silv T., Costa E., Nogueira P., Moraes V., Prata A., Quintans L., et Araújo A. (2014).** Chemical composition, antinociceptive, anti-inflammatory and redox properties in vitro of the essential oil from *Remirea maritima* Aubl. (Cyperaceae). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1) : p.514.

## Références

---

- **Rasooli I., Mirmostafa S.A. (2002).** Antibacterial properties of *Thymus pubescens* and *Thymus serpyllum* essential oils. *Fitoterapia*, 73(3) : p.244–250.
- **Reeb C. (2010).** Plantes mellifères : L'Inule visqueuse. *Abeilles & Fleurs*, 720 : p.18-20.
- **Remli B.(2013).** Extraction des Flavonoïdes de la plante *Inula viscosa*, de la région d'Oran et mise en évidence de l'activité microbienne. Mémoire de magistère : en chimie moléculaire et biomoléculaire. Université d'Oran,86 p.
- **Revillard J.P. (2001).** Immunologie. 4<sup>ème</sup> édition, chapitre 14, Espagne, 595p.
- **Rezaire A. (2012).** Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse de doctorat : phytochimie. Université des Antilles et de la Guyane, France, 193p.
- **Rizzo L., Manaia C., Merlin C., Schwartz T., Dagot C., Ploy M. C., Michael I., et Fatta-Kassinou D. (2013).** Urban Wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. *Science of the Total Environment*, 447 : p.345–360.
- **Roulier G.(1990).** Traité pratique d'aromathérapie, propriétés et indications thérapeutiques des Essences de plantes. 2<sup>ème</sup> édition, Ed. Dangles,446 p.
- **Rousselet M.C., Vignaud J.M., Hofman P., et Chatelet F.P.(2005).** Inflammation et pathologie inflammatoire. *Copyright AFECAP*. Chapitre 3, p.1-58.

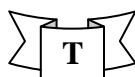


- **Sablonnière B. (2006).** Réussir le BEP biologie microbiologie. Éd. ellipses, 362p.
- **Sahu M.C., Debata N.K., et Padhy R.N.(2012).** Antibacterial activity of *Argemone mexicana* L. Against multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*, isolated from clinical samples. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, vol 2 : S800-S807.
- **Sarkhel, S. (2015).** Evaluation of the anti-inflammatory activities of *Quillaja saponaria*. *Toxicology Report*, 2 : p.1-3.
- **Scalbert A. (1999).** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*,30: p.3875-3883.
- **Schinella G.R., Tournier H.A., Prieto J.M., Mordujovich de Buschiazzo P., et Rios J.L.(2002).** Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. *Life Sciences*, 70 : p.1023-1033.
- **Scimeca D.(2006).** Les plantes du bonheur, Ed. Alpen., 94 p.

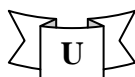
## Références

---

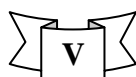
- **Seca A.M., Grigore A., Pinto DC., et Silva AM.(2014).** The genus inula and thier metabolites . From ethnopharmacological to medicinal uses *journal of ethnopharmacology*, 154(2) : p.286-310.
- **Sivananthan M. (2013).** Antibacterial activity of 50 medicinal plants used in folk medicine. *Int. J. Biosci*, 3(4) : p.104-121.
- **Smith-Palmer A., Stewart J., et Feyel L. (2001).** The potential application of plants essential oils as natural food perservative in soft cheese. *Food Microbiology*,18 : p.463-470.
- **Strang C.(2006).** Larousse médical. 4<sup>ème</sup> édition, Ed Larousse, 1219 p .



- **Talib W.H., Zarga M.H., et Mahasneh A.M. (2012).** Antiproliferatives, antimicrobial and apoptosis incucing effects of compounds isolates from Inula viscose. *Molecules Journal*, 17 : p.3291-3303.
- **Tona L., Kambu K., Ngimbi N., Cimanga K., et Vlietinck A-J.(1998).** Antiamoebic and phytochemical screening of some Congolese medicinal plants. *J. Ethnopharmacol* , 61(1) : p.57-65.
- **Turkmen N., Sedat Velioglu Y., Ferda Sari., et Gökçe Polat Yemiş. (2007).** Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molécules*, 12(3) : p.484-496.



- **Urquiaga I., Leighton F. (2000).** Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*, 33 (2) : p.55-64.



- **Varma A. (1999).** Piriformospora indica, a Cultivable Plant-Growth Promoting R Endophyte. *Applied and Environement Microbiology*, 65(6) : p.2741-2744.
- **Vernex-Lozet C. (2011).** Les possibilités de la phytothérapie en gériatrie canine. Thèse de doctorat : médecine vétérinaire. Université CLAUDE-BERNARD-de Lyon 1, 176 p.



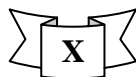
- **Wang W., Ben Daniel B.H., et Cohen Y. (2004).** Control of Plant Diseases by Extracts of *Inula viscosa*. *Phytopathological*, 94 (10) : p.1042-1047.



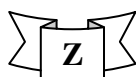
## Références

---

- **Watt M. (1999).** Quality control of aromatherapy education, Conférence IATA (International Aromatherapists and Tutors Association), Toronto (Canada), <http://www.aroma.iata.com>.
- **Weill B., Batteux F., et Dhainaut J. (2003).** Immunopathologie et réactions inflammatoires. Ed. De Boeck Université, Paris, France, p.12-23.



**Xiao Z.T., Zhu Q., et Zhang H.Y. (2014).** Identifying antibacterial targets of flavonoids by comparative genomics and molecular modeling. *Open journal of genomics*, 3(1) : p.1-8.

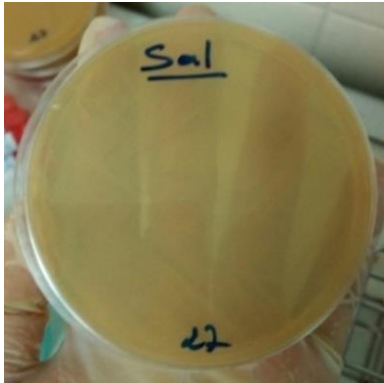


- **Zeggwagh N-A., Ouahidi M-L., Lemhadri A., et Eddouks M.J. (2006).** Study of hypoglycaemic and hypolipidemic effects in *Inula viscose* L. aqueous extract in normal and diabetic rats. *Journal of Ethno-pharmacologie*, 108 : p.223–227.
- **Zhao J., Li Y., Liu Q., et Gao K. (2010).** Antimicrobial activities of some thymol derivatives from the roots of *Inula hupehensis*. *Food Chem.*, 120 (2) : p.512-516

# Annexes

---

**Annexe I :** Les souches microbiennes utilisées.



**Salmonella**



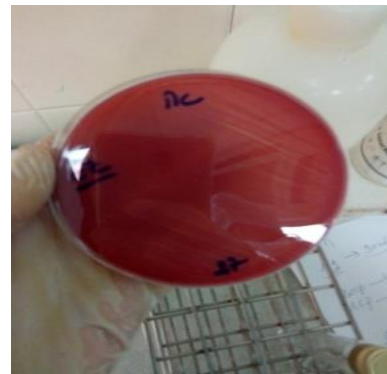
**Staphylococcus aureus**



**Bacillus subtilis**



**Pseudomonas aeruginosa**



**Echerichia coli**



**Condida albicans**



**Aspergillus brasiliensis**

## Annexes

---

**Annexe II :** Matériels non biologiques.

**Tableau I :** Verreries, petits matériels et appareillages.

<b>Verreries et les petits matériels</b>	<b>Appareillages</b>
<b>Ballon</b>	<b>Agitateur magnétique</b>
<b>Béchers</b>	<b>Appareil d'hydrodistillation(Clevenger)</b>
<b>Boîtes de pétris</b>	<b>Autoclave</b>
<b>Bouteille</b>	<b>Bain marie</b>
<b>Burette graduée</b>	<b>Balance</b>
<b>Entonnoir</b>	<b>Bec bunsen</b>
<b>Ecouvillon</b>	<b>Broyeur électrique</b>
<b>Fioles jaugées</b>	<b>Chauffe ballon</b>
<b>Flacons</b>	<b>Distillateur</b>
<b>Gans stériles</b>	<b>Etuve</b>
<b>Micropipettes</b>	<b>Evaporateur rotatif</b>
<b>Papier filtre</b>	<b>Ph mètre</b>
<b>Papier aluminium</b>	<b>Plaque chauffante</b>
<b>Pied à coulisse</b>	<b>Réfrigérateur</b>
<b>Pince</b>	<b>Thermomètre</b>
<b>Pipettes graduées</b>	<b>Vortex</b>
<b>Porteur</b>	/
<b>Seringues</b>	/
<b>Spatule</b>	/
<b>Tubes à essais</b>	/

## Annexes

---

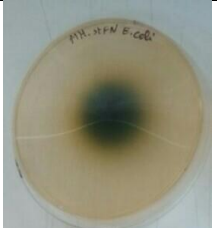



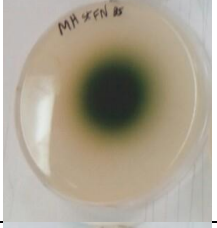
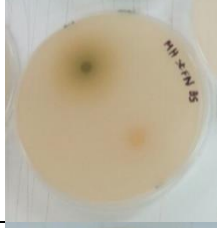
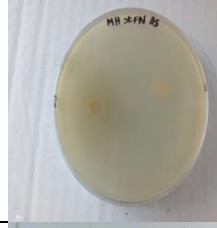

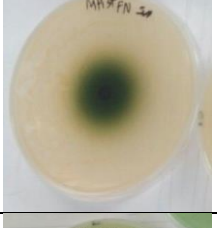



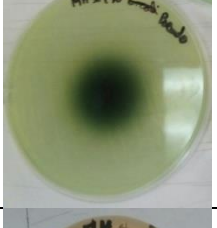
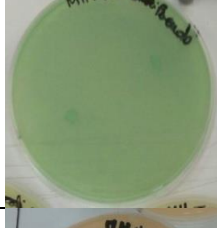
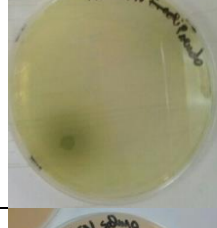
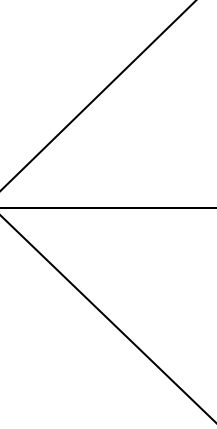
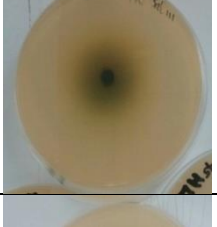
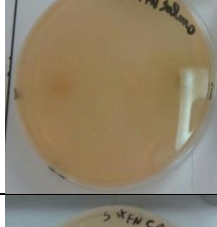
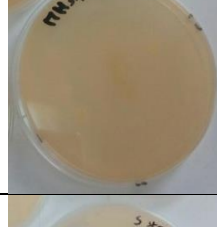

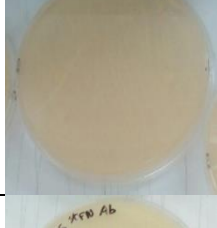
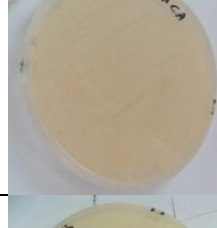
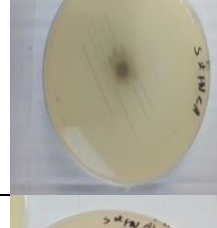




**Annexe III** : Produits et réactifs.

**Tableau II** : Produits et réactifs utilisés.

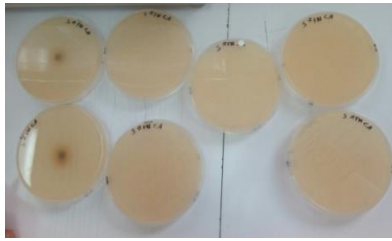
<b>Réactifs et produits</b>	<b>Formule chimique</b>
<b>Acétate de plomb</b>	<b>Pb</b>
<b>Acide chlorhydrique</b>	<b>HCl</b>
<b>Acide sulfurique</b>	<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>
<b>Alcool isoamylique</b>	<b>C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>O</b>
<b>Chlorure ferrique</b>	<b>FeCl<sub>3</sub></b>
<b>Coupon de magnésium</b>	<b>Mg</b>
<b>Cristaux de camphre</b>	/
<b>Cristaux de menthol</b>	/
<b>Eau distillé</b>	<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>
<b>Eau physiologique</b>	/
<b>Ethanol</b>	/
<b>Granulés de cire d'abeille</b>	/
<b>Huile de noix de coco</b>	/
<b>Huile de tournesol</b>	/
<b>Hydroxyde de potassium</b>	<b>KOH</b>
<b>infusé d'<i>Inula viscosa</i></b>	/
<b>Iode</b>	<b>I<sub>2</sub></b>
<b>Poudre d'<i>Inula viscosa</i></b>	/
<b>Réactif de Dragen Droff</b>	/

## Annexes

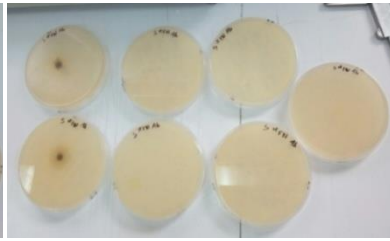
**Annexe IV:** Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique et d'hydrolat d'*Inula viscosa* et des antibiotiques sur la croissance de différentes souches testées.

<i>Echerichia coli</i>				
<i>Bacillus subtilis</i>				
<i>Staphylococcus aureus</i>				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
<i>Salmonella</i>				
<i>Concidea albicans</i>				
<i>Aspergillus brasiliensis</i>				

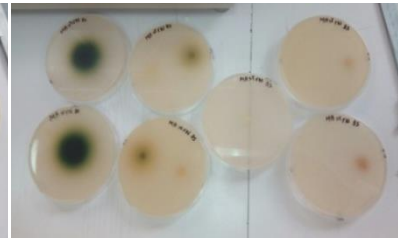
## Annexes



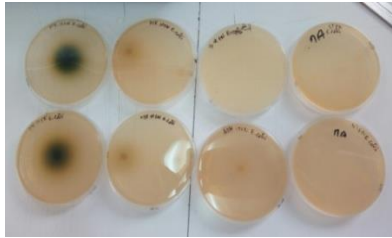
*Candida albicans*



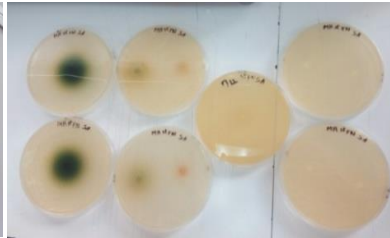
*Aspergillus brasiliensis*



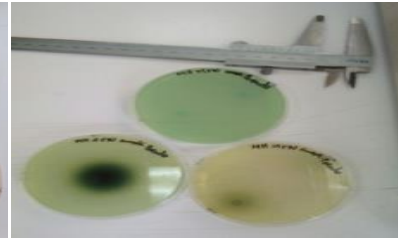
*Bacillus subtilis*



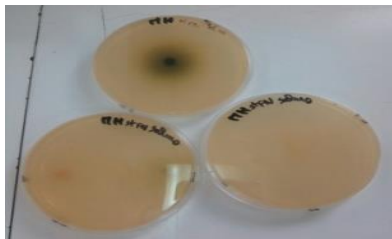
*Echerichia coli*



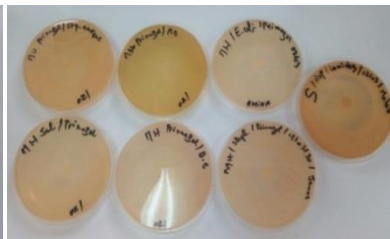
*Staphylococcus aureus*



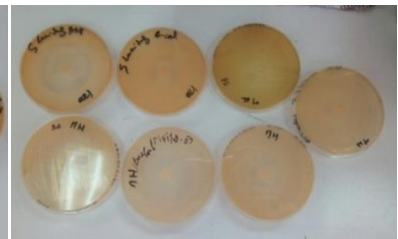
*Pseudomonas aeruginosa*



*Salmonella*



*Primazol*



*Amidaz*

**Annexe V** : Préparation des réactifs.

**Tableau III** : Les fiches techniques des réactifs et solutions utilisées.

<b>Fiche technique 1 : FeCl<sub>3</sub> à 2%</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FeCl<sub>3</sub>.....2g</li> <li>• Eau distillé.....100ml</li> </ul>
<b>Fiche technique 2 : 1 g (comprimé)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 10g.....90 ml Ph7</li> <li>• 1 g.....9 ml</li> </ul>

## Annexes

### Annexe VI : Caractéristiques des souches utilisées.

Famille	Genres et espèces	Gram	Formes et mobilité	Caractères biologiques	Habitat	Pouvoir pathogène
<i>Micrococcaceae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Cocci Immobile	Aérobic facultatif catalase+ oxydase- coagulase+	Peau et muqueuses	Infection pyogènes graves, intoxications alimentaires
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Echerichia coli</i>	-	Bacille Mobile	Aérobic facultatif oxydase-, lactose+ indole+	Tube digestif	Infection urinaires des gastro-entérites infantiles
<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Bacille Mobile	Aérobic stricte oxydase+	Commensale des téguments et des muqueuses de l'homme et des animaux	Infection nosocomiales, occupant le 1 <sup>ère</sup> rang pour les infections pulmonaires basses
<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	+	Bacille Mobile	Aéro-anaérobic facultatif oxydase- catalase+	Sol, poussière, eau, air et plantes	Peut donner lieu à de redoutables infections dans certains cas ou encore être à l'origine d'une infection alimentaire
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Salmonella</i>	-	Bacille Mobile pour la plupart, mais certains sont immobiles	Aéro-anaérobic facultatif oxydase- nitrate réductase+, fermentative du glucose, lactose- indole-uréase-	Les milieux aquatiques pollués	Fièvre typhoïdes et paratyphoïdes
<i>Saccharomycetaceae</i>	<i>Condida albicans</i>	/	Forme variable rondes à allongées	Non pigmentées, fermentation+ou - ,uréase -inositol et créatin non assimilés	Tube digestif de l'homme et des mammifères et des oiseaux	Candidoses superficielles. Infections fongiques au niveau des muqueuses digestive et gynéco-logique
<i>Moniliaceae</i>	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	/	Filament colonies sous forme duveteuse	Une espèce mésophile Un condiophore possédant une exytaimité renflée	Sol, plantes, aliments, matériaux divers.	Mycoses pulmonaires chez l'homme et les oiseaux, l'aspergillose

## Annexes

### Annexe VII : Présentation des pathogènes sur leurs milieux sélectifs.

Nom de pathogène	Milieu sélectif	Aspect des colonies
<i>Bacillus subtilis</i>	Agar caséine soja Nutrient agar	Colonies de formes irrégulières, translucides Couleur : blanc, crème ou jaune Élévation : bousse Surface brillante Marge dentelée Consistance gluante
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	Agar Sabouraud	Colonies blanches, puis jaunes et enfin granuleuse noires, veloutées à revers cotonneux
<i>Candida albicans</i>	Agar Sabouraud	Colonies de tailles moyennes crémeuses
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Agar cetrimide	Colonies bleues ou bleues vertes avec fluorescence
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar Vogel Johnson Agar Chapman	Petites colonies noires avec halo jaune Colonies jaunes/blanches avec halo jaune
<i>Echerichia coli</i>	Agar MAC Conkey	Colonies rouges, non mucoides
<i>Salmonella</i>	Agar XLD	Colonies rouges bien développées avec ou sans centre noir

### Annexe VIII : Techniques d'ensemencement.

L'ensemencement consiste à déposer dans un milieu neuf des germes prélevés dans un milieu de culture mère. Le transport est en général effectué avec une anse ou une pipette Pasteur.

Prendre les précautions nécessaires pour travailler dans de bonnes conditions d'aseptie (nettoyage paillasse, mains par un désinfectant).

- Veiller à travailler dans la zone stérile autour du bec Bunsen,
- Tenir le tube contenant la culture mère dans la main gauche, déboucher près de la flamme et garder le coton dans la main,
- Flamber l'ouverture du tube.
- Stériliser l'anse en la portant au rouge dans la flamme du bec bunsen, la laisser refroidir dans la zone stérile.
- Prélever et repiquer rapidement dans le tube contenant le milieu de repiquage :

#### Repiquage sur milieu solide :

Repiquer en déplaçant en zig zag l'aiguille sur la surface de l'agar, du fond du tube vers l'ouverture, en prenant soin de ne pas érafler la gélose, repasser dans la flamme l'aiguille à ensemer en la portant au rouge. L'aiguille est prête pour un nouvel ensemencement.

- Flamber l'ouverture des tubes, flamber légèrement les cotons, bouche