

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955-سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SIKKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Science biologiques.

Spécialité : Biochimie appliquée.

Intitulé

**Evaluation de l'activité antibactérienne du miel naturel
et des polyphénols de la plante médicinale
*Inulaviscosa L.***

Présenté Par :

N'KIKACHE AYA
LAOUAR MEROUA

LALMI HADJER
BOUNAB NESRINE.

Membre de Jury :

M ^{me} . Gabli Z	Président	MCA	Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda
M ^{me} . Khadri S	Promoteur	MCB	Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda
M ^{me} . Mellahi L	Examineur	MAA	Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023



Remercîment

En premier lieu, nous remercions **ALLAH** le tout puissant de nous avoir données la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Ce travail n'aurait pu se faire sans le soutien de **nos parents** que nous remercions de tous cœur pour leurs encouragements.

Un immense merci à notre promotrice **Dr, Khadri Sihem** recevrez ici nos sincères remerciements pour la confiance et les conseils que vous nous avez accordés. Merci également pour votre encadrement, votre disponibilité et votre gentillesse.

Nous tenons à remercier les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont accordés en jugeant ce travail : **Dr, Gabli** , qui nous a fait l'honneur par sa présence en qualité de président de jury et **Dr, Mellahi** , pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous aimons adresser nos plus vifs remerciements à **Dr, Machia Laila** pour son aide ; sa disponibilité et ses précieux conseils.

Nos remerciements vont également aux techniciennes des laboratoires pédagogiques : **Asma** et **Farida**.

A tous les enseignants.

Toutes nos salutations à tous nos collègues de la promotion de master 2 promotion 2022-2023 pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.

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

Dédicace

Louange à **Dieu** avant tout...

Avec tout l'amour et mes respects, je dédie ce modeste travail :

À mes chères parents ma mère **Wahiba** et mon père **Ali** Pour leur encouragement, leur amour, leur soutien et leur patience tout au long de ma vie. Que dieu les garde et protège.

À mes adorables sœurs :**Rayan et Basmala et Tasnim**, et mon frère **Adam** pour leur encouragement et leur aide.

À mes chères « **Meroua, Hadjer**» qui ont contribué à la réalisation de ce modeste travail et qui ont partagé avec moi les moments difficiles.

A tout ma famille.

A tous mes amis (e) sans exception

À tous mes enseignants du primaire jusqu'à l'université.

À mon encadreur Mme **.khadri sihem**.

À mes collègues de la promotion de master "**Biochimie Appliquée**".

À tous ceux qui me connaissent et qui m'aiment.



AYA

Dédicace

Je tiens tout d'abord à exprimer ma gratitude envers **ALLAH** le tout-puissant, qui m'a accordé la santé, la force et le courage nécessaires pour mener à bien ce travail.

Je dédie humblement ce modeste travail à La lumière de mes yeux, mes très chers parents (**Nadia et Rebiai**), qui ont consenti de nombreux sacrifices et ont prodigué des conseils précieux ainsi qu'un soutien indéfectible tout au long de mes années d'étude.

Je dédie également ce travail à la fleur adorable de ma vie, ma sœur **Nouha**, ainsi qu'à mes frères **Ayoub**, **Youssef**, **Anis**, pour leur soutien constant, leur aide inestimable et leur amitié sincère. Les mots ne sauraient exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte à leur égard.

Je souhaite également adresser Une dédicace spéciale à une personne qui m'a toujours aidé, encouragé, et conseillé ma chère tante **Fadila**.

Je dédie ce travail à toute ma famille ainsi qu'à mes meilleures amies, **Hanine** et **Ranya**, qui ont toujours été présentes à mes côtés, surtout durant les périodes les plus difficiles. Je les aime profondément.

Sans oublier mes camarades **Hadjer** et **Aya** pour tous les moments de joie et de peine qu'on a passé ensemble, et tous les enseignants qui ont contribué à ma formation durant tout le parcours de mes études.

Enfin, je dédie ce travail à tous mes amis qui me sont chers, à tous ceux que j'aime et qui m'aiment, qu'ils trouvent ici l'expression de mes sentiments les plus dévoués et mes vœux les plus sincères.



MEROUA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à toutes les personnes que j'aime :
A toi **mon père**, toi qui m'aidé beaucoup dans tout mon parcours scolaire,
A toi **ma mère**, toi qui me comble d'amour et d'affection.
Ensemble vous avez su m'encourager et me soutenir tout au long de mes
études. Que dieu vous protège.
Mes très chers frères **Nacer Eddine, Ahmed Nasssim**.
Ma chère sœur **mana**
A vous mes adorable amie (es) : **Meroua, Aya, nesrine**.
Avec qui j'ai passé des moments inoubliables.
J'ai remercié tous les personnes qui de près ou de loin contribué à la
réalisation de ce travail. Qu'ils trouvent ici notre sicère et profonde
gratitude.



Hadjer.

Dédicace

Mon voyage universitaire touche à sa fin. Après beaucoup de travail et d'épreuves, je suis reconnaissant envers tous ceux qui ont favorisé ma carrière scientifique. Je dédie cette humble réalisation à ceux que j'aime, et en particulier à **ma mère** et **A mon père** bien-aimé qui se sont sacrifiée pour moi et n'ont ménagé aucun effort pour me rendre heureux.

À mes chères sœurs "**khaoula**" "**Hadjer**" et "**Chaïma**". Sur qui je compte pour chaque grand et petit, pour l'homme le plus important de ma vie, mon **honorable frère "Khaled."** À mon amie fidèle "**Nada**" qui n'a jamais cessé de fournir aide et assistance.

Pour ceux qui m'ont soutenu et aidé de toutes leurs forces, pour ceux qui se réjouissent de nos réussites et de nos échecs, je présente ce travail avec tout mon cœur et en hommage à mes proches. Je vous offre cette recherche et j'espère qu'elle répondra à vos attentes.



NESRINE

Résumé

Depuis fort longtemps, les plantes médicinales furent le principal recours pour la fabrication de remèdes naturels. Elles ont été utilisées par différentes civilisations en médecine traditionnelle.

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'activité antibactérienne des poly phénols et du miel naturel de la plante médicinale *Inula viscosa* appelée communément « magraman » ; une plante vivace qui appartient à la famille des Astéracées qui évolue dans la majeure partie du bassin méditerranéen et très connue par ses propriétés thérapeutiques.

L'extraction des composées phénoliques de la plante a été effectuée par soxhlet qui a donné un rendement relativement faible en extrait brut, ce dernier dispose d'une teneur notable en polyphénols totaux et en flavonoïdes dosés par des méthodes spectrophotométrique avec un taux de $126,08 \pm 0,008 \mu\text{g EAG/mg}$ et $10,55 \pm 0,005 \mu\text{g EQ/mg}$ respectivement. Par ailleurs, des quantités faibles en polyphénols totaux et en flavonoïdes ont été enregistrées pour le miel ($9,69 \pm 0,01 \mu\text{g EAG/mg}$ et $2,4 \pm 0,03 \mu\text{g EQ/mg}$).

L'activité antibactérienne de l'extrait et du miel a été testée sur cinq souches bactérienne de références à savoir : *Escherchia coli ATCC25922* , *Pseudomonas aeruginosa ATCC27853* , *Klibsiella pneumoniae ATCC13883* , *Salmonella typhimurium ATCC14023* , *Staphylococcus aureus ATCC25923* par trois méthodes : méthode de diffusion en disque , méthode de dilution en milieu solide et méthode de micro dilution en milieu liquide .

Les résultats obtenus montrent que l'extrait et le miel d'*Inulaviscosa* ont montré une activité antibactérienne modérée vis-à-vis de la plupart des souches testées avec des zones d'inhibition varient entre 7-22 mm, cependant, la souche *Staphylococcus aureus* est la plus sensible et la souche *Pseudomonas aeuroginosa* est la plus résistante, Par ailleurs l'étude a révélé des valeurs de CMI relativement faible variées entre 0,5 et 0,005 mg/ml

Mots clés : Activité antibactérienne, *Inula viscosa*, plante médicinale, phytothérapie et polyphénols

Abstract :

For a very long time, medicinal plants have been the main recourse for the manufacture of natural remedies. They have been used by different civilizations in traditional medicine.

The objective of our work is to evaluate the antibacterial activity of polyphenols and natural honey of the medicinal plant *Inula viscosa* commonly called "magraman"; a perennial plant that belongs to the Asteraceae family that grows in most of the Mediterranean basin and is well known for its therapeutic properties.

The extraction of phenolic compounds from the plant was carried out by soxhlet which gave a relatively low yield of crude extract, the latter has a significant content of total polyphenols and flavonoids assayed by spectrophotometric methods with a rate of $126,08 \pm 0.008 \mu\text{g EAG/mg}$ and $10.55 \pm 0.005 \mu\text{g EQ/mg}$ respectively. Furthermore, low amounts of total polyphenols and flavonoids were recorded for honey ($9.69 \pm 0.01 \mu\text{g EAG/mg}$ and $2.4 \pm 0.03 \mu\text{g EQ/mg}$).

The antibacterial activity of the extract and honey was tested on five reference bacterial strains, namely: *Escherchia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Klibsiella pneumoniae* ATCC13883, *Salmonella typhimurium* ATCC14023, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 by three methods: diffusion method disc, solid-medium dilution method and liquid-medium micro-dilution method.

The results obtained show that *Inulaviscosa* extract and honey showed moderate antibacterial activity against most of the strains tested with zones of inhibition varying between 7-22 mm, however, the *Staphylococcus aureus* strain is the most sensitive and the *Pseudomonas aueuroginosa* strain is the most resistant. In addition, the study revealed relatively low MIC values varying between 0.5 and 0.005 mg/ml

Keywords: Antibacterial activity, *Inula viscosa*, medicinal plant, Phytotherapy and Polyphenols

المخلص

لفترة طويلة جدًا ، كانت النباتات الطبية هي الملاذ الرئيسي لصناعة العلاجات الطبيعية. تم استخدامها من قبل الحضارات المختلفة في الطب التقليدي.

الهدف من عملنا هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للبوليفينول والعسل الطبيعي للنبات الطبي *Inula viscosa* المعروف باسم "Magraman" ؛ نبات معمر ينتمي إلى عائلة Asteraceae ينمو في معظم مناطق حوض البحر الأبيض المتوسط وهو معروف جيدًا بخصائصه العلاجية.

تم استخلاص المركبات الفينولية من النبات بواسطة Soxhlet الذي أعطى إنتاجية منخفضة نسبيًا من المستخلص الخام ، هذا الأخير يحتوي على محتوى معنوي من البوليفينول الكلي والفلافونيدات المقاسة بالطرق الطيفية بمعدل 53 ، 0.00 ± 36 ملغ / جم. و 5.51 ± 0.005 mgQE / g على التوالي. بالإضافة إلى ذلك ، تم تسجيل كميات منخفضة من إجمالي البوليفينول والفلافونويد للعسل (0.01 ± 8.85 مجم GAE / جم و 0.03 ± 2.037 مجم QE / جم على التوالي).

تم اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص والعسل على خمس سلالات بكتيرية مرجعية وهي: *Escherchia coli* ATCC25922 ، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 ، *Klinsiella pneumoniae* ATCC13883 ، *Staphylococcus aureus* way ATCC25923 ، *Salmonella typhimurium* ATCC14023 وطريقة التخفيف الدقيق السائل والمتوسطة.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن مستخلص *Inula viscosa* والعسل أظهروا نشاطًا مضادًا للبكتيريا معتدلاً ضد معظم السلالات المختبرة بمناطق تثبيط تتراوح بين 7-22 مم ، ومع ذلك ، فإن سلالة *Staphylococcus aureus* هي الأكثر حساسية وسلالة *Pseudomonas aueuroginosa* هي الأكثر مقاومة. بالإضافة إلى ذلك ، كشفت الدراسة عن قيم منخفضة نسبيًا لـ MIC تتراوح بين 0.5 و 0.005 مجم / مل

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للبكتيريا، *Inula viscosa*، العلاج بالنباتات، النباتات الطبية ومتعدد الفينول.

Sommaire

Sommaire

DEDICACES

RESUME

ABSTRACT

الملخص

LISTE DES TABLEAUX III

LISTE DES FIGURES.....IV

LISTE DES ABREVIATIONS..... V

INTRODUCTION..... I

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 01

PHYTOTHERAPIE ET PLANTES MEDICINALES

1. PHYTOTHERAPIE4

2. PLANTES MEDICINALES4

3 . METABOLITES SECONDAIRES6

 3.1. METABOLITES PRIMAIRES6

 3.2. METABOLITES SECONDAIRES6

4. POLYPHENOLS7

 4.1.DEFINITION.....7

 4.2.CLASSIFICATION7

 4.3. ROLE ET INTERET DES COMPOSES PHENOLIQUES8

 4.4. ACTIVITE ANTI BACTERIENNE10

CHAPITRE 02

PLANTE ETUDIEE INULA VISCOSA -L-

1.GENERALITES12

2.DESCRPTION12

 2.1. BOTANIQUE....12

 2.2. GEOGRAPHIQUE13

3. CLASSIFICATION13

4. COMPOSITION CHIMIQUE.....13

5. ASPECTS PHARMACOLOGIQUES.....14

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 03

MATERIEL ET METHODES

1.MATERIEL18

 1.1.MATERIEL VEGETAL18

 1.2.SOUCHES BACTERIENNES A TESTER20

 1.3. MATERIEL DU LABORATOIRE20

2. METHODES20

 2.1. EXTRACTION DES COMPOSES PHENOLIQUES A PARTIR DE LA PLANTE
INULA VISCOSA.....20

 2.2. CALCUL DU RENDEMENT EN EXTRAIT SEC21

 2.2.1. DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX21

 2.2.2. DOSAGE DES FLAVONOÏDES TOTAUX22

 2.3.TEST D'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE.....22

 2.3.1. METHODE DE DIFFUSION EN MILIEU SOLIDE.....23

 2.3.2. METHODE DE DILUTION EN MILIEU SOLIDE24

 2.3.3. METHODE DE MICRODILUTION EN MILIEU LIQUIDE.....25

CHAPITRE 04

RESULTATS ET DISCUSSION

1. RENDEMENT EN EXTRAIT SEC.....28

2. TENEURES EN COMPOSES PHENOLIQUES28

3. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DE L'EXTRAIT ETHANOLIQUE ET DU MIEL
NATUREL31

 3.1. METHODE DE DIFFUSION EN DISQUE31

 3.2. DETERMINATION DE CMI PAR DILUTION EN MILIEU GELOSE.....32

 3.3. DETERMINATION DE LA CMI PAR MICRO DILUTION SUR MICROPLAQUE 34

CONCLUSION.....38

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES41

Liste Des Tableaux

Tableau 01: Quelques plantes médicinales utilisées en Algérie et leurs propriétés.....	5
Tableau 02: Activités biologiques des quelques composés phénoliques	9
Tableau 03: Noms et localisation du quelque composant d' <i>Inula viscosa</i>	14
Tableau 04: Paramètres géographiques des régions de récolte.....	18
Tableau 05: Caractéristiques de l'extrait polyphénolique obtenu par macération de la plante <i>Inula viscosa</i> (<i>original</i>).	27
Tableau 06: Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par l'extrait poly phénolique brut de <i>Inula viscosa</i>	30
Tableau07: Résultats des CMI par méthode de dilution en milieu solide Muller-Hinton pour l'extrait polyphénolique d' <i>Inula viscosa</i>	31
Tableau 08: Résultats des CMI par méthode de dilution en milieu solide Muller-Hinton pour le miel d' <i>Inula viscosa</i>	32
Tableau 09 : Résultats des CMI obtenues par la méthode de micro dilution sur micro plaque de l'extrait polyphénolique et du miel d' <i>Inula viscosa</i>	33

Liste Des Figures

Figure 01: Classification générale des polyphénols.....	7
Figure 02: différentes parties de la plante <i>Inula viscosa</i>	13
Figure 03: Préparation du matériel végétal.....	17
Figure 04: Carte géographique montre les deux régions de récolte.....	19
Figure 05: Méthode de diffusion en disques sur milieu solide.....	23
Figure 06: Méthode de dilution en milieu solide.....	24
Figure 07: Méthode de microdilution en milieu liquide.....	25
Figure 08: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	28
Figure 09 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine.....	28
Figure 10: Teneur en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique et du miel naturel d' <i>Inula visco</i>	29
Figure 11: Teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait éthanolique et du miel naturel d' <i>Inula viscos</i>	29

Liste Des Abréviations

BMH	: Bouillon de Mueller-Hinton
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
DMSO	: Diméthyle Sulfoxyde
DO	: Densité optique.
GN	: Gélose nutritif
MH	: Gélose de Mueller- Hinton.
Rdt	: Rendement.
T⁻	: Témoin négative
T⁺	: Témoin positive
UFC	: Unité formant des colonies.

Introduction

Introduction

Depuis longtemps, les plantes jouent un rôle important chez l'homme dans sa vie quotidienne, soit comme sources d'alimentation ou pour leur effet thérapeutique contre multiples maladies. C'est ainsi, qu'est née la discipline dénommée « la Phytothérapie », qui est le traitement des maladies par les plantes. Aujourd'hui, le recours aux plantes médicinales ou aux médicaments à base de plantes contenant des principes actifs naturels a pris des grandes proportions vues que beaucoup de molécules de synthèse ont montré leur limite. En effet, selon les statistiques, plus de 25% des médicaments utilisés dans les pays développés dériveraient directement ou indirectement des plantes, du fait que ces phytomédicaments seraient moins agressifs pour l'organisme et que leur consommation ne présenterait pas d'effets secondaires (**Ramli, 2013**).

Les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses et pour la protection des aliments contre l'oxydation. Et comme des anti-inflammatoires, Et des anti-analgésiques.

Parmi les différentes plantes médicinales en Algérie, *Inula viscosa L.*; une très importante plante connue par son pouvoir thérapeutique important, sa répartition dans tous les coins du pays et son utilisation traditionnelle fréquente par les algériens.

Cette espèce appelée communément « Inule visqueuse » largement utilisée en médecine traditionnelle, peu exigeante en facteurs écologiques, on peut la trouver un peu partout en Algérie, elle est très résistante aux conditions défavorables et se produit dans des environnements dégradés dont elle possède des caractéristiques qui lui permettent de devenir une adventice envahissante (**Parolin et al., 2016**).

C'est dans ce contexte que nous sommes intéressés à ce travail qui consiste à mettre en évidence l'éventuel effet antibactérien des polyphénols extraits de la plante médicinale *Inula viscosa L.* ainsi que de son miel naturel dans le but de chercher des alternatives pour le traitement des maladies infectieuses.

Partie

Bibliographique

Chapitre 01

Phytothérapie et plantes médicinales

1. Phytothérapie

Le terme phytothérapie provient du grec : « phyto » signifie plante et « thérapie » signifie traitement ; donc c'est le traitement par les plantes (**Baba Aissa ,2000**).

La phytothérapie est le traitement par des 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. Par ailleurs, la phytothérapie requiert une connaissance parfaite de substances chimiques contenues dans un organe végétal et une bonne connaissance de mode d'emploi. (**Bruneton ,1999**).

On peut distinguer différents types de thérapies par les plantes :

- **La phytothérapie** : l'utilisation des différentes parties des plantes (racine, feuilles, fleurs 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, 2011**).
- **Phytothérapiepharmaceutique** : 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 ... etc. (**Strang, 2006**).

2. Plantes médicinales

Les plantes médicinales sont les plantes qui contiennent une ou plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles. L'expression «drogues» brutes d'origine naturelle ou biologique, est utilisée par les pharmaciens ou les pharmacologues pour désigner les plants ou les parties de plantes qui ont propriétés médicinales. Les plantes médicinales utilisées dans divers domaine de la santé, et pour la recherche pharmaceutique, aussi comme matière primaire pour la synthèse des médicaments.(**Baba Aissa, 2000**).On peut utiliser une partie ou plusieurs parties de la plante selon le but d'utilisation (feuilles, tige, racines, fleurs ou la plante entière). Tableau 01 montre quelques plantes médicinales utilisées en Algérie.

Tableau 01 : Quelques plantes médicinales trouvées en Algérie et leurs propriétés (Bloued, 2003)

Plantes Médicinales	Photos	Nom commun	Partie utilisé	Propriétés thérapeutiques
Ortie (<i>Urticadioica</i>) (L)		Horaig	Fleurs, racines, plante entière	Anti- inflammatoire Antimicrobienne Anti-oxydante Antiallergique Antianémique Hypoglycémiante
Chardon – Marie (<i>Silybummarianum</i>) (L)		Chouk el djemel.	Les graines la racine et les parties aériennes	Antidépresseur, Antivirales ,Antifongique ,Anticancéreuse
Sauge Officinale (<i>Saliva Officinalis</i>) (L)		Meramiya	Les feuilles (fraiches /séchées)	Anti- inflammatoire, Antivirales, soulager les maux de ventre et les digestions difficiles
Capucine (<i>Tropoeolummajus</i>) (L)		Chabir bacha	Les feuilles les fleurs	Antidépresseur Antivirales Antifongique Anticancéreuse
L'inule visqueuse (<i>Inulaviscosa</i>)(L)		Maghraman	Les parties aériennes (feuilles et tiges)	Hypoglycémiants Analgsique Cicatrisation Vermifuge Hémostatique Antihémorragiques Antibactérienne

3. Métabolites secondaires

Les métabolites sont des molécules qui se forment suite à des réactions chimiques se produisant via le métabolisme de la plante dont on distingue deux classes : métabolites primaires et métabolites secondaires (**Hartmann, 2007**).

3.1. Métabolites primaires

Un type de métabolite connus par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme (**Diallo, 2000**).

- ✓ Les glucides : une source d'énergie et de structure surtout au niveau des parois cellulaire (cellulose).
- ✓ Les lipides : aussi une source d'énergie et de structure présente dans les membranes cellulaires.
- ✓ Les acides aminés : une source primaire de construction des protéines.

3.2. Métabolites secondaires

Également appelés métabolites particuliers, sont des éléments phytochimiques complexes, généralement synthétisées par des voies de biosynthèse faisant intervenir de nombreuses étapes catalysées par des enzymes spécifiques, ces éléments interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement (soutien, protection contre les UV, défense, mise en place de symbiose, attraction d'insectes utiles pour la pollinisation...) (**Royer, 2013**).

Les métabolites secondaires se caractérisent par une faible concentration dans les tissus végétaux, on les retrouve dans des compartiments particuliers a des moments précis de la vie des plantes, peuvent être utilisé pour leurs classification (familles genres, espèces) (**Labani, 2007**).

Ils sont classés en trois grands groupes : (**Hartmann, 2007**).

- **Les alcaloïdes** : souvent toxiques, correspondent à la présence d'azote dans un hétérocycle, on peut donner comme exemple la caféine, la cocaïne, la morphine, la nicotine, la quinine, la colchicine et l'atropine.
- **Les terpènes** : polymères de l'isoprène (monomère de base), on peut donner comme exemple : le caoutchouc, le taxol, des glycosides cardiotoniques et des huiles essentielles.
- **Les poly phénols** : on peut donner comme exemple les rutosides, les citro-flavonoïdes : les oligomères flavonoïdes, les anthocyanes les coumarines.

4. Polyphénols

4.1. Définition

Les composés phénoliques sont des molécules spécifiques de règne végétal qui appartient à leur métabolisme secondaire, on les trouve dans les plantes depuis les racines jusqu'aux fruits. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à six carbones, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside. Les polyphénols regroupent 8000 composés connus à ce jour. Certains auteurs classent les polyphénols en neuf familles en se basant sur le squelette carboné des molécules (C6-C1, C6-C3, C6-C4, C6-C1-C6, C6-C2-C6, C6-C3-C6) alors que d'autres utilisent seulement 4 familles (les acides hydrox benzoïques, les acides hydrox cinnamiques, les stilbènes et les flavonoïdes) (**Bouaziz et al., 2008**).

4.2. Classification

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux (**Clifford, 1999**).

La figure 01 représente les différentes classes des composés phénoliques.

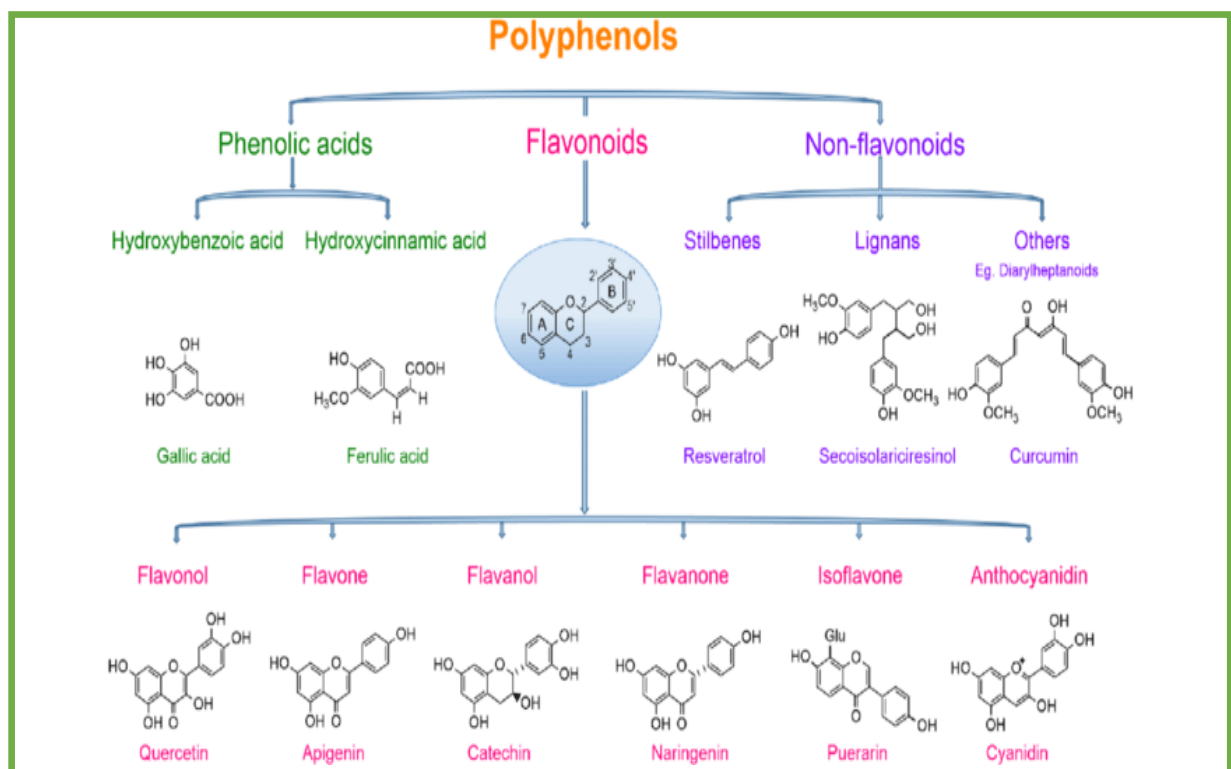


Figure 01 : Classification générale des polyphénols (**Gervaise, 2004**).

4.3. Rôle et intérêt des composés phénoliques

❖ Chez les végétaux

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV); soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux; dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par la transformation; dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini (Fleuriet *et al.*, 2005).

❖ Chez les humains

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes. Spécifiquement, on attribue aux flavonoïdes des propriétés variées : veinotonique, antitumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, antiallergique, antispasmodique, antibactérienne, hépatoprotectrice, estrogénique et/ ou anti-estrogénique. Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. Les flavonoïdes favorisent la relaxation vasculaire et empêchent l'agglutinement des plaquettes sanguines. Par conséquent, ils réduisent la coagulation du sang et le rendent plus fluide. Ils limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome. Ils sont aussi anxiolytiques et protègent nos artères contre l'athérosclérose et réduisent la thrombose (caillots dans les artères) (Fleuriet *et al.*, 2005). Les exemples de quelques composés phénoliques et de leurs activités biologiques sont récapitulés dans le tableau 02.

Tableau 02 : Activités biologiques de quelques composés phénoliques (**BRUNETON, 1999**).

Composés phénoliques		Activités biologiques
Acides phénols	-Acide caféique -Acide salicylique	-Antibactérienne -Antifongique -Antioxydant
Tanins	-Tanin gallique -Proanthocyanidine	-Effet stabilisant sur le collagène -Antioxydant -Anti diarrhéique -Antiseptique -Vasoconstricteur
Flavonoïdes	-Lutéoline -Catéchine -Hespéridine -Quercétine -Naringénine	-Anti tumorale -Anti carcinogène -Anti-inflammatoire -Antioxydant, antiallergique, antiulcéreuse -Antivirale, antimicrobienne, hypotenseur -Diurétique
Coumarines	-Dicoumarol	-Anticoagulant, antioxydant -Protectrice vasculaire -Antioedémateuse

4.4 . Activité anti bactérienne

Un agent antibactérien : est un agent qui inhibe la croissance bactérienne ou tue les bactéries.

L'activité antibactérienne s'exerce de 2 manières différentes :

- **Activité létale bactéricide** : qui provoque la mort de la bactérie.
- **Activité inhibitrice ou bactériostatique** : empêche la croissance du micro-organisme (BELOUD, 2003).

D'une manière générale, l'action se déroule en trois phases :

- ✓ Attaque de la paroi bactérienne qui provoque une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- ✓ Acidification de l'intérieur de la cellule, Arrêté la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- ✓ Destruction de matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (Burt, 2004)

Chapitre 02

Plante étudiée: Inula viscosa -L

1. Généralités

Inula viscosa ou *Dittrichia viscosa* Lest une plante vivace qui appartient à la famille des Astéracées qui évolue dans la majeure partie du bassin méditerranéen, (Al-Eisawi, 1998 ; Al-Dissi et al., 2001). Cette plante est utilisée depuis des années en médecine traditionnelle pour ses activités anti-inflammatoire, antipyrétique et antiseptiques elle est également utilisée pour le traitement du diabète et le traitement de certains troubles gastroduodénaux. (Barbetti et al., 1985 ; Amin et al., 2013).

Son nom viendrait du grec dont **Inéo** qui veut dire je purge (allusion à une propriété thérapeutique de la plante) et **Viscosa** qui signifie visqueuse. (Fournier et al., 1947)

- En Algérie (kabyle et l'est Algérien) cette plante est nommée Amagramane qui vient de magar : rencontrer, amane : eau, Inule visqueuse ; Aunée visqueuse en français et RockFlea-bane en Anglais (Halimi, 1997).

2. Description

2-1. Botanique

Inula viscosa est une plante arbuste ou arbrisseau, Annuelle, Glanduleuse peut atteindre jusqu'à 1 mètre de hauteur, Elle est collante et très odoriférante, toutes la plantes est couverte de pômes glanduleux qui libèrent une résine odoriférante et collante généralement persistante, ses tiges sont dressées simple ou ramifiées, ligneuses à la base (Bartels, 1997). Les feuilles sont très étalées, allongées et lancéolées, 3 à 7 cm de long et 6 à 12 mm de large, insérées directement sur la tige sans pétioles, verticillées par 3 et disposées sur 6 rangs, tous linéaires envalée à pointe fine et piquante, marquées de 2 sillons blanchâtres Séparées par la nervure médiane en dessous, à carène obtuse et non sillonnées en dessous (Ismail el Amine Henaoui, 2015), Elle présente des capitales à des fleurs jaunes au sommet de la tige les fleurs du centre sont tubulaires et celles du périphériques sont liguliformes (Benseguenitounsi, 2001). Les fruites sont secs, un peu ovoïdes (Chaou, 2017 ; Garbari, 2007).

La figure 02 représente les différentes parties de la plante *Inula viscosa*.



Figure 02 : différentes parties de la plante *Inula viscosa*. (Originale).

2.2. Géographique

Selon QUEZEL et SANTA (1963), *Inula viscosa* pousse abondamment dans le bassin méditerranéen (France, Espagne , Algérie, Maroc ...) en Asie (Chine , Japon , Korea) , On Algérie elle évoluée dans les terrains argileux (un peu humides), rocailles, garrigues , dans les bords de cours d'eau .

3. Classification

D'après (FOURNIER *et al.*, 1947) la position systématique de cette plante est comme suit :

Règne :	Plantae.
Embranchement :	Spermaphytes.
Sous-embranchement :	Angiospermes.
Classe :	Dicotylédones.
Sous classe :	Gamopetales.
Ordre :	Campunulales.
Famille :	Compositae.
Genre :	<i>Inula</i> .
Espèces :	<i>Inula viscosa</i> - L .-

4. Composition chimique

Cette plante médicinale contient des composés pharmacologiquement actifs notamment des lactones, des flavonoïdes (Pérez *et al.*, 1996) et des huiles essentielles (AşkinÇelik *et al.* , 2010). Le tableau 3 résume la composition chimique d'*Inulaviscosa*.

Tableau 03 : Noms et localisation du quelque composant d'*Inula viscosa*.

Composition	Exemple	Partie	Référence
Composé phénolique	- -Orcinolferulate glucoside -Malonate d'apigénine glucoside -7-méthyléther d'aromadendrin	Feuilles Fleure plante entière	(Trimech <i>et al.</i> , 2014)
Flavonoïdes	-Népétin, -Quercétine, -Hispiduline -Sakuranetin -7-O-Methylaromadendrin -3-Acetyl-7-O-methylaromadendrin	Planteentière p. aérienne	(Tebbaa <i>et al.</i> , 2011)
Sesquiterpènes	-Acide isocostique -Acide ilicique	P. aérienne	(Talib <i>et al.</i> ,2012)
Autres composés	- Alcools, -cétones -esters -acides gras - alcanes	-alcanes P	(Haouiet <i>al.</i> , 2015) (Santos <i>et al.</i> , 2016)

5. Aspects pharmacologiques

Inulaviscosa est très utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés thérapeutiques parmi les quels on peut citer :

- Elle agit comme un calmant de la toux (Bellakhdar, 1997).
- Améliore l'appétit (Ameur *et al.*, 2016).
- Utilisée pour réduire les douleurs gastriques et intestinales et traiter les troubles gastroduodénaux (Al-Dissi *et al.*, 2001 ; Chahmi *et al.*,2015).
- Grâce à sa forte activité antioxydants (Celiktas *et al.*, 2007).
- Abaisse la fièvre (Haoui *et al.*, 2015).
- Antiseptiques, antipyrétiques anti-inflammatoires, antidiabétiques (Khalil *et al.* , 2007 ;Bakkara *et al.*,2008).
- Utilisé comme un cataplasme pour les maux rhumatismaux (Al-Dissi *et al.*, 2001).

- Antivirale antifongique et contre les moisissures (**Benhammou et AtikBakkara, 2005**).
- Anti bactériennes (**Rajamanickam Rajkumar ,2012**).

Partie

Expérimentale

Chapitre 03

Matériel et Méthodes

Notre travail consiste à évaluer l'activité antibactérienne des deux produits : miel naturel et polyphénols provenant d'une même plante médicinale *Inulaviscosa*, en effet, notre étude expérimentale a été réalisée en 2 parties, au niveau de hall de technologie, Faculté des sciences, université 20 août 1955 Skikda ;

- ✓ Une 1^{ère} partie biochimique qui consiste en l'extraction des polyphénols à partir des feuilles sèches d'*Inula viscosa* et le dosage du polyphénol totaux et des flavonoïdes, elle a été réalisée au niveau du laboratoire de biochimie.
- ✓ Une seconde partie a été consacrée pour tester le pouvoir antibactérien de nos échantillons ; le miel naturel et les polyphénols sur cinq souches bactériennes de références. Elle a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Notre étude a porté sur les feuilles de la plante médicinale *Inulaviscosa* qui a été récolté en 25 avril 2023 dans la région de El hadaik, Université 20 août Skikda, Une fois récoltée, la plante a été nettoyées et mise à sécher à l'abri de la lumière et de l'humidité à température (T°) ambiante pendant 20 jours. Après séchage, les feuilles ont été séparées des tiges et réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique, la poudres obtenue a été conservées à l'abri de la lumière et de l'humidité dans des boites jusqu'à leur utilisation.



Figure 03 : Préparation du matériel végétal (original).

➤ Miel naturel

Selon les informations données par l'apiculteur l'échantillon miel est récolté dans la région de Tizaghban ,OuledAttia wilaya de Skikda en 2022, il s'agit d'un miel mono floral « *Inulaviscosa* ». Il a été conservé dans des pots hermétiques en verre à l'abri de l'humidité.

Les paramètres ainsi que la carte géographique des deux régions de récoltes sont représentés respectivement dans le Tableau 04 et la figure 04.

Tableau 04 : Paramètres géographiques des deux régions de récolte
(<https://fr.wikipedia.org/wiki/Climat-skikda.dz>).

Echantillon	Lieu de la récolte	Coordonnées géographiques
<i>Inula viscosa</i>	Université 20 Aout Skikda 1955	<u>Altitude</u> : 24m <u>Latitude</u> : 36.866667 Nord <u>Longitude</u> : 6.9 Est <u>Climats</u> :Climat méditerranéen avec été chaud
Miel naturel	Tizeghban, Ouled Attia, Skikda	<u>Altitude</u> : Nonem (0ft) <u>Latitude</u> : 36°59'42'' nord <u>Longitude</u> :6°20'33'' est <u>Climats</u> : Climat méditerranéen avec été chaud

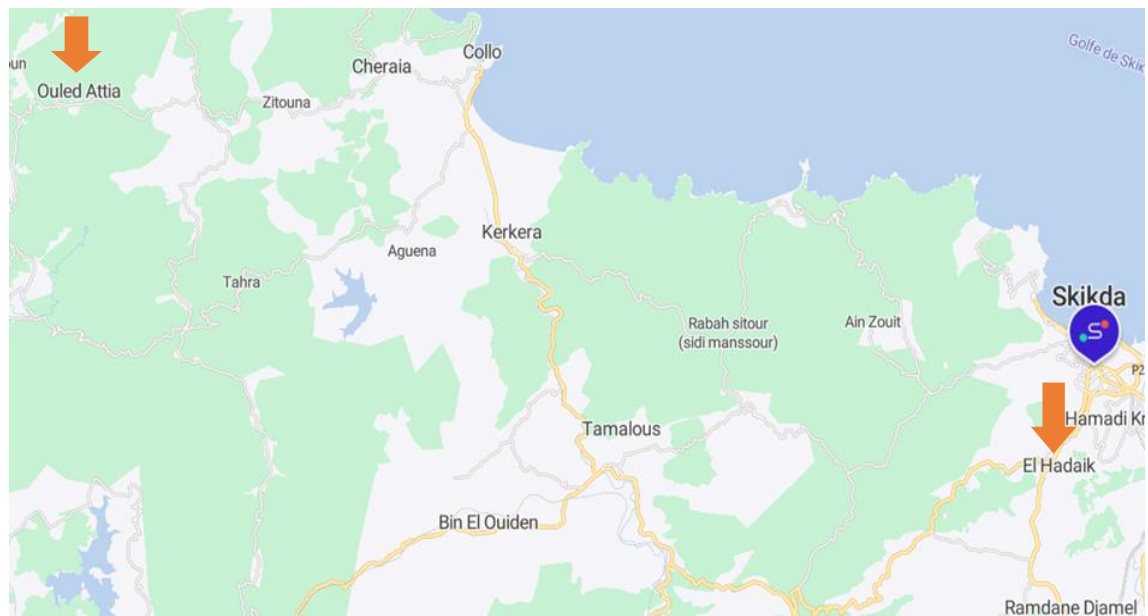


Figure 04 : Carte géographique montre les deux régions de récolte.

(<https://1map.com/fr/maps/algeria/skikda-56047>)

1.2. Souches bactériennes à tester

L'activité antibactérienne du miel naturel et des polyphénols de *Inula viscosa* a été testée sur cinq souches bactériennes : quatre à Gram négatif à savoir, *Escherchia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Klibsiella pneumoniae* ATCC13883 et *Salmonella typhimurium* ATCC14023, et une souche à Gram positif ; *Staphylococcus aureus* ATCC25923. Les souches ont été aimablement fournies par le laboratoire de microbiologie faculté des sciences université Badji Mokhtar Annaba où elles ont été conservées à 5C° dans des tubes stériles contenant 10ml de gélose nutritive incliné.

1.3. Matériel du laboratoire

L'ensemble des matériels et des produits utilisés dans notre travail seront cité au fur et à mesure de leur utilisation.

2. Méthodes

2.1. Extraction des composés phénoliques à partir de la plante *Inula viscosa*

L'extraction des polyphénols à partir des feuilles sèches de notre plante a été faite par sohxelet qui favorise l'extraction relativement complète des métabolites présents dans la matrice végétal, on a utilisé un solvant organique à polarité ; l'éthanol (99%) et la matière végétale (poudre) avec un rapport matériel végétal / solvant de (1/10 g/ml) (Vongsak *et al.*, 2013)

Procédure

- Placer la poudre (50g) dans le panier de l'extracteur Soxhlet.
- Ajouter 500mL d'éthanol dans le ballon rond de l'extracteur Soxhlet.
- Assembler l'extracteur Soxhlet et chauffer le solvant à une température d'ébullition (60°C).
- L'éthanol évaporé sera contenu dans l'extracteur Soxhlet et se condensera sur le condenseur refroidi à l'eau froide.
- L'éthanol condensé gouttera sur la plante dans le panier, extrayant les composés désirés.
- Laisser l'extraction se poursuivre pendant plusieurs heures, jusqu'à ce que le solvant dans le ballon rond devienne clair.
- Retirer le panier de l'extracteur Soxhlet et récupérer l'extrait
- Concentrer l'extrait en utilisant un évaporateur rotatif à 42°C pour éliminer le solvant. L'extrait brut récupéré a été conservé dans des boîtes de pétri jusqu'à son utilisation.

2.2. Calcul du rendement en extrait sec :

Pour déterminer le rendement de la plante en extrait sec en calculant le rapport suivant :

$$\text{Rdt (\%)} = (\text{P1} - \text{P2} / \text{P3}) \times 100$$

P1 : poids du ballon après évaporation.

P2 : poids du ballon vide avant évaporation.

P3 : poids de la matière végétale de départ en poudre (50 g).

2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Wong *et al.* (2006).

➤ Principe de la réaction

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols dans un milieu basique, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) (**Robbins, 2003**). La coloration bleue ainsi produite est proportionnelle aux taux de composés phénoliques et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

➤ Mode opératoire

Il consiste à mélanger 200 μl de l'échantillon (0.5 mg dilué dans 1ml Méthanol) avec 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois diluée dans l'eau distillé). Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes. Après l'incubation, 800 μl de la solution de carbonate de sodium

Na_2CO_3 (75g /l) a été ajoutée. Le développement d'une couleur bleue est obtenu après incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 2 heures. Après incubation, l'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.

Le blanc de la réaction ne contenant pas de l'échantillon est réalisé comme le point 0 en $\mu\text{g}/\text{ml}$.

La concentration des polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec de l'acide gallique et est exprimée en microgramme (μg) équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (μg d'EAG/mg d'extrait)

2.2.2 Dosage des flavonoïdes totaux

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) citée par (Djeridane *et al.*, 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes.

➤ Principe de la réaction

Cette technique est basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Lagnika, 2005).

➤ Mode opératoire

Brièvement, 1 ml de chaque échantillon (0.5 mg dissous dans 1ml de Méthanol) a été ajouté à 1ml de solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

Leblanc = control négatif : contient tout le mélange réactionnelle sauf échantillon.

Les résultats sont calculés à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec de la quercétine et exprimée en μg d'équivalent de la quercétine par mg de l'extrait.

2.3. Test d'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des polyphénols et du miel naturel issu de la plante médicinale *Iunla viscosa* in vitro a été testée par trois méthodes :

- La méthode de diffusion en milieu solide.
- La méthode de dilution en milieu solide.
- La méthode de microdilution sur microplaque.

2.3.1. Méthode de diffusion en milieu solide

Cette méthode permet de déterminer qualitativement l'activité inhibitrice de la croissance bactérienne par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour d'un disque de papier wattman imprégné de l'agent antibactérien à tester.

a. Préparation de l'inoculum

▪ Préparation de pré culture

Les souches bactériennes à tester sont cultivées dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive(GN) et incubées pendant 18h à 24h à une température de 37C°, afin d'obtenir une culture jeune et des colonies bien isolées.

▪ Préparation de la suspension bactérienne

À partir d'une culture jeune, prélever à l'aide d'un écouvillon 3à5 colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger l'écouvillon dans 5 ml d'eau physiologique stérile, agiter manuellement pour bien homogénéiser la suspension bactérienne. La standardisation de la suspension est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 625nm. La densité optique (DO), comprise entre 0.08 et 0.1 (CA-SFM.2013).

b. Ensemencement

- La gélose Mueller Hinton (MH) est coulée dans des boîtes de Pétri. Après refroidissement et solidification de la gélose (MH) sur la paillasse, la suspension bactérienne à tester sont étalés à la surface du milieu gélosé à l'aide d'un écouvillon.
- Des disques de papier Wattman stériles de 6mm de diamètre imprégnés (10µl) de l'extrait (0.5mg de l'extrait dissous dans 1ml DMSO) et du miel naturel (0,5 mg de miel dissous dans 1ml de l'eau physiologie stérile) sont déposés à l'aide d'une pince stérile sur la gélose.
- Des disques imprégnés de DMSO et de l'eau physiologie stérile sont également déposés sur la même boîte pour servir de témoins.
- Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à T° ambiante pendant 15min, puis incubées à 37C° pendant 24h (Ngameni *et al.*, 2009).

c. Lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle. La figure 07 représente la méthode de diffusion en disques sur milieu solide.

N.B : On a opté pour le DMSO pour son innocuité vis-à-vis de microorganisme, et pour l'absence d'interférence avec les extraits.

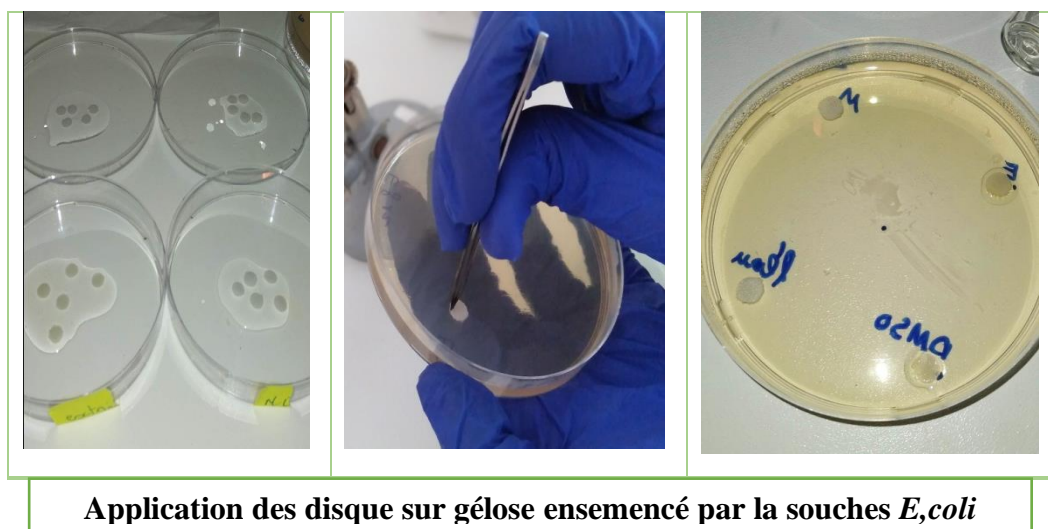
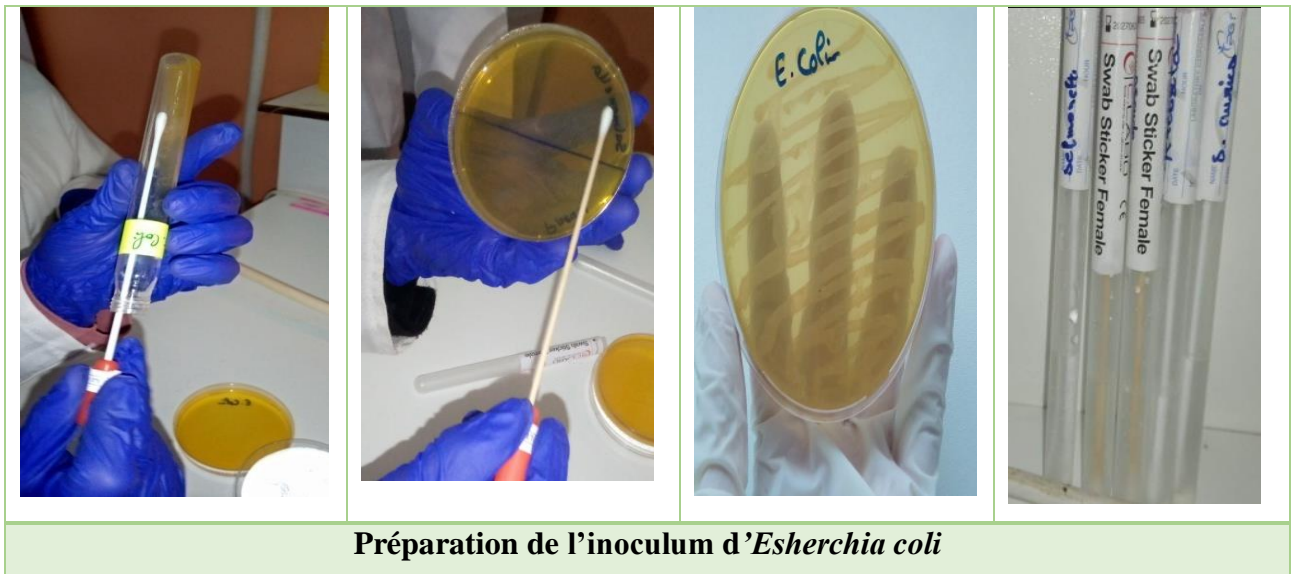


Figure05 : Méthode de diffusion en disques sur milieu solide(Original).

2.3.2. Méthode de dilution en milieu solide

Cette méthode permet de d'évaluer quantitativement l'effet inhibiteur de la croissance bactérienne d'un produit par la détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) qui correspond à la plus faible concentration qui inhibe la croissance visible des microorganismes après une incubation durant la 18 à 24h (Andrews ,2001).

a. Préparation de la gamme de concentration des échantillons

Des gammes de concentration des polyphénols et du miel ont été préparées à partir d'une solution mère (0,5mg/1ml de DMSO pour l'extrait et 0,5mg/1ml d'eau physiologie stérile pour le miel) suite à des dilutions successives à raison de 1 /10.

b. Préparation des boîtes et ensemencements :

- Dans un tube stérile a été mis 16 ml de milieu de MH en surfusion, incorporée 2 ml de chaque dilution, Homogénéiser et couler en boîte de Pétri.
- Après solidification du milieu, l'ensemencement a été réalisé par des spots à l'aide d'un écouvillon.
- Des boîtes témoins ont été réalisé contient de 16 ml de MH et 2ml de DMSO pour l'extrait et l'eau physiologie pour le miel.
- Incuber pendant 24 heures à 37C°.

c. Lecture

La concentration minimale inhibitrice correspond à la plus petite concentration d'échantillon qui inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne après incubation



Figure06 : Méthode de dilution en milieu solide (Original).

2.3.3. Méthode de microdilution en milieu liquide

La détermination de la CMI est réalisée par la technique de micro dilution en milieu liquide, à l'aide d'une microplaque stérile de 96 puits (8 × 12 puits). Une gamme de concentration allant de 1 mg/ml à 10⁻¹⁰.

- Déposer 5µl de l'extrait et 95 µl du Bouillon Mueller Hinton (BMH) stérile dans le puits 1.

- Ensuite déposer 50µl de (BMH) stérile dans le puits 2 à 10.
- Une série de dilution au facteur 1/2a été réalisée dans le BMH à partir de la solution mère du puits1, par le transfert de 50µl de puits en puits jusqu'au puits 10 (le 50µl du dernier puits à jeter). Il faut bien mélanger le contenu du puits.
- Enfin, déposer 50µl de l'inoculum préalablement dilué au 1/100 dans chaque puits.
- La 11^{ème} colonne qui contient 92µl de l'inoculum et 8µl DMSO sert de témoin positif.
- La 12^{ème} colonne de la plaque qui contient uniquement le milieu BMH (100µl) sert de témoin négatif.
- La micro plaque est incubée à 37 °c pendant 24h.La lecture est effectuée à l'œil nu et la CMI est la plus faible concentration de l'extrait à laquelle aucune trouble n'est observé.

(Eloff, 1998).

Chaque deux différent échantillon de bactéries ont été espacés par deux lignes de puits vides.

N.B : le miel naturel dissous dans l'eau physiologique stérile à la place de DMSO.

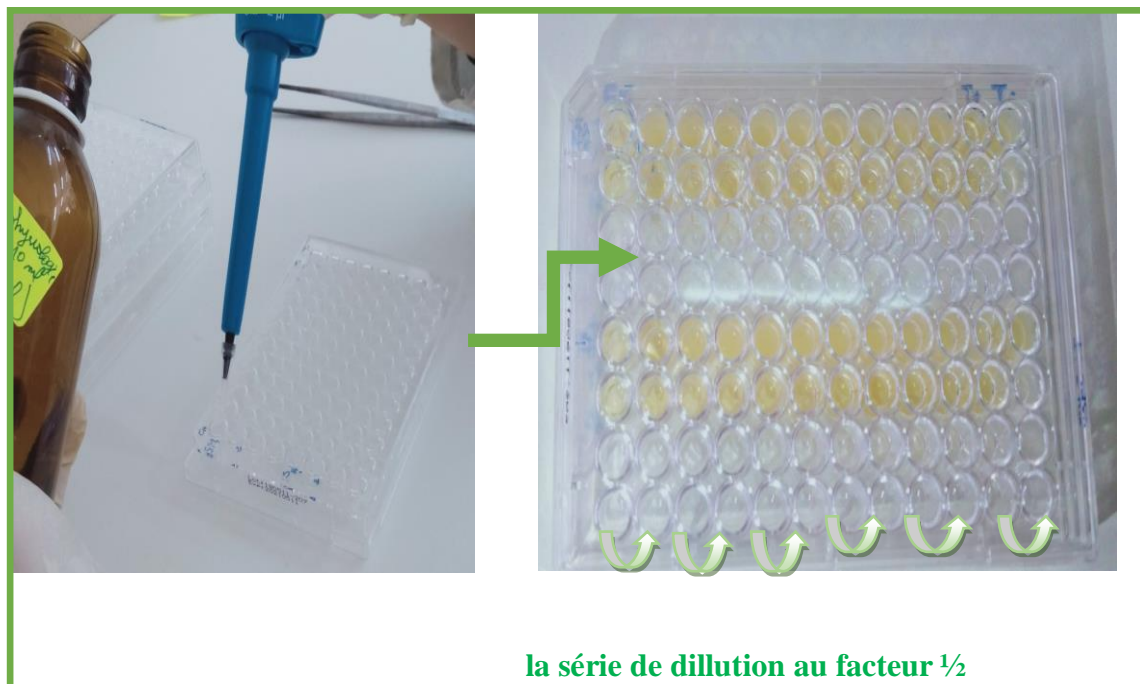


Figure7: Méthode de microdilution en milieu liquide(**Original**).

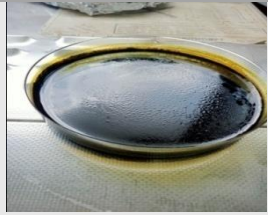
Chapitre 04

Résultats et discussion

1. Rendement en extrait sec

Le rendement de l'extrait polyphénolique brut obtenu par Soxhlet des feuilles de la plante médicinale *Inula viscosa* est représenté dans le tableau suivant :

Tableau 05: Caractéristiques de l'extrait polyphénolique obtenu par soxhlet de la plante *Inula viscosa*

Extrait	Couleur	Aspect	Rendement (%)
	Vert foncé	Gel visqueux	7,6 %

L'analyse des résultats obtenus indique que la plante utilisée est de faible rendement en composés phénoliques (7,6%), il est inférieur aux rendements (23.90, 20.08 et 13.35%) trouvés par les chercheurs Marocains Chahmi *et al.* (2015), ayant travaillé sur la même espèce, originaire de trois régions marocaines. Ce pendant, le rendement est relatif, il dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été faite. Autrement, cette différence peut être due à la nature de la matière végétale, ainsi qu'au mode de la récolte, le mode de stockage et le conditionnement (Lee *et al.*, 2003 ; Smith *et al.*, 2001).

2. Teneurs en composés phénoliques

L'étude quantitative de l'extrait brut éthanolique des feuilles d'*Inula viscosa* ainsi que de son miel au moyen des dosages spectrophotométrique permet de déterminer la teneur totale des polyphénols et des flavonoïdes.

✓ Polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux de nos échantillons a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. La teneur totale des polyphénols a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique et exprimée en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (μg GAE/mg).

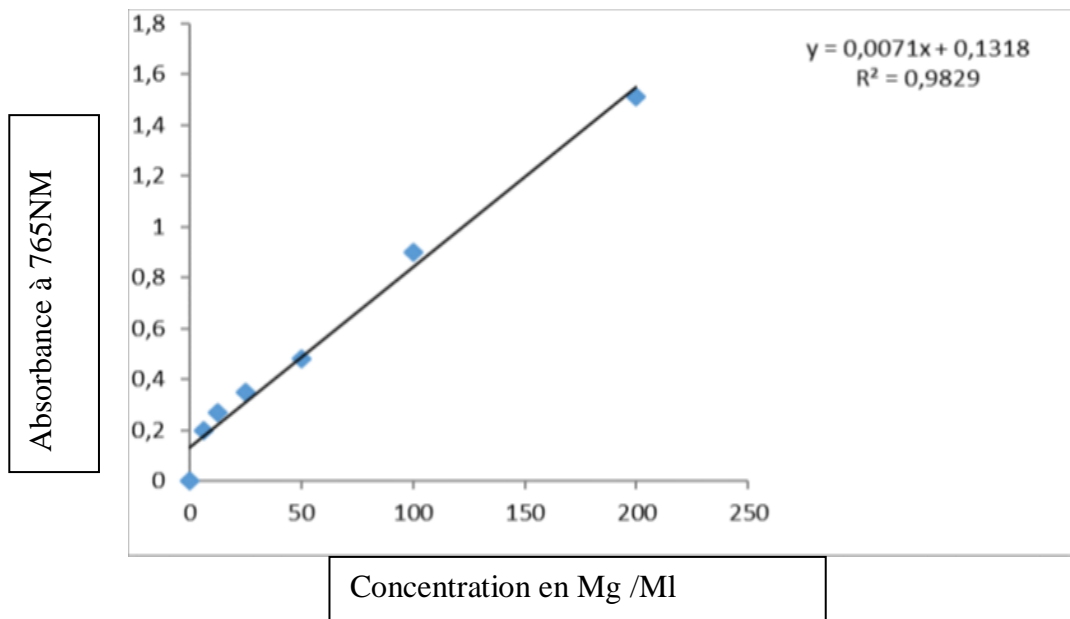


Figure08: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

✓ Flavonoïdes totaux

La quantité des flavonoïdes a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de Quercétine et exprimés en μg équivalent de quercétine par mg d'extrait ($\mu\text{g QE/mg}$).

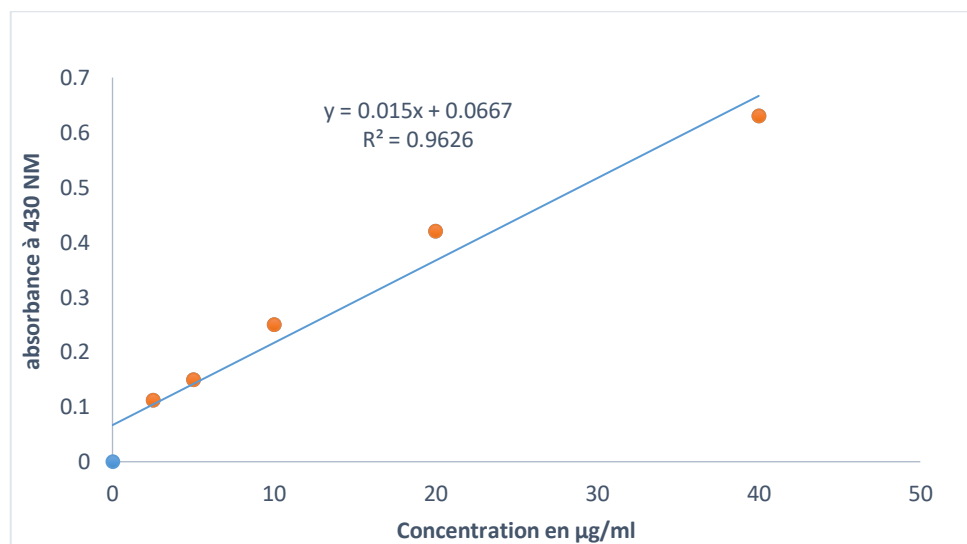


Figure 09: Courbe d'étalonnage de la Quercétine

Les résultats obtenus sont mentionnés dans les figures 10 et 11

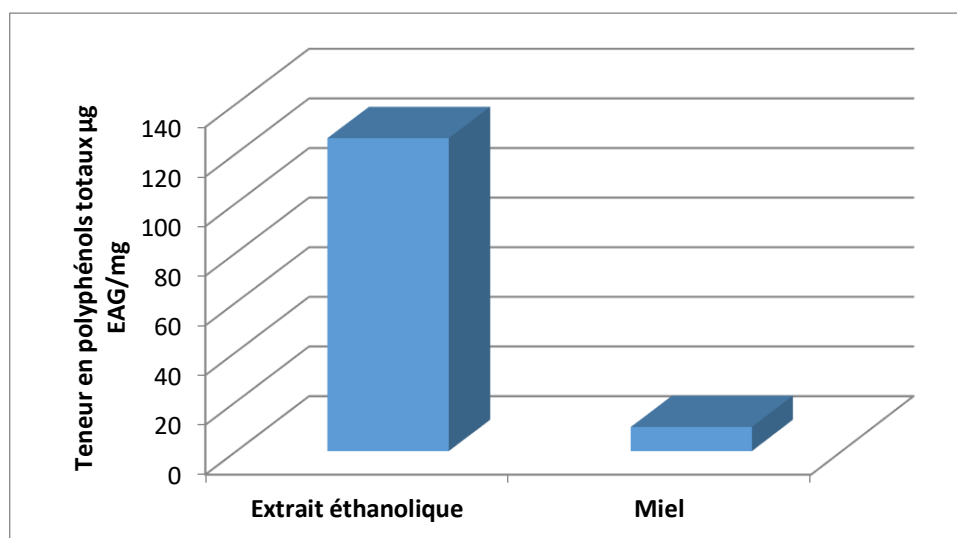


Figure 10 : Teneur en polyphénols totaux de l'extrait éthanologique et du miel naturel d'*Inula viscosa*.

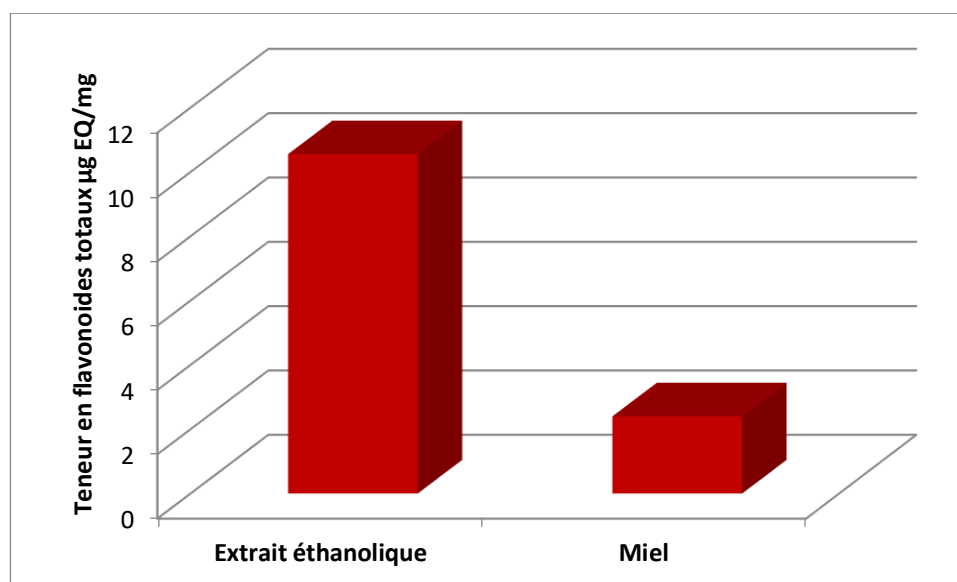


Figure11 : Teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait éthanologique et du miel naturel d'*Inula viscosa*.

D'après les résultats obtenus, on constate que la teneur en composé phénolique diffèrent d'un échantillon à un autre, cependant, l'extrait éthanologique a montré des teneurs plus ou moins élevée en polyphénols totaux et en flavonoïdes ($126,08 \pm 0,008 \mu\text{g EAG/mg}$ et $10,55 \pm 0,005 \mu\text{g EQ/mg}$ respectivement) par rapport à celles du miel qui sont de $9,69 \pm 0,01 \mu\text{g EAG/mg}$ et $2,4 \pm 0,03 \text{ EQ/mg}$ respectivement).

Nos résultats obtenus avec l'extrait éthanologique sont en accord avec ceux trouvés par **OULD MAMMAR et al en 2021**, qui ont travaillé sur la même plante provient de la région de Tizi-Ouzou dont l'extrait aqueux obtenu par macération qui a montré une teneur en polyphénols de $120,83 \text{ mg EAG/g}$.

Néanmoins, les teneurs en polyphénols enregistrées pour notre plante restent relativement inférieures aux résultats trouvés par **ABERKANE.K., et al. (2019)** sur l'extrait hydro-éthanolique obtenue par Soxhlet et macération de la plante *inula viscosa* provient de la région de Tiks-Ighiden (Chorfa Bouira), qui ont enregistré des teneurs en polyphénols de 184,874 mg EAG/g et 156,030 mg EAG/g respectivement), et aussi par rapport aux résultats trouvés par **Chahmi (2015)** dont il a enregistré une teneur de 274.39mg EAG/g en TTP et 39,902EQ/g en flavonoïdes sur le même extrait éthanolique de la même plante médicinales.

Les variations des teneurs en poly phénols et en flavonoïdes de cette plante rapportés dans la littérature, peuvent s'expliquer par différents paramètres, comme la partie étudiée, le stade physiologique, la saison, le stress, la composition des milieux la méthode d'extraction ...etc. (**DERRICHE et al., 2015**)

3. Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique et du miel naturel

L'activité antibactérienne des polyphénols extrait de la plante médicinale *Inula viscosa* ainsi que du miel a été évalué sur cinq souches bactériennes : *Escherichia coli* , *staphylococcus aureus* , *salmonella* , *klebsella* , *Pseudomonas*, par trois méthodes : la méthode de diffusion en disque et celle de dilution sur un milieu gélosé solide Mueller-Hinton et la micro dilution dans un boillon Mueller-Hinton .

3.1. Méthode de diffusion en disque

La sensibilité des souches bactérienne testées par cette méthode se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques. Rappelons que chaque disque contient 10µl de chaque échantillon. Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne sont représentés dans le tableau 06.

Tableau 06: Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par l'extrait polyphénolique brut et le miel naturel d'*Inula viscosa*

souches bactériennes	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	Extrait	Miel	DMSO (Témoin)	eau Physiologie (Témoin)
<i>E. coli</i> ATCC25922	22	14	–	–
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	–	–	–	–
<i>S. typhimurium</i> ATCC14023	7	7	–	–
<i>K. pneumoniae</i> ATCC13883	7	–	–	–
<i>S. aureus</i> ATCC25923	8	20	–	–

- : Absence d'une zone d'inhibition.

D'après les valeurs enregistrées, les trois espèces bactériennes *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* et *Escherichia coli* ont montrées une sensibilité aux deux échantillons testés dont la souche d'*Escherichia coli* est la plus sensible avec les plus larges zones d'inhibitions 22mm pour l'extrait polyphénolique et 14mm pour le miel.

L'espèce bactérienne *Salmonella* a montré une zone d'inhibition de 7mm de diamètre pour l'extrait alors qu'elle s'est avérée résistante pour le miel, cependant, l'extrait a présenté une meilleur activité inhibitrice de croissance vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* avec une zone de 20mm de diamètre alors que la meilleur activité inhibitrice du miel a été enregistrée vis-à-vis de l'espèce *Escherichia coli* avec une zone de 22mm.

Le DMSO n'a, cependant, produit aucun effet vis-à-vis de toutes les souches testées.

3.2. Détermination de CMI par dilution en milieu gélosé

Les résultats des concentrations minimales inhibitrices d'extrait et du miel d'*Inula viscosas* ont représentés dans les tableaux suivants :

Tableau 07 : Résultats des CMI par méthode de dilution en milieu solide Muller-Hinton pour l'extrait polyphénolique d'*Inula viscosa*.

Souche Extrait (mg/ml)	<i>E,coli</i> ATCC25922	<i>P,aeruginosa</i> ATCC27853	<i>S ,typhimurium</i> ATCC14023	<i>S, aureus</i> ATCC25923	<i>K,pneumoniae</i> ATCC13883
Solution mère	-	+	+	-	-
Dilution 1	-	+	+	-	+
dilution 2	-	+	+	+	+
Dilution 3	+	+	+	+	+
Dilution 4	+	+	+	+	+
Dilution 5	+	+	+	+	+
Témoin DMSO	+	+	+	+	+

 : CMI - : sensible + : Résistante

L'extrait polyphénolique brut d'*Inulaviscosa* a montré une activité inhibitrice de la croissance vis-à-vis de trois espèces bactérienne à savoir *S,aureus*, *Klibseilla* et *E,coli* avec des CMI comprise entre 1mg/ml et 0,01 mg/ml, dont la plus faible a été enregistrée contre *E,coli* .

Tableau 08:Résultats des CMI par méthode de dilution en milieu solide Muller-Hinton pour le miel d'*Inula viscosa*

Souche / Miel (mg/ml)	<i>E.coli</i> ATCC25922	<i>P.aeruginosa</i> ATCC27853	<i>S.typhimurium</i> ATCC14023	<i>S. aureus</i> ATCC25923	<i>K.pneumoniae</i> ATCC13883
Solution mère	-	+	-	-	+
Dilution 1	-	+	+	-	+
dilution 2	+	+	+	+	+
Dilution 3	+	+	+	+	+
Dilution 4	+	+	+	+	+
Dilution 5	+	+	+	+	+
Témoin Eau physiologie	+	+	+	+	+

 : CMI - : sensible + : Résistante

Concernant le miel, deux espèces parmi les cinq testées ont montré une résistance vis-à-vis de l'action inhibitrice de la croissance bactérienne, en effet, les CMI enregistrées pour les trois espèces sensibles ; *S.aureus*, *Salmonella* et *E.colis* ont comprise entre la solution mère et la première dilution.

Pseudomonas aeruginosa est l'espèce bactérienne la plus résistante pour l'extrait éthanolique ainsi que pour le miel.

3.3. Détermination de la CMI par micro dilution sur microplaque

L'étude de cette activité antibactérienne a été effectuée également par la technique de microdilution en milieu liquide sur microplaque stérile (96 puits). Après incubation des microplaques 24 heures, on observe un aspect clair dans certains puits, qui indiquant l'absence d'une croissance bactérienne, Soit un dépôt qui indique la présence d'une croissance

bactérienne. Le tableau ci-dessous représente l'ensemble des concentrations minimales inhibitrices obtenues.

Tableau 09 : Résultats des CMI obtenues par la méthode de micro dilution sur micro plaque de l'extrait polyphénolique et du miel d'*Inula viscosa*.

Souche	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11 T+	12- T-	Extrait / miel
<i>E. coli</i> ATCC25922	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	Extrait
	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	Miel
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Miel
<i>S. aureus</i> ATCC25923	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait
	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Miel
<i>S. typhimurium</i> ATCC14023	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait
	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Miel
<i>K. pneumoniae</i> ATCC13883	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Miel

 - CMI + : Présente de dépôt - : Absence de dépôt

T+ : Témoin positive

T- : Témoin négative

Donc nos résultats révèlent que l'extrait et le miel testés ont une activité antibactérienne modérée vis-à-vis de la quasi-totalité des souches bactériennes étudiées. Cette activité inhibitrice varie d'un échantillon à un autre et d'une espèce à une autre, cependant, la différence de sensibilité au polyphénolique et au miel de notre plante peut s'expliquer par la différence de leur composition dont de nombreux auteurs, ont constaté que le changement dans la composition chimique affecte directement les propriétés biologiques des extraits (Celiktaş *et al.*, 2007 ; Van Vuuren *et al.*, 2007), en effet, l'activité antimicrobienne de notre extrait éthanolique est probablement dû à sa diversité structurales ; les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux

d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité (Cowan, 1999). Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes (Scalbert, 1991). l'effet antimicrobien de ces phénols peut être expliqué également par l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur les membranes cellulaires, l'interaction avec les enzymes et les effecteurs ou la privation en substrats et ions métalliques (Dhaouadi et al., 2010).

Le pouvoir antibactérien des extraits des plantes est tributaire de leur compositions chimiques et de leurs propriétés physico-chimiques, l'étude phytochimique de la matière végétale d' *Inula viscosa* effectuée par Ulubelen, Goun en 1986 et benayache en 1991 a mis en évidence la présence d'une série importante de flavonoïdes contenant deux ou trois groupements hydroxyles sur le cycle A et B et qui sont plus actifs contre les bactéries Gram + (Orhan et al., 2007)

En effet, Les résultats obtenus confirment les hypothèses données par SMITH-PALMER et al, 2001, et MAOZ et NEEMAN, 1998 que l'extrait de la plante *Inula viscosa* possède un bon pouvoir antibactérien sur les bactéries à Gram positive.

Concernant le mode d'action du miel comme agent antibactérien n'est pas bien élucidé. Cependant, il est actuellement reconnu que l'activité inhibitrice du miel est liée à ses propriétés physico-chimiques, ainsi qu'à la présence de plusieurs autres composants antimicrobiens appelés inhibines. Le miel possède une activité d'eau comprise entre 0,56 et 0,62, donc une hyperosmolarité liée à sa forte concentration en sucres. La forte interaction entre les molécules de sucre et d'eau laisse donc peu d'eau libre disponible pour le développement microbien. Ceci provoque une forte déshydratation des germes mettant en jeu leur survie. (Merah M et al., 2010).

En outre la différence de sensibilité entre les espèces peut être expliquée par le fait que les bactéries à Gram- sont censées être plus résistantes que les Gram+, ceci est dû aux différences structurales de leurs membranes externes. La paroi des Gram- présente une structure plus fine mais plus complexe que celle des Gram+, la paroi des bactéries à Gram négatif présente trois structures polymériques externes ou liées au peptidoglycane : des lipoprotéines, une membrane externe et des lipopolysaccharides qui sont attachés à la membrane externe. Ces éléments rendent la paroi cellulaire imperméable au passage des solutés liposolubles. Quant aux porines situées au niveau de la membrane externe, elles permettent le passage uniquement de petites molécules hydrophiles (600 Dalton) (Arias et al., 2004). Les bactéries à Gram négatif présentent également un espace périplasmique où s'effectue la fragmentation des molécules introduites (à travers les porines) par les enzymes bactériennes (Shan et al., 2007). Les bactéries à Gram positif sont plus sensibles aux agents antibactériens car elles possèdent uniquement le peptidoglycane qui ne constitue pas une véritable barrière sélective à ces composés (Arias et al., 2004; Meyer et al., 1999; Tian et al.,

2009). Il est probable que la résistance des souches testé a extrait est également due au métabolisme de certains composés à effet antibactérien. En effet, il a été prouvé que certaines souches ont la propriété de dégrader certains composés phénoliques (**Redríguez Vaquero et al., 2007**)

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Un grand nombre des plantes médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, en pharmacie, agriculture ...

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait poly phénolique et du miel d'*Inula viscosa* ; l'une des plantes médicinales les plus utilisées en médecine traditionnelle Algérienne.

L'extraction des composés phénoliques de la plante a été effectuée par Soxhlet qui a donné un rendement relativement faible en extrait brut, ce dernier dispose d'une teneur notable en polyphénols totaux et en flavonoïdes dosés par des méthodes spectrophotométriques avec des taux respectivement de 126,08 µg EAG/mg et 10,55 µg EQ/mg. Par ailleurs, le miel a montré des quantités relativement faibles en polyphénols et en flavonoïdes qui sont de 9,69 µg EAG/mg et 2,4 EQ/mg respectivement.

La détermination de l'activité antibactérienne de l'extrait des feuilles et du miel de cette plante médicinale a été réalisée sur cinq souches (*Staphylococcus aureus* ; *Escherichia coli* ; *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *salmonella*) par trois méthodes : méthode de diffusion en disque , méthode de dilution en milieu solide et méthode de micro dilution en milieu liquide .

Les résultats obtenus montrent que cette plante ainsi que son miel possède une activité inhibitrice de la croissance modérée avec des CMI relativement faibles comprise entre 0,5 et 0,005 mg/ml dont *Staphylococcus aureus* est l'espèce bactérienne la plus sensible et *Pseudomonas aeruginosa* l'espèce résistante vis-à-vis des deux produits testés .

La différence de sensibilité des souches testées au poly phénolique et au miel de notre plante peut s'expliquer, d'une part, par la différence de leur composition dont de nombreux auteurs, ont constaté que le changement dans la composition chimique affecte directement les propriétés biologiques des extraits, d'autre part, par le fait que les bactéries à Gram- sont censées être plus résistantes que les Gram+, ceci est dû aux différences structurales de leurs parois externes. La paroi des Gram- présente une structure plus fine mais plus complexe que celle des Gram+.

Le résultat obtenu par notre étude sur l'activité antimicrobienne de nos échantillons s'avère très intéressant car d'après (SMITH-PALMER *et al.*, 2001) *Staphylococcus aureus* est une bactérie à gram positif responsable des infections des plaies, de la peau et du sang et très résistante aux antibiotiques. Donc l'application de notre extrait et du miel d'*Inula viscosa* L contre cette bactérie sera positive.

Conclusion

Ce travail mérite d'être complété, à l'avenir, on proposant les perspectives suivantes

- ❖ Utiliser d'autres solvants organiques pour optimiser le rendement d'extraction, le Fractionnement et la purification des composés phénoliques.
- ❖ Identifier les composés phénoliques par des techniques spectrométriques et chromatographiques : RMN, Spectrométrie de masse, HPLC, ...
- ❖ Augmenter le nombre des espèces microbiennes à tester et de travailler sur des souches microbiennes cliniques pathogènes.
- ❖ Le passage aux tests in vivo.
- ❖ Evaluer d'autres activités biologiques d'*Inula viscosa*.

Références

Bibliographique

- ❖ **Anonyme (1) :** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’afrique;AbayomiSofowora,(2010).
- ❖ **Anonyme (2) :**(<https://fr.wikipedia.org/wiki/Climat-skikda.dz>).
- ❖ **Anonyme (3) :**(<https://1map.com/fr/maps/algeria/skikda-56047>).
- ❖ **Al Dissi, N. ;Salhab ,K.et Al-Hajj, H.(2001).** Effect of *Inula viscosa* extracts on abortion and implantation in rats. Journal of Ethnopharmacology, 77 (1).p (117-121).
- ❖ **Al-Eisawi, D. (1998).** Field guide to wild flowers in Jordan and neighbouring countries. Jordan Foundation Press, Amman, Jordan, 296 p.
- ❖ **Ameur, N. ; Ammara, N. et Hammache, Y.(2016).** Etude des propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles d’Artemisia herba alba et de Rosmarinus officinalis. Mémoire de Master en Analyse et Contrôle de la Qualité des Denrées Alimentaires. Université de Bordj Bou Arreridj., (7-9).
- ❖ **Amin, S.;Kaloo, Z.; Singh, S. and Altaf, T. (2013).** Medicinal importance of Genus Inula-a review. International Journal of Current Research and Review, 05 (02) :20- 26.
- ❖ **Andrews,J.(2001).**Determination of minimum inhibitory concentrations. Journal of Antimicrobial Chemotherapy,48(1),5-6.
- ❖ **Araniti,F.;Lupini, A.;Sunseri, F.;Abenavoli,M.(2017)** Allelopathic potential of *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter mediated by VOCs: A physiological and metabolomic approach. PloS one, 12(1): p. e0170161.
- ❖ **Arias, M.; Gomez ,J.; Cudmani N.; Vattuone ,M. and Isla ,M. (2004).** Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Acacia aroma* Gill. Ex Hook ET Arn. Life Sciences,75,pp : 191–202.
- ❖ **AşkinÇelik, T. and Ö.S. Aslantürk. (2010)** Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of *Inula viscosa* leaf extracts with Allium test. Journal of BioMed Research.

- ❖ **Baba Aissa, F. (2000).** Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed Librairie Moderne Rouiba, 46.
- ❖ **Bakkara, F.; Benhammou, N. et Panovska, T. (2008).** Biological in activities of the essential oil and ethanolic extract of *Inulaviscosa* from the tlemcen region of Algeria advances in food sciences, 29 (3), (3-139).
- ❖ **Barbetti, P.; Chiappini, I.; Fardella, G. and Menghini, A. (1985).** A new eudesmane acid from *Dittrichia (Inula) viscosa*. *Planta Medica*, 51(5): 471.
- ❖ **Bartels, A. (1997).** Guide des plantes du bassin méditerranéen. Ed Eugenulmer, Paris, 172p.
- ❖ **Bellakhdar, J. (1997).** La Pharmacopée marocaine traditionnelle : Médecine arabe ancienne et savoirs populaires, Saint -Etienne, Ed. Ibis Press., p (196-197).
- ❖ **Beloud, A. (2001).** Plantes médicinales d'Algérie. Offices des publications universitaires, p. 144-145.
- ❖ **BENAYACHE, S.; BENAYACHE, F.; DENDOUGHI, H. et JAY, M. (1991).** Les flavonoïdes d'*Inulaviscosa* L. *Plantes médicinales et phytothérapie*, 4 :170-176
- ❖ **Benhammou, N. ; Atik Bekkara, F. (2005).** Contribution à l'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'*Inulaviscosa*. Mémoire de Master en Chimie. Université de Tlemcen., p (19
- ❖ **Benseguenitounsi, L. (2001),** Etude in vitro de l'effet antibactérienne et antifongique de : *Inulaviscosa* – *Lawsoniainermis* – *Asphodelus microcarpus* – *Aloevera* – *Juniperus oxycerdu*. mémoire de master en médecine vétérinaire université de Constantine, P(11)
- ❖ **Bouaziz, H.; Fki.; Jemaih.; Ayadi M. and Sayadi S. (2008).** Effect Of Storage On Refined And Husk Olive Oils Composition : Stabilization By Addition Of Natural antioxidant from chemlali Olive Leaves. *Food Chemistry*. 108 :253-262.
- ❖ **Bruneton, J. (1999)-** Pharmacognosie, Photochimie -Plantes médicinales. 3^{ème} éd, Tec et Doc. Lavoisier, Paris. pp 484-540, 555-558.
- ❖ **Burt, S. (2004)** Huiles essentielles : leurs propriétés antibactériennes et leurs applications potentielles dans les aliments - un bilan. *Journal international de microbiologie alimentaire*, 94 (3), 223-253.
- ❖ **CA-SFM. (2013).** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Sur le lien : <http://www.sfm.asso.fr/>.
- ❖ **Celiktas, O.Y.; Kocabas, E.H.. Bedir, E.; Sukan, F.V.; Ozek, T.; Baser, K.H.C. (2007).** Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*. 100: 553–559.
- ❖ **Chahmi, N.; Anissi, J.; Jennan, S.; Farah, A; Sendide, K.; et El Hassouni, M. (2015).** Antioxidant activities and total phenol content of *Inulaviscosa* L extracts selected from three regions of Morocco. *Asian Pac J Trop Biomed* ; 5(3) : 228-233

- ❖ **Chaou, S.(2017)** .caractérisiquephytochimique de la partie aérienne de la plante médicinale *Inulaviscosa L.*(Asteraceae) de la région de djinet (boumerdès) .mémoire de master en biochimie appliquée . université de boumerdès , P(3-6) .
- ❖ **COWAN ,N. (1999).**Plant products as anti-microbial agents. *Clinical microbiology Reviews*.Vol. 12(4): 564-582.
- ❖ **Clifford ,M. (1999).** Appendix 1.A Nomenclature For Phenols With Special Reference To Teawashington, DC, CRC Press, Boca Raton Florida.41 (5): 393-397.
- ❖ **DERRICHE, R. ;MESSAOUDI ,S. ; LAHOUZI ,N. ; AMROUCHE ,S. (2015).** Teneur en Polyphénols et Activité Antioxydante des Huiles Essentielles, Hydrolats et Extraits des Feuilles de l'*Inulaviscosa (L.)* Aiton d'Algérie. 4 : 35-38.
- ❖ **Dhaouadi, K.; Raboudi ,F.; Estevan ,C.; Barrajon ,E.; Vilanova, E.; Hamdaoui ,M. et Fattouch S. (2010).**Cell Viability Effects and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. Volume 59: 402 – 406.
- ❖ **Diallo, D.(2000).**Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them :*Glinusoppositifolius (Aizoaceae)*, *Diospyros*Thèse de doctorat, Lausanne 148-17.
- ❖ **Djeridane, A.; Yous, M.;Nadjemi, B.; Boutassouna, D.; Stocker, P.etVidal, N. (2006)** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds *Food Chem*. 97: 654-660.
- ❖ **Eloff, J.(1998)** . Une méthode sensible et rapide sur microplaque pour déterminer la concentration minimale inhibitrice d'extrait de plantes pour les bactéries. *Planta médica*, 64 ,711-713.
- ❖ **Fleuriet ,A. ; Jay-Allemand, C. ; Macheix , J.(2005).** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes* pp 121-216.
- ❖ **Fournier, P.(1947).**Livre des plantes médicinales et vénéuses de France, édition., LECHEVALIER :176-178.
- ❖ **Garbari, F. et pagni ,A.(2007)** .Glandular hairs of the ovary , a helpful character for *Asteroidae (Asteraceae)* taxonomy *Ann, Bot, Fennici* 44,P (1-7) .
- ❖ **Gervaise,Y.(2004).**polyphénols-Euroforum,paris,10p.
- ❖ **Halimi ,A.(1997).**Les plantes médicinales en Algérie. P .158-159.
- ❖ **Haoui ,I.;Derriche, R.; MadaniL.andOukai ,Z.(2015).**Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa L. Aiton*. *Arabian Journal of chemistry*, 21 (4), p (587-590).

- ❖ **Hartmann, T. (2007).** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of secondary metabolism, Review. *Phytochemistry* 68 2831–2846.
- ❖ **Ismail et amine hennaoui.(2015).** le guide de la flore de Tlemcen.
- ❖ **Khalil E.A. ;AfifiF.U.and Al-Hussaini M,(2007).** Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in pluronic F127 using mice *Musmusculus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 129.p (104-112).
- ❖ **LABBANI,Z.(2007).**Réorientation androgénétique des microspores de *Triticumturgidumsubsp.durum* (Desf) Husn. L'albinisme peut-il être partiellement maîtrisé. Thèse. Mentouri Constantine. 130p.
- ❖ **Lagnika, L. (2005).** Étude Phytochimique et Activité Antipaludique de Substances Naturelles issues de Plantes Béninoises. Thèse de Doctorat Université Louis Pasteur de Strasbourg/Université d'Abomey-calavi, Bénin.
- ❖ **Lee, K.; Kim, Y.; Lee, H.et Lee ,C. (2003).** Cocoa Has More PHENOLIC phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.*, 51 : 7292-7295.
- ❖ **MAOZ ,M. ;NEEMAN ,I. (1998).**Antimicrobial effects of aqueous plant extracts on the fungi *Microsporumcanis* and *Trichophytonrubrum* and on three bacterial species. *Letters in AppliedMicrobiology*, 26:61-63
- ❖ **Merah, M.; BensaciBachagha ,M.and Boudershem, A. (2010).** Étude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel récoltés du territoire algérien. *Ann. Sci. Technol.* 2: 115-125.
- ❖ **Meyer, A.;Deiana ,J. et Leelere, H. (1999).** Agents chimiothérapeutiques .In « Cours de microbiologie générale » , Ed.: Doin Paris, ISBN 2-70-40-0745-4, pp: 220-236.
- ❖ **Ngameni, B.;Kuate, V.;Simo, IK.; Mbaveng, AT.; Awoussong, PK.; Patnam, R.; Roy, R.andNgadjui, BT. (2009).** Antibacterial and antifungal activities of the crude extract and compounds from *Dorsteniaturbinata* (Moraceae). *S. Afr. J. Bot.* 75: 256–261.
- ❖ **Orhan, I.; Özcelik, B. etŞener, B. (2007).** Antiviral and antimicrobial evaluation of some heterocyclic compounds from Turkish plants. *Top HeterocyclChem*, 11: 303-323.
- ❖ **Parolin,P.;M,Ion-Scotta and C,Bresch.(2016).**Biology of *Dittrichiaviscosa*, a Mediterranean ruderal plant: a review. *Phyton, International Journal of Experimental Botany*, 83(2): p. 251-262.
- ❖ **Pérez Alonso, M. et al.(1996),** Composition of the volatile oil from the aerial parts of *Inulaviscosa* (L.) Aiton. *Flavour and Fragrance Journal*, 11(6): p. 349-351.
- ❖ **Rajamanickam Rajkumar .(2012) .**Topics on cervical cancer with an Advocacy for prevention

- ❖ **Ramli ,B. (2013).** Extraction des flavonoïdes de la plante Inulaviscosade la région d’Oran et mise en évidence de l’activité microbienne. Mémoire de Master en Chimie.Université d’Oran.
- ❖ **Rodríguez Vaquero, M.; Alberto ,M. and de Narda M. (2007).** Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. Food Control, 18, pp: 93-101.
- ❖ **Robbins,S,P.andJudje,T.(2003).**EssentialsofOrganizationalBehavior(VOL.7).PrenticeHall, UpperSaddle River.
- ❖ **Royer,M.2013**–Étude des relations entre croissance, concentrations en métabolites primaires et secondaires et disponibilité en ressources chez la tomate avec ou sans bio agresseurs, Université de Lorraine Laboratoire Agronomie & Environnement Nancy Colmar, 11-30p.
- ❖ **Santos, S.;Reis, M.; Picanço ,A .;Bager ,A.; Aguiar, L. (2016)** Changes in volatile compound of *Dittrichiaviscosa* caused by the attack of the gall-forming dipteran *Myopitesstylatus*. Industrial Crops and Products,87: p. 71-77.
- ❖ **Scalbert, A. (1991).**Antimicrobialproperties of tannins. Phytochemistry, 30: 3875-3883.
- ❖ **Shan B.; Cai Y.; Brooks J. and Corke, H. (2007).** The in vitro antibacterial activity of dietary and medicinal herb extracts. International Journal of Food Microbiology, 117, pp: 112-119.
- ❖ **Smith-Palmer ,A.;Stewart, J.; Feyel, L.(2001).**The potential application of plants essential oils as natural food perservative in soft cheese .Food Microbiology .18 :463-470
- ❖ **SQUALLI, H. ; Mary, C.et Schmidt, S. (2007).** Evaluation de l’effet antimycobactérien de plantes du Centre-Nord du Maroc. Bull. Soc. Pharm, 146 : 271-288.
- ❖ **Strang, C.(2006)** Larousse médical. Ed Larousse.
- ❖ **Talib, W.; Zarga,M. and Mahasneh,M .(2012)**Antiproliferative, antimicrobial and apoptosis nducing effects of compounds isolated from *Inulaviscosa*. Molecules. 17(3): p. 3291-3303.
- ❖ **Tebbaa, M.; Elhakmaoui, A.;Benharref, A.et Akssira, M.(2011)** Short and efficient hemisynthesis of α -eudesmol and cryptomeridiol. Tetrahedron letters,52(29): p. 3769-3771.
- ❖ **Tian ,F.; Ji, B.; Yang, J.; Zhang ,G.; Chen ,Y. and Luo, Y. (2009).** Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *GallaChinensis*: The polarity affects the bioactivities. Food Chemistry, 113, pp: 173-179.
- ❖ **Trimech, I.(2014),** Evaluation of Anti-oxidant and Acetylcholinesterase Activity and Identification of Polyphenolics of the Invasive Weed *Dittrichiaviscosa*. Phytochemical analysis, 25(5): p. 421-428.
- ❖ **ULUBELEN,A .et GOUN,S. (1986)**Sesquiterpene acids from *Inulaviscosa*. Phytochemistry.vo 26 n° 4 pp 1223-1224.
- ❖ **Vernex-Lozet, C. (2011)** Les possibilités de la phytothérapie en Geriatrie canine. Thèse de doctorat Université de Lyon.

- ❖ **Vongsak,B.;BongsakB.,Sithisarn,P.;Mangmool.;Thongpraditchote,S. ;Wongkrajan.(2013)**Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of Moringaoleifera leaf extract by the appropriate extraction method. Industrial Crops and Products,44: p. 566-571.

Résumé :

Depuis fort longtemps, les plantes médicinales furent le principal recours pour la fabrication de remèdes naturels. Elles ont été utilisées par différentes civilisations en médecine traditionnelle.

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'activité antibactérienne des poly phénols et du miel naturel de la plante médicinale *Inula viscosa* appelée communément « magraman » ; une plante vivace qui appartient à la famille des Astéracées qui évolue dans la majeure partie du bassin méditerranéen et très connue par ses propriétés thérapeutiques.

L'extraction des composées phénoliques de la plante a été effectuée par soxhlet qui a donné un rendement relativement faible en extrait brut, ce dernier dispose d'une teneur notable en polyphénols totaux et en flavonoïdes dosés par des méthodes spectrophotométrique avec un taux de $126,08 \pm 0,008 \mu\text{g EAG/mg}$ et $10,55 \pm 0,005 \mu\text{g EQ/mg}$ respectivement. Par ailleurs, des quantités faibles en polyphénols totaux et en flavonoïdes ont été enregistrées pour le miel ($9,69 \pm 0,01 \mu\text{g EAG/mg}$ et $2,4 \pm 0,03 \mu\text{g EQ/mg}$).

L'activité antibactérienne de l'extrait et du miel a été testée sur cinq souches bactérienne de références à savoir : *Escherchia coli ATCC25922* , *Pseudomonas aeruginosa ATCC27853* , *Klibsiella pneumoniae ATCC13883* , *Salmonella typhimurium ATCC14023* , *Staphylococcus aureus ATCC25923* par trois méthodes : méthode de diffusion en disque , méthode de dilution en milieu solide et méthode de micro dilution en milieu liquide .

Les résultats obtenus montrent que l'extrait et le miel d'*Inulaviscosa* ont montré une activité antibactérienne modérée vis-à-vis de la plupart des souches testées avec des zones d'inhibition varient entre 7-22 mm, cependant, la souche *Staphylococcus aureus* est la plus sensible et la souche *Pseudomonas aeuroginosa* est la plus résistante, Par ailleurs l'étude a révélé des valeurs de CMI relativement faible variées entre 0,5 et 0,005 mg/ml

Mots clés : Activité antibactérienne, *Inula viscosa*, plante médicinale, phytothérapie et polyphénols