

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



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :
N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Par : M^{elle} **GAGI Souad**

M^{elle} **TOUBAL Soraya**

Thème

**Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de
l'activité antibactérienne d'une plante médicinale
endémique Talghouda : *Bunium incrassatum***

Soutenu publiquement le : 25/06/2018

Devant le jury :

M^r. BOURAS N.

Professeur

Univ. Ghardaïa

Président

M^r. BAKELLI A.

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa

Encadreur

M^{me}. HAMID OUDJANA A.

Maître Assistant B

Univ. Ghardaïa

Examinatrice

Année universitaire 2017/2018



Dédicace

*Je m'incline devant Dieu tout puissant qui m'a
ouvert la porte du savoir et m'a aidé la franchir*

Je dédie ce modeste travail:

*A mes chers parents, pour leur encouragement et
leurs soutiens et leurs sacrifices sans limites tous au
long de mes études*

A mes sœurs Zineb Kalthoum Hadjer Maria

A toute la famille GAGI et LATRECHE

*A ma famille de la city universitaire Fella Fella
Hafidha Ibtissam Naziha Rania Safia Sarah
Soraya*

A tous ceux qui me sont chers

Souad

Dédicace

Je dédie ce modeste travail:

*Aux deux êtres les plus chers au monde : **Mes parents** .*

***A mon père** pour sa patience avec moi et son encouragement .*

*A ma source de bonheurs la prunelle de mes yeux **Ma mère**.*

*A mes chères sœurs : **Rania, Hana, Hayat, Aya**.*

*A toutes les familles : **TOUBAL et MOULOUD***

*A ma chère binome : **Souad** .*

*A tous mes chères amies : **Saida, Ibtissam, Fella, Safia, Hafidha,***

Naziha, Sarah.

Soraya

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour avoir donné la force, le courage et la patience pour réaliser ce travail.

Nous tenons à adresser notre très sincères remerciements à notre directeur de mémoire Mr. BAKELLI Aïssa qui nous a guidé dans notre travail. Merci pour avoir accordé votre temps, Merci d'avoir été patient avec nous, Merci pour d'avoir mis votre expérience à notre profit.

Nous exprimons nos profondes reconnaissances à Monsieur BOURAS N., qui nous fait l'honneur de présider ce jury.

Nous tenons à présenter notre sincère et vif remerciement à les membres de jury M^{me} HAMID OUDJANA A., qui nous accepté de juger notre travail.

Nous remercions chaleureusement tous les enseignants du département de la biologie et spécialement Mr. MAHAMEDI A.E., M^{me} HADDED S., M^{lle} TELLI A., pour leurs soutiens et leurs aides.

*Un grand merci est adressé aux techniciens de laboratoire :
BENHAMMOUDA H., MOULAY OMAR A.*

Nous remercions toutes les personnes qui nous ont soutenues de près ou de loin au cours de la réalisation de ce travail, particulièrement nos collègues de promotion de Master Biochimie appliquée 2018.

مساهمة في الدراسة الفيتوكيميائية و تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للنبتة الطبية المتوطنة: تلغودة

ملخص

من بين النباتات الطبية التي يستفاد من قدرتها العلاجية وتحتاج الى ابحاث جادة للتعرف على صفاتها الكيميائية والبيولوجية نبتة التلغودة أو *Bunium incrassatum* وهو نوع من عائلة الخيميات (Apiaceae) النامي في الشمال الجزائري. و بهدف البرهنة على عدم ضرر هذه النبتة و لتبيان استعمالاتها الفعالة. تم اجراء دراسة متعددة عليها تضمنت الكشف عن بعض الخصائص الفيتو كيميائية و تقييم النشاط المضاد للبكتيريا و كذا استكشاف مدى استعمالها من قبل السكان المحليين لولاية غرداية.

لمعرفة مدى استخدام سكان غرداية للنباتات الطبية بصفة عامة و لنبتة التلغودة بصفة خاصة قمنا بإجراء استبيان شمل أزيد من 292 شخصا من مختلف الفئات ، الأعمار و المناطق. أظهرت العينة المستبينة أن الغالبية العظمى يستعملون على الأقل عشبتين طبيتين في علاج بعض الأمراض. كما أظهرت أن ما نسبته 71,3 % من العينة المستبينة يستخدمون التلغودة عادة لعلاج التهاب اللوزتين. و أغلبهم راضون عن النتائج المتحصل عليها. كشف الفحص الكيميائي النباتي وجود مختلف مجموعات من الأيضات الثانوية مثل الكومارين، الستيرويد، التربينويد، التانان والمركبات المرجعة. أما عن المستخلص الخام للنبات و الذي تم تحضيره بطريقتي النقع (الماء، الميثانول، الإيثانول) و التقطير المائي للزيوت الأساسية، فقدر المردود 22,25%، 20,93%، 8,18% و 0,45% على التوالي. تم تحديد الفعالية البيولوجية ضد البكتيريا بواسطة تقنية انتشار القرص لأربع سلالات بكتيرية مصنفة *Pseudomonas aeruginosa* ، *E. Coli* ، *Staphylococcus aureus* ، *Micrococcus luteus* وسلالة غير مصنفة *Streptococcus sp.* حيث أظهرت النتائج أن مختلف المستخلصات لها نشاط متفاوت ضد هذه البكتيريا، و سجل المستخلص الميثانولي أكبر فعالية ضد *Pseudomonas aeruginosa* بأكبر قطر تثبيط قدره 30,33 مم مقارنة مع الأموكسيسيلين والبنسلين والجنتاميسين.

النتائج المتحصل عليها تساهم في اثبات فعالية نبتة التلغودة في الحد من انتشار بعض البكتيريا الضارة ، كما يوضح الفحص الكيميائي احتواءها على مواد قد تكون جد فعالة في مداواة بعض الأمراض. و هذا ما يفسر انتشار استخدامها الواسع بين السكان المحليين خاصة في معالجة مرض اللوزتين.

الكلمات المفتاحية : النباتات الطبية، التلغودة، *Bunium incrassatum* ، الفحص الكيميائي، الأيضات الثانوية، الفعالية البيولوجية ضد البكتيريا.

Contribution to the phytochemical study and evaluation of the antibacterial activity of an endemic medicinal plant Talghouda: *Bunium incrassatum*

Abstract

Among the medicinal plants recorded with the local populations and benefiting from good therapeutic reputation and which will have to be put to the test of chemical and biological investigations and identification, the Talghouda plant or *Bunium incrassatum* which is an endemic Apiaceae of the north of Algeria. In order to provide evidence of its safety and to make its use more efficient, a study of some phytochemical characteristics was carried, and antibacterial activities were also determined. Also the extent of their use by the local population of Ghardaïa.

To determine the extent of the use of medicinal plants in general and our target plant (Talghouda) in particular by the local population, we launched an ethnobotanical survey reached a sample of over 292 people of different sex, age and region. The survey showed that almost the entire local population uses medicinal plants in the treatment of at least two diseases. And about 81,3% of people generally use Talghouda to cure tonsillitis. Phytochemical screening revealed the presence of different secondary metabolites such as: tannins, terpenoid, coumarins, steroids and reducing compounds. This richness in phytochemicals is confirmed by the yields of aqueous, hydro-methanolic, hydro-ethanolic extracts and essential oils where they gave a yield of 22,25% ; 20,93% ; 8,18% and 0,45% respectively. Antibacterial activity is demonstrated by the agar diffusion method. Four referenced bacterial strains were tested: *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *E. Coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and no referenced bacterial strains *Streptococcus* sp. The results obtained show that all bacteria tested were sensitive to the different extracts with maximum inhibition observed on *Pseudomonas aeruginosa* (30,33mm inhibition zone) by hydro-methanolic extract compared with amoxicillin, penicillin and gentamicin.

The results obtained help to prove Talghouda's efficacy in inhibiting the growth of certain pathogenic bacteria. Thus, phytochemical identification has revealed a wealth of substances that can be very effective in the treatment of certain diseases. This explains the extensive use of Talghouda by the local population in the treatment of tonsillitis.

Keywords: Medicinal plants, Talghouda, *Bunium incrassatum*, antimicrobial activities, ethnobotanical survey, phytochemical screening, secondary metabolites.

Contribution à l'étude phytochimiques et évaluation de l'activité antibactérienne d'une plante médicinale endémique Talghouda : *Bunium incrassatum*

Résumé

Parmi les plantes médicinales recensées auprès des populations locale et bénéficiant de bonnes renommées thérapeutiques et qui de ce fait devront être mises à l'épreuve d'investigations et d'identification chimiques et biologiques, la plante Talghouda ou *Bunium incrassatum* qu'est une Apiaceae endémique du nord de l'Algérie. Afin d'apporter les preuves de son innocuité et de rendre son utilisation plus efficiente, une étude de quelques caractères phytochimique a été réalisée, les activités antibactériennes ont été également déterminées. Ainsi que l'étendue de leur utilisation par la population locale de Ghardaïa.

Pour déterminer l'étendue de l'utilisation des plantes médicinales en générale et notre plante cible (Talghouda) en particulier par la population locale, nous avons lancé une enquête ethnobotanique touché un échantillon de plus de 292 personnes de différents sexe, âge et région. L'enquête a montré que la quasi-totalité de la population locale utilise les plantes médicinale dans le traitement d'au moins deux maladies. Et environ de 81,3% des personnes utilisent Talghouda généralement pour traiter les angines, et la quasi-totalité sont satisfaits des résultats obtenus. Le criblage phytochimique a mis en évidence la présence des différents métabolites secondaires tel que : les tanins, les terpénoïdes, les coumarines, les stéroïdes et les composés réducteurs. Cette richesse en substances phytochimiques est confirmée par les rendements des extraits aqueux, hydro-méthanolique, hydro-éthanolique et des huiles essentielles où ils ont donné un rendement de 22,25% ; 20,93% ; 8,18% et 0,45% respectivement. L'activité antibactérienne est mise en évidence par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Quatre souches bactériennes référencées ont été testé: *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *E. Coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et une souche non référencée *Streptococcus* sp. Les résultats obtenus montrent que toutes les bactéries testées ont été sensibles vis-à-vis les différents extraits avec un maximum d'inhibition observé sur la *Pseudomonas aeruginosa* (zone d'inhibition de 30,33mm) par l'extrait hydro-méthanolique par rapport aux l'amoxicilline, la pénicilline et la gentamicine.

Les résultats obtenus contribuent à prouver l'efficacité de Talghouda dans l'inhibition de la croissance de certaines bactéries pathogènes. Ainsi, l'identification phytochimique a révélé une richesse des substances pouvant être très efficaces dans le traitement de certaines maladies. Ceci explique l'étendu important de l'utilisation de Talghouda par la population locale dans le traitement des angines.

Les mots clés : Les plantes médicinales, Talghouda, *Bunium incrassatum*, activité antibactérienne, enquête ethnobotanique, criblage phytochimique, Métabolites secondaires.

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique
ANDI : Agence Nationale de Développement de l'Investissement
ANIRE : Agence Nationale d'Intermédiation et de Régulation Foncière
ATCC : American Type Culture Collection
B. incrassatum : *Bunium incrassatum*
CuSO₄ : Sulfate de cuivre
DMSO : (diméthylsulfoxyde)
E. coli : *Escherichia coli*
FeCl₃ : Chlorure de fer
H₂SO₄ : Acide sulfurique
HCl : Acide chlorhydrique
HgCl : Chlorure de mercure
HIV : virus de l'immunodéficience humaine
HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance
I : Iode
KI : iodure de potassium
M. luteus : *Micrococcus luteus*
NaOH : Hydroxyde de sodium
NH₄OH : Ammoniaque
OMS : Organisation mondiale de la santé
P. Aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*
RMN : Résonance magnétique nucléaire
S. aureus : *Staphylococcus aureus*
SbCl₃ : Trichlorure d'antimoine
sp. : species singular (espèce)
spp. : species plural (les espèces)
SPSS : Statistical Package for the Social Sciences
TSA : Trypticase Soja Agar
UNESCO: United Nations Educational Scientific and Cultural Organization
UV : Ultraviolet
WHO : World Health Organization

Liste des tableaux

| Tableau N° | Titre | Page |
|-------------------|--|-------------|
| 1 | Quelques genres de la famille des Apiacées en Algérie | 5 |
| 2 | Usages médicinales de certaines espèces du genre <i>Bunium</i> L | 6 |
| 3 | Les souches bactériennes testées | 21 |
| 4 | Pourcentage des maladies traitées par les plantes médicinales | 25 |
| 5 | Résultats de criblage phytochimique de l'extrait aqueux, hydro-méthanolique et hydro-éthanolique de la partie racinaire de <i>Bunium incrassatum</i> | 33 |
| 6 | Photos de criblage phytochimique de l'extrait aqueux, hydro-méthanolique et hydro-éthanolique de la partie racinaire de <i>Bunium incrassatum</i> | 34 |
| 7 | Résultats de l'activité antimicrobienne des antibiotiques, exprimés par diamètre de la zone d'inhibition en mm | 39 |
| 8 | Diamètres en mm des zones d'inhibitions de l'extrait hydro-méthanolique | 40 |
| 9 | Diamètres en mm des zones d'inhibitions de l'extrait hydro-éthanolique | 41 |
| 10 | Diamètres en mm des zones d'inhibitions par les huiles essentielles | 44 |

Liste des figures

| Figure N° | Titre | Page |
|-----------|---|-----------|
| 1 | Répartition géographique mondiale des Apiacées | 4 |
| 2 | Inflorescence des Apiacées | 5 |
| 3 | Distribution de <i>Bunium incrassatum</i> (Talghouda) dans le nord-africain | 7 |
| 4 | Description morphologique de <i>Bunium incrassatum</i> | 8 |
| 5 | Modes d'action des antibiotiques | 12 |
| 6 | Localisation de la Wilaya de Ghardaïa, en Algérie | 14 |
| 7 | Protocole d'extraction de la partie racinaire de <i>Bunium incrassatum</i> | 16 |
| 8 | Utilisation des plantes médicinales selon l'âge | 24 |
| 9 | Utilisation des plantes médicinales selon le sexe | 25 |
| 10 | Les types des maladies traitées par les plantes médicinales | 26 |
| 11 | Utilisation de Talghouda | 26 |
| 12 | Les types des maladies traitées par Talghouda | 27 |
| 13 | Les différentes modes d'utilisation de Talghouda | 27 |
| 14 | Les différentes durées d'utilisation de Talghouda | 28 |
| 15 | Différentes doses utilisés de Talghouda par (Cuillère de café/jour) | 28 |
| 16 | La satisfaction des personnes enquêtées | 29 |
| 17 | Les effets indésirables d'utilisation de Talghouda | 29 |
| 18 | Le rendement des différents extraits de <i>Bunium incrassatum</i> | 38 |
| 19 | Activité antibactérienne de l'extrait hydro-méthanolique avec chaque souche | 40 |
| 20 | Activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique avec chaque souche | 42 |
| 21 | Activité antibactérienne des huiles essentielles avec chaque souche | 44 |

Liste des photos

| Photos N° | Titre | Page |
|------------------|--|-------------|
| 1 | La partie racinaire de <i>Bunium incrassatum</i> et sa préparation | 13 |
| 2 | Montage de l'Hydrodistillation | 17 |
| 3 | L'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique sur les bactéries (1: <i>M. luteus</i> , 2: <i>E. coli</i> , 3 : <i>S. aureus</i> , 4 : <i>P. Aeruginosa</i> , 5: <i>Streptococcus</i> sp.) | 41 |
| 4 | L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique sur les bactéries (A : <i>E. coli</i> , B : <i>S. aureus</i> , C : <i>P. Aeruginosa</i> , D : <i>Streptococcus</i> sp., E : <i>M. luteus</i>) | 42 |
| 5 | L'activité antibactérienne des huiles essentielles sur les bactéries (A : <i>E. coli</i> , B : <i>S. aureus</i> , C : <i>P. Aeruginosa</i> , D : <i>Streptococcus</i> sp., E : <i>M. luteus</i>) | 45 |

Table des matières

| | |
|-----------------------------|----------|
| Remerciement | |
| ملخص | |
| Abstract | |
| Résumé | |
| Liste des abréviations..... | i |
| Liste des tableaux..... | ii |
| Liste des figures..... | iii |
| Liste des photos..... | iv |
| Table des matières..... | v |
| Introduction | 1 |

I. Synthèse bibliographique

| | |
|---|----|
| 1. Les plantes médicinales | 3 |
| 1.1. Les plantes médicinales en Algérie..... | 3 |
| 1.1.1. La phytothérapie dans le Sahara septentrional Est Algérienne | 3 |
| 1.2. Généralités sur la famille des Apiacées..... | 4 |
| 1.2.1. Répartition géographique..... | 4 |
| 1.2.2. Caractères botaniques généraux..... | 5 |
| 1.2.3. Usage de la famille des Apiacées..... | 5 |
| 1.2.4. Le genre <i>Bunium</i> L..... | 6 |
| 1.2.4.1. <i>Bunium incrassatum</i> | 7 |
| 1.2.4.1.1. Position systématique..... | 7 |
| 1.2.4.1.2. Répartition géographique..... | 7 |
| 1.2.4.1.3. Description morphologique..... | 8 |
| 1.2.4.1.4. Utilisation | 8 |
| 1.2.4.1.4.1. Usage alimentaire..... | 8 |
| 1.2.4.1.4.2. Usage médicinale | 8 |
| 2. Activité antimicrobienne..... | 9 |
| 2.1. Les infections nosocomiales..... | 9 |
| 2.2. Origines des infections nosocomiales | 9 |
| 2.3. Les agents pathogènes | 9 |
| 2.3.1. <i>Micrococcus luteus</i> | 10 |

| | |
|--|----|
| 2.3.2. <i>Staphylococcus aureus</i> | 10 |
| 2.3.3. <i>Escherichia coli</i> | 10 |
| 2.3.4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 11 |
| 2.3.5. Les streptocoques | 11 |
| 2.4. Les antibiotiques | 11 |
| 2.4.1. Définition des antibiotiques | 11 |
| 2.4.2. Mode d'action des antibiotiques..... | 12 |
| 2.4.3. Résistance aux antibiotiques (antibiorésistance)..... | 12 |

II. Matériel et Méthodes

| | |
|---|----|
| 1. Matériel et produits de laboratoire | 13 |
| 2. Matériel végétal | 13 |
| 3. Enquête ethnobotanique | 13 |
| 3.1. Présentation de la région d'études..... | 14 |
| 3.1.1. Description de la population étudiée | 14 |
| 3.2. Recueil des données | 14 |
| 3.3. Saisie et analyse des données | 15 |
| 4. Etude Phytochimique | 15 |
| 4.1. Extraction des métabolites secondaires | 15 |
| 4.1.1. Principe de macération..... | 15 |
| 4.1.2. Mode opératoire de l'extraction | 15 |
| 4.1.3. Rendement des extraits | 17 |
| 4.1.4. Principe d'extraction des huiles essentielles..... | 17 |
| 4.1.5. Mode opératoire de l'extraction des huiles essentielles..... | 17 |
| 4.1.6. Rendement en huiles essentielles | 18 |
| 4.2. Métabolites secondaires | 18 |
| 4.2.1. Screening phytochimique..... | 18 |
| 4.2.2. Protocole expérimentale de criblage phytochimique..... | 18 |
| 5. Etude de l'activité antimicrobienne | 21 |
| 5.1. Activité antibactérienne..... | 21 |
| 5.1.1. Les souches bactériennes | 21 |
| 5.1.2. Test d'antibiogramme..... | 21 |

III. Résultats et Discussion

| | |
|--|----|
| 1. Résultats et discussion de l'enquête ethnobotanique..... | 24 |
| 1.1. Résultats de l'enquête ethnobotanique | 24 |
| 1.1.1. Profil de la personne enquêtée..... | 24 |
| 1.1.1.1. Classe d'âge..... | 24 |
| 1.1.1.2. Sexe..... | 24 |
| 1.1.2. Utilisation des plantes médicinales..... | 25 |
| 1.1.2.1. Les maladies traitées par les plantes médicinales | 25 |
| 1.1.2.2. Utilisation de Talghouda..... | 26 |
| 1.1.2.2.1. Type de maladie traitée | 27 |
| 1.1.2.2.2. Mode d'utilisation | 27 |
| 1.1.2.2.3. Durée d'utilisation | 28 |
| 1.1.2.2.4. Posologie..... | 28 |
| 1.1.2.2.5. Satisfaction..... | 29 |
| 1.1.2.2.6. Les effets indésirables..... | 29 |
| 1.2. Discussion de l'enquête ethnobotanique | 30 |
| 2. Résultats et discussion de l'étude phytochimique | 33 |
| 2.1. Criblage phytochimique..... | 33 |
| 2.2. Rendement d'extraction..... | 37 |
| 3. Résultats et discussion de l'activité antimicrobienne | 39 |
| 3.1. Résultats de l'antibiogramme standard | 39 |
| 3.2. Résultats de l'activité antibactérienne..... | 39 |
| a. Pour l'extrait hydro-méthanolique | 40 |
| b. Pour l'extrait hydro-éthanolique | 41 |
| c. Pour les huiles essentielles | 43 |
| <hr/> Conclusion | 47 |
| <hr/> Références bibliographiques | 49 |

Annexes

INTRODUCTION
GENERALE

Introduction

La phytothérapie est l'une des plus vieilles médecines du monde. Elle représente une alternative intéressante pour traiter et soigner avec moindre coût et pratiquement sans créer des effets secondaires. Malgré le développement phénoménal de l'industrie pharmaceutique et chimique, l'intérêt populaire pour la phytothérapie n'a jamais cessé d'évoluer. De nos jours ces deux types de médication se retrouvent intimement liés puisque le modèle moléculaire de la plupart des médicaments mis sur le marché, ont pour origine la plante (Adouane, 2016).

A cet effet, l'évaluation et la valorisation des propriétés phytothérapeutiques des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle, telle que les activités antioxydantes, anti-inflammatoire, antimicrobiennes et autres demeurent d'une importance et utilité majeure. D'une part afin de comprendre le bien-fondé de l'usage traditionnel de ces plantes, et d'autre part, afin d'orienter les travaux ultérieurs vers l'identification des molécules et principes bioactifs qu'elles contiennent. (Aref et Heded, 2015).

L'Algérie est reconnue par sa diversité en plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existent à l'état spontané, ainsi que par l'utilisation populaire dans l'ensemble du terroir national. Cependant, la flore algérienne avec ses 3000 espèces recensées appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% sont endémiques et reste très peu explorée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique (Bouzid *et al.*, 2016).

Parmi ces plantes Algérienne endémiques, *Bunium incrassatum* connu sous le nom « Talghouda » fait partie de la famille des Apiaceae qui comporte 56 genres et 130 espèces dans la flore algérienne (Bouderdara, 2013). Cette plante est l'une des plantes utilisées par la population nord-africaine dans le traitement de certaines maladies, notamment le traitement des angines. Ou elle est préconisé comme un traitement efficace et soulage les douleurs de gorge et les inflammations de pharyngite dans un délai court.

Malgré que les angines sont virales dans 60 à 95 % des cas, et bactériennes dans les autres cas, et dans la plupart du temps, les angines sont bénignes. Seules les angines bactériennes à streptocoque peuvent entraîner des complications générales notamment du rhumatisme articulaire aigu. Ce qui présente un danger accru pour le patient et nécessite un traitement par les antibiotiques.

Aujourd'hui, l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques est de plus en plus moins actif et une résistance accrue des bactéries est notée à cause de la mauvaise utilisation de ces médicaments. Dans cette optique, les traitements à base des plantes reviennent une alternative importante. Pour cet objectif, nous avons jugé intéressant de déterminer le pouvoir antibiotique de Talghouda ainsi sa capacité à réduire le taux de la croissance de certains germes microbiens pathogènes.

Pour répondre à ces objectifs, nous avons pensé premièrement, à lancer une enquête ethnobotanique sur l'utilisation de la plante spontanée *Bunium incrassatum* ou Talghouda comme plante médicinale. Puis, Nous avons recherché la présence des différents métabolites secondaires dans la partie racinaire de *Bunium incrassatum* et nous avons évalué le pouvoir antimicrobien de cette plante.

Ce présent travail est divisé en quatre parties :

- La première partie englobe une synthèse bibliographique.
- La deuxième partie illustre le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail.
- La troisième partie sera consacrée les résultats et discussion obtenus lors de cette étude.
- Enfin, notre travail est achevé par une conclusion et des perspectives.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Synthèse bibliographique

1. Les plantes médicinales

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait, il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Elles sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des activités pharmacologiques pouvant conduire à des emplois thérapeutiques (Boukezata, 2014).

Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Elles continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Zeghad, 2009).

Le recours à la phytothérapie s'est répandu partout dans le monde et a gagné en popularité, non seulement des populations des pays en développement y ont accès mais aussi ceux des pays où la biomédecine occupe une grande place dans le système de santé (Lamamra, 2011).

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (Aref et Heded, 2015).

1.1. Les plantes médicinales en Algérie

Avec une superficie de 2 381 741 km², l'Algérie est le plus grand pays riverain de la Méditerranée. Il est reconnu par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques, ainsi que leurs diverses utilisations populaires dans l'ensemble du terroir du pays. Ce sont des savoir-faire ancestraux transmis de génération en génération chez les populations, le plus souvent rurales. C'est un héritage familial oral, dominant en particulier chez les femmes âgées et illettrées (Ilbert *et al.*, 2016).

1.1.1. La phytothérapie dans le Sahara septentrional Est Algérienne

Dans la tradition populaire, des plantes sont mentionnées pour être des remèdes de différentes maladies. D'après les enquêtes ethnobotaniques qui ont été réalisées dans le Sahara septentrional Est algérien, Kemassi *et al.* (2014) ont déterminé 33 espèces à caractère médicinal utilisées par les indigènes de la vallée de M'Zab pour le traitement de l'hyperglycémie, et les

espèces les plus communes dans les recettes thérapeutiques antidiabétiques chez ces populations sont *Salvia officinalis* L. et *Ajuga iva* L. (Lamiaceae), *Lupinus albus* L. (Fabaceae), *Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadaceae), *Centaurium erythraea* Rafn. (Gentianaceae) et *Boswellia sacra* Flueck. (Burseraceae), ainsi Ould El Hadj *et al.* (2003) ont recensé 37 espèces végétales spontanées utilisées dans la région de Ouargla, ils ont trouvé que la plupart des plantes sont utilisées pour le traitement des pathologies digestives, des algies diverses, des dermatoses, des pathologies broncho-pulmonaires et des affections internes, des pathologies féminine et des piqûres de scorpion.

1.2. Généralités sur la famille des Apiacées

La famille des Apiacées, appelées anciennement Ombellifères (Umbelliferae), est une famille des plantes dicotylédones (Daroui-Mokaddem, 2012).

C'est une famille très homogène facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles composées. Paradoxalement, les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres (Deysson, 1979).

1.2.1. Répartition géographique

Les Apiacées comprennent environ 3000 espèces se répartissant dans toutes les régions tempérées mais surtout dans l'hémisphère Nord (Figure 1) (Dupont et Guignard, 2007).

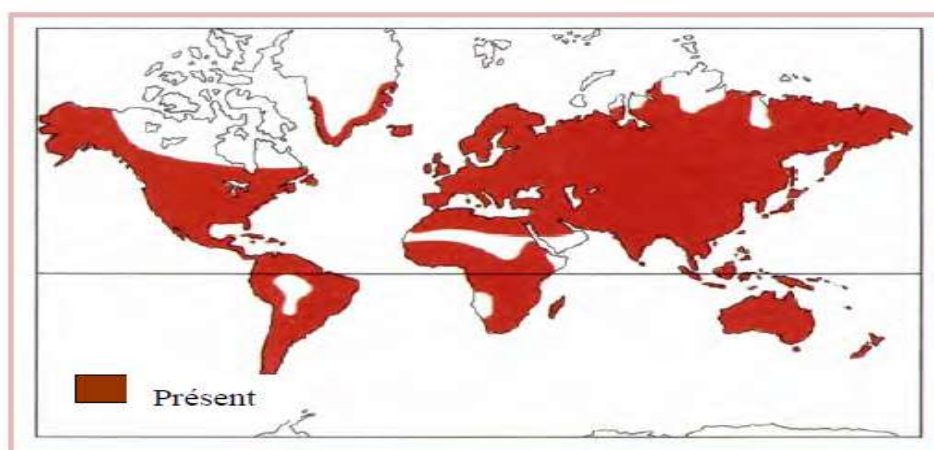


Figure 1. Répartition géographique mondiale des Apiacées (Bouderdara, 2013).

Cette famille occupe une place importante dans la flore algérienne où elle est représentée par 56 genres et 130 espèces (dont 24 endémiques) (Tableau 1) (Taniguchi *et al.*, 1996).

Tableau 1. Quelques genres de la famille des Apiacées en Algérie (Boukezata, 2014).

| Genre | Nombre d'espèce | Genre | Nombre d'espèce |
|-------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| <i>Ammi</i> | 2 | <i>Conium</i> | 1 |
| <i>Ammiopsis</i> | 1 | <i>Ferula</i> | 5 |
| <i>Ammodaucus</i> | 1 | <i>Bunium</i> | 7 |
| <i>Anethum</i> | 1 | <i>Cuminum</i> | 1 |
| <i>Apium</i> | 1 | <i>Thapsiia</i> | 3 |
| <i>Bifora</i> | 1 | <i>Heracleum</i> | 1 |
| <i>Margotia</i> | 1 | <i>Torilis</i> | 2 |

1.2.2. Caractères botaniques généraux

- La famille est relativement homogène et caractérisée notamment par son inflorescence typique, l'ombelle (Duquenois, 1967).
- Il s'agit de plantes herbacées, annuelles, bisannuelles ou vivaces, parfois arbustives (Figure 2) (Phohl-Leszkowicz, 1999).

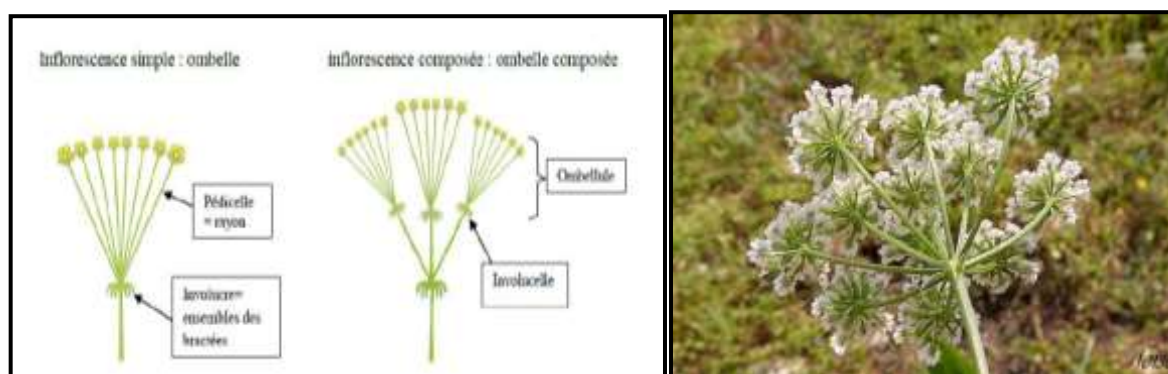


Figure 2. Inflorescence des Apiacées (Filliat, 2012).

1.2.3. Usage de la famille des Apiacées

La famille des Apiacées renferme de nombreuses espèces économiquement importantes, certaines sont des plantes alimentaires (carotte, fenouil, céleri...), d'autres sont des condiments utilisés depuis longtemps en cuisine à cause des huiles essentielles produites par leurs canaux sécréteurs (persil, coriandre, carvi...). Ainsi que des plantes toxiques on cite par exemple celle qui sécrète la coniine (toxine) (Lamamra, 2011).

En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs activités anti-inflammatoire, antimicrobienne, antifongique, analgésique, antirhumatismale, antioxydante, anti tumorale,

cytotoxique et des propriétés chimio- préventives qui sont attribuées à différentes substances (Bouderdara, 2013).

1.2.4. Le genre *Bunium* L.

Le genre *Bunium* L. comprend sept espèces dans la flore algérienne, dont quatre sont endémiques. Ce genre est proche de *Carum* (Bousetla *et al.*, 2011).

Les espèces de ce genre sont des plantes aromatiques ayant des propriétés médicinales, leurs graines ainsi que leurs huiles essentielles sont souvent utilisées dans l'alimentation et la médecine (Jassbi *et al.*, 2005).

Le genre *Bunium* L. est représenté en Algérie par 7 espèces sont respectivement:

- *Bunium incrassatum* (Boiss.) Batt. et Trab.
- *Bunium fontanesii* (Pers.) Maire.
- *Bunium chaberti* Batt.
- *Bunium elatum* Batt.
- *Bunium crassifolium* Batt.
- *Bunium macuca* Boiss.
- *Bunium alpinum* Waldst et Kit (Quezel et Santa, 1963).

Des études phytochimiques antérieures sur le genre *Bunium* L. ont révélé la présence de coumarines, de sesquiterpènes et surtout des huiles essentielles (monoterpènes) comme métabolites fréquents. De plus, il est bien documenté que l'huile essentielle et les extraits de certaines *Bunium* sp. possèdent des effets antihistaminiques, antibactériens et antifongiques en plus des activités antioxydants (Tableau 2) (Bousetla *et al.*, 2011).

Tableau 2. Usages médicinales de certaines espèces du genre *Bunium* L. (Lefahal, 2014).

| Espèce | Usage médicinale |
|--|---|
| <i>Bunium persicum</i> (Boiss). B. Fedtsch. | carminative, antiépileptique, diarrhée, dyspepsie, anti-convulsion, antiasthmatique |
| <i>Bunium paucifolium</i> DC. Var. | inflammations urinaires |
| <i>Bunium incrassatum</i> (Boiss.) Batt. et Trab | astringent, diarrhée, inflammations hémorroïdales, bronchite |

1.2.4.1. *Bunium incrassatum*

Bunium Incrassatum est une plante médicinale de la famille des ombellifères (Apiaceae), est largement distribuée dans l'est de l'Algérie et appelé communément "Talghouda". C'est une plante d'importance économique croissante. Les racines de cette plante sont très nutritives (Boukezata, 2014).

- Nom botanique : *Bunium incrassatum* (Boiss) Batt. et Trab.
- Nom vernaculaire : Tanghouda / Talghouda.
- synonymes : *Bunium bulbocastanum*, *Bunium pachypodium*.
- Famille botanique : Apiacées (Ben Ziane et Yousfi, 2001).

1.2.4.1.1. Position systématique (Lefahal, 2014)

| | |
|--------------------|---------------------------|
| Règne | Plantae |
| Sous règne | Tracheobionta |
| Division | Magnoliophyta |
| Classe | Magnoliopsida |
| Sous-classe | Dilleniidae |
| Ordre | Apiales |
| Famille | Apiaceae |
| Genre | <i>Bunium</i> |
| Espèce | <i>Bunium incrassatum</i> |

1.2.4.1.2. Répartition géographique

Bunium incrassatum est largement distribuée dans la côte méditerranéenne de l'Afrique (Figure 3) (Boukezata, 2014).

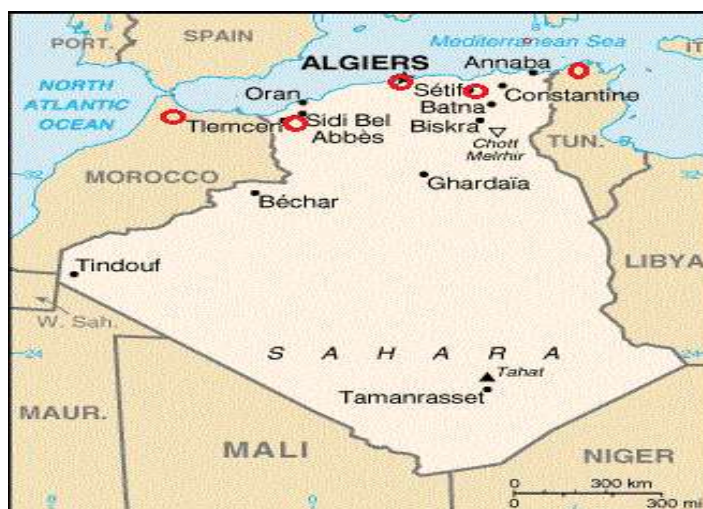


Figure 3. Distribution de *Bunium incrassatum* (Talghouda) dans le nord-africain.

○ Présent

1.2.4.1.3. Description morphologique

Plante vivace, herbacée à racine renflée en tubercule arrondie peu odorante. Tiges grêles de 10-50 cm de hauteur, robustes, feuilles à divisions linéaires, fruits non reliés au sommet (Figure 4) (Ben Ziane et Yousfi, 2001).



Figure 4. Description morphologique de *Bunium incrassatum* (Ben Ziane et Yousfi, 2001).

1.2.4.1.4. Utilisation

1.2.4.1.4.1. Usage alimentaire

Les gens mangent les tubercules du Talghouda crus, bouillis ou torréfiés. Ils récoltent les tubercules, les font dessécher, les réduisent en farine et consomment cette farine en mélange avec l'Orge, sous forme de galette (El Kolli et El Kolli, 2017).

Les racines de *Bunium incrassatum* sont généralement utilisées comme des Patates dans l'alimentation (kouskous) (Lefahal, 2014).

1.2.4.1.4.2. Usage médicinale

La poudre végétale est additionnée au D'han ou à la pâte des dattes ou au miel ou à soupe chaude ou au beurre ou à l'huile d'olive pour traiter l'angine, au même titre que le décocté (Ben Ziane et Yousfi, 2001).

Bunium incrassatum est une plante médicinale d'importance économique croissante. Les racines de cette plante sont très nutritives. Il y a quelques préparations traditionnelles en cas où elle est utilisée comme un astringent et diarrhéique pour ses vertus (Boukezata, 2014).

2. Activité antimicrobienne

2.1. Les infections nosocomiales

Une infection est par définition, la pénétration dans l'organisme d'un agent étranger (bactérie, virus, champignon, parasite) capable de s'y multiplier et d'y induire des lésions pathologiques (Delamare, 1999).

Le terme nosocomial, vient du grec « *nosos* » signifiant maladie et secondairement de « *nosokomeone* » qui signifie hôpital (Margot et Chantal, 2009).

L'infection est dite nosocomiale si elle apparaît au cours ou à la suite d'une hospitalisation et si elle était absente à l'admission à l'hôpital (ou plus généralement dans un lieu de soins), ce critère est applicable à toute infection (Denis, 2002).

La fréquence globale des infections nosocomiales, mesurées par des études internationales, varie entre 5 et 10% des hospitalisés. En Algérie, et d'après le ministre de la santé, les différentes enquêtes réalisées au niveau des structures de santé sur les infections nosocomiales donnent un taux de prévalence national de 12 et 15 % (Chibi, 2015).

Les infections nosocomiales les plus fréquemment rencontrées sont les infections urinaires (44%), des voies respiratoires (20%), du site opératoire (15%), cutanées (11%), les bactériémies (6%) et les infections sur cathéter vasculaire (4%) (Jarlier, 2004; Le Loir et Gantier, 2009).

2.2. Origine des infections nosocomiales

L'origine principale de ces infections est le manque de bonne pratique d'hygiène. En effet, Il a été montré récemment que la cause majeure de transmission des bactéries était d'une part, le manque d'hygiène (absence de lavage des mains...) et d'autre part les progrès de la médecine et de la chirurgie avec par exemple des soins et des thérapeutiques de plus en plus agressifs qui peuvent être des sources possibles d'infection (Belhaj Soulami, 2010).

2.3. Les agents pathogènes

Les germes incriminés sont non seulement les pathogènes classiques mais aussi les germes opportunistes possédant à priori un faible potentiel pathogène qui dans certaines conditions notamment un état fragilisé du patient, induisent des conséquences cliniques majeurs. Les principaux germes responsables des infections nosocomiales sont les bactéries, représentant la cause

dans environ 90% des cas. Il s'agit plus particulièrement des bacilles Gram négatif (60%) dont *Escherichia coli* (25%) et *Pseudomonas aeruginosa* (11%) et des cocci Gram positif (30%) dont *Staphylococcus aureus* (15%) et *Enterococcus* spp. (8%). Les espèces bactériennes suscitées représentent 56% des germes isolés des infections nosocomiales (Abdelli, 2017). Les bactéries ne sont pas les seuls agents responsables, les champignons notamment, *Aspergillus* spp., *Candida albicans*, les virus tels que ceux de l'hépatite B et C, du HIV, d'Ebola, d'influenza, mais aussi, les parasites tels que *Giardia intestinalis*, peuvent également être des agents de transmission des infections nosocomiales (WHO, 2002).

Il existe plusieurs types des agents de transmission des infections nosocomiales:

- Les infections d'origine "endogène": le malade s'infecte avec ses propres microorganismes, à la faveur d'un acte invasif et/ou en raison d'une fragilité particulière.
- Les infections d'origine "exogène": les micro-organismes ont pour origine les autres malades (transmission croisée entre malades ou par les mains ou matériels des personnels), les personnels ou la contamination de l'environnement hospitalier (eau, air, équipements, alimentation ...etc.) (Ministère de la santé, 2010).

2.3.1. *Micrococcus luteus*

Le *Micrococcus luteus* est une bactérie à Gram positif qu'on retrouve sur la peau, dans la bouche et les voies respiratoires supérieures des mammifères, y compris de l'homme. Il ne s'agit pas d'une bactérie systématiquement pathogène mais elle peut le devenir chez les personnes immunodéprimées. Il peut alors se rendre responsable de pneumonie, d'endocardite ou encore de méningite (Kocur, 2006 ; Bannerman et Peacock, 2007).

2.3.2. *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif qui tendent à se grouper en amas. Une espèce, *Staphylococcus aureus* (staphylocoque doré), tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales (Leclerc *et al.*, 1995).

2.3.3. *Escherichia coli*

Escherichia coli (bacille à Gram négatif), commensal du tube digestif, est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires. Elle peut aussi provoquer des diarrhées

par des mécanismes très divers, ainsi que diverses infections communautaires ou nosocomiales (Leclerc *et al.*, 1995).

2.3.4. *Pseudomonas aeruginosa*

Un certain nombre de bacilles à Gram négatif de l'environnement se comportent comme des bactéries opportunistes et sont souvent à l'origine d'infections nosocomiales. Il s'agit souvent de bactéries résistantes à de nombreux antibiotiques. Une des plus dangereux est *Pseudomonas aeruginosa* (Leclerc *et al.*, 1995).

2.3.5. Les streptocoques

Les streptocoques appartiennent aux cocci à Gram positif dont la particularité est un arrangement en chaînettes (Roulet et Milovanovic, 2015). Certaines espèces très virulentes, comme *Streptococcus pyogenes* ou *Streptococcus pneumoniae*, sont des pathogènes «obligatoires» responsables chez l'homme d'infections aiguës. D'autres espèces sont habituellement commensales mais deviennent des pathogènes «opportunistes» dans certaines circonstances (Bouvet *et al.*, 2007).

2.4. Les antibiotiques

2.4.1. Définition des antibiotiques

Ce sont des substances chimiques élaborées par des microorganismes; ces substances en petite quantité possèdent le pouvoir d'inhiber la croissance ou le développement d'autres microorganismes (bactéries) dans lesquelles elles pénètrent en perturbant le métabolisme ou en agissant spécifiquement sur une étape essentielle de ce dernier mais qui sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules humaines ou animales (Benzeggouta, 2005).

Les antibiotiques sont majoritairement représentés par des molécules d'origine naturelle et leurs dérivés. Ils peuvent aussi être d'origine synthétique ou semi- synthétique (Elodie, 2010).

Il existe sept classes majeures d'antibiotiques bactériens utilisés en milieu clinique : les β -lactamines, les glycolipides, les aminoglycosides, les tétracyclines, les macrolides, les quinolones et les sulfonamides (Nukaga *et al.*, 2003).

2.4.2. Mode d'action des antibiotiques

L'action antibactérienne des antibiotiques s'effectue selon quatre principaux mécanismes: une inhibition de la synthèse des constituants de la paroi, un blocage de la synthèse des protéines, un blocage de la synthèse des acides nucléiques et une altération du fonctionnement de la membrane cytoplasmique (Figure 5) (Fomba, 2006).

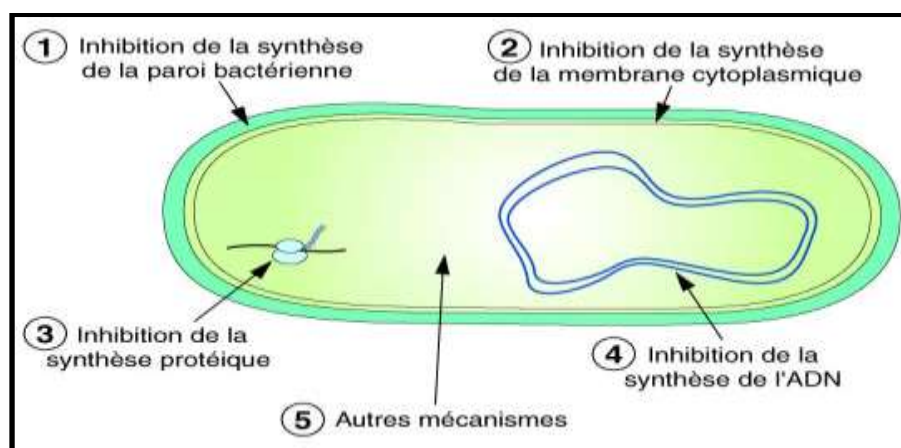


Figure 5. Modes d'action des antibiotiques (Benjira, 2016).

2.4.3. Résistance aux antibiotiques (antibiorésistance)

Les bactéries se défendent contre l'action des antibiotiques :

- En se rendant imperméables à leur pénétration.
 - En produisant des enzymes capables de les inactiver.
 - En modifiant la structure de leurs cibles.
-
- ✓ Certaines bactéries sont naturellement résistantes à des antibiotiques. On parle de résistance innée. Leur patrimoine génétique les rend insensibles à un certain nombre d'agents.
 - ✓ Le phénomène de résistance acquise entraîne l'apparition subite d'une résistance à un ou plusieurs antibiotiques auxquels la bactérie était auparavant sensible. Ces résistances peuvent survenir via une mutation génétique affectant le chromosome de la bactérie. Elles peuvent aussi être liées à l'acquisition du matériel génétique (plasmide) porteur d'un ou plusieurs gènes de résistance. Les résistances plasmidiques représentent le mécanisme de résistance le plus répandu, soit 80 % des résistances acquises (Benjira, 2016).

*MATERIEL ET
METHODES*

II. Matériel et Méthodes

Afin de comprendre l'utilisation traditionnelle de *Bunium incrassatum* par la population locale nous avons réalisé une enquête ethnobotanique, un criblage phytochimique, une extraction des huiles essentielles, et ainsi qu'un test d'antibiogramme. Les analyses ont été réalisées au niveau du laboratoire de biologie et microbiologie de l'université de Ghardaïa -Algérie.

1. Matériel et produits de laboratoire (Annexe 1)

2. Matériel végétal

La partie racinaire de *Bunium incrassatum* (sèche) a été achetée d'un herboriste de la région de Berriane, Ghardaïa. Le choix de notre plante est basé sur sa large utilisation par la population locale de la région de Ghardaïa et sur la base des résultats de la recherche approfondie dans la littérature, au cours de laquelle plusieurs personnes ayant une vaste connaissance de la façon d'utiliser cette plante ont été interrogées.



Photo 1. La partie racinaire de *Bunium incrassatum* et sa préparation (Original).

3. Enquête ethnobotanique

La présente étude est basée principalement sur l'évaluation de l'utilisation d'une plante médicinale communément appelée Talghouda par la population locale. L'enquête est réalisée durant la période qui s'étale entre le mois de Janvier et Mars 2018.

3.1. Présentation de la région d'étude

La wilaya de Ghardaïa, (en arabe : ولاية غرداية / en langue amazighe : Tayerdayt), est une subdivision administrative algérienne se trouvant dans la partie nord du Sahara algérien et englobé dans la vallée du Mzab qui fait partie du patrimoine mondial (UNESCO, 2009).

C'est l'une des plus importantes Wilaya du sud de l'Algérie. Elle est assise sur une superficie de 86.560 km² et limitée au Nord par les Wilayas de Laghouat et de Djelfa, à l'Est par la Wilaya de Ouargla, au Sud par la wilaya de Tamanrasset, et à l'Ouest par les wilaya d'El Bayadh et d'Adrar (Figure 6) (ANDI, 2015).



Figure 6. Localisation de la Wilaya de Ghardaïa, en Algérie (ANDI, 2015).

3.1.1. Description de la population étudiée

En 2008, la population totale de la wilaya est estimée à 363 598 habitants, soit une densité de 4.3 habitants par Km² (ANIREF, 2011).

L'enquête menée auprès de la population comportant 292 personnes (hommes et femmes) interrogées de la wilaya de Ghardaïa.

3.2. Recueil des données

L'enquête ethnobotanique est réalisée à l'aide des fiches questionnaires comportant des questions sur l'informateur et les maladies traitées par la plante médicinale utilisée. Le formulaire du questionnaire est présenté en français et traduit en arabe pour une meilleur communication avec la population de l'enquête (Annexe 2).

L'ensemble des données relatives aux informateurs (âge, sexe) et à la plante (son mode de préparation, la période de sa cueillette) ainsi que le type de maladies traitées.

3.3. Saisie et analyse des données

Les données ont été saisies et analysées par un logiciel d'analyse statistique fournissant les fonctions de base, pour maîtriser le processus analytique (IBM-SPSS Statistics Base 22).

La représentation graphique est réalisée par le logiciel de la suite bureautique Office de Microsoft (Excel).

4. Etude phytochimique

4.1. Extraction des métabolites secondaires

Différents extraits ont été préparés à partir de la partie racinaire de *Bunium incrassatum* par l'utilisation des solvants de polarité déférente.

4.1.1. Principe de macération

La macération est une opération qui consiste à laisser séjourner un corps solide dans un liquide ou dans un milieu humide, pour extraire certains principes actifs de ce corps (Aref et Heded, 2015).

4.1.2. Mode opératoire de l'extraction

La poudre de la plante étudiée est mise à macérer pendant 24 heures à température ambiante, dans un mélange solvant organique-eau (80:20 V/V). L'extraction est refaite 3 fois avec renouvellement du solvant. Les macéras sont réunis et filtrés sur papier filtre. Le solvant est éliminé du filtrat sous vide à 40°C à l'aide d'un Rotavapor (Figure 7) (Boukri, 2014).

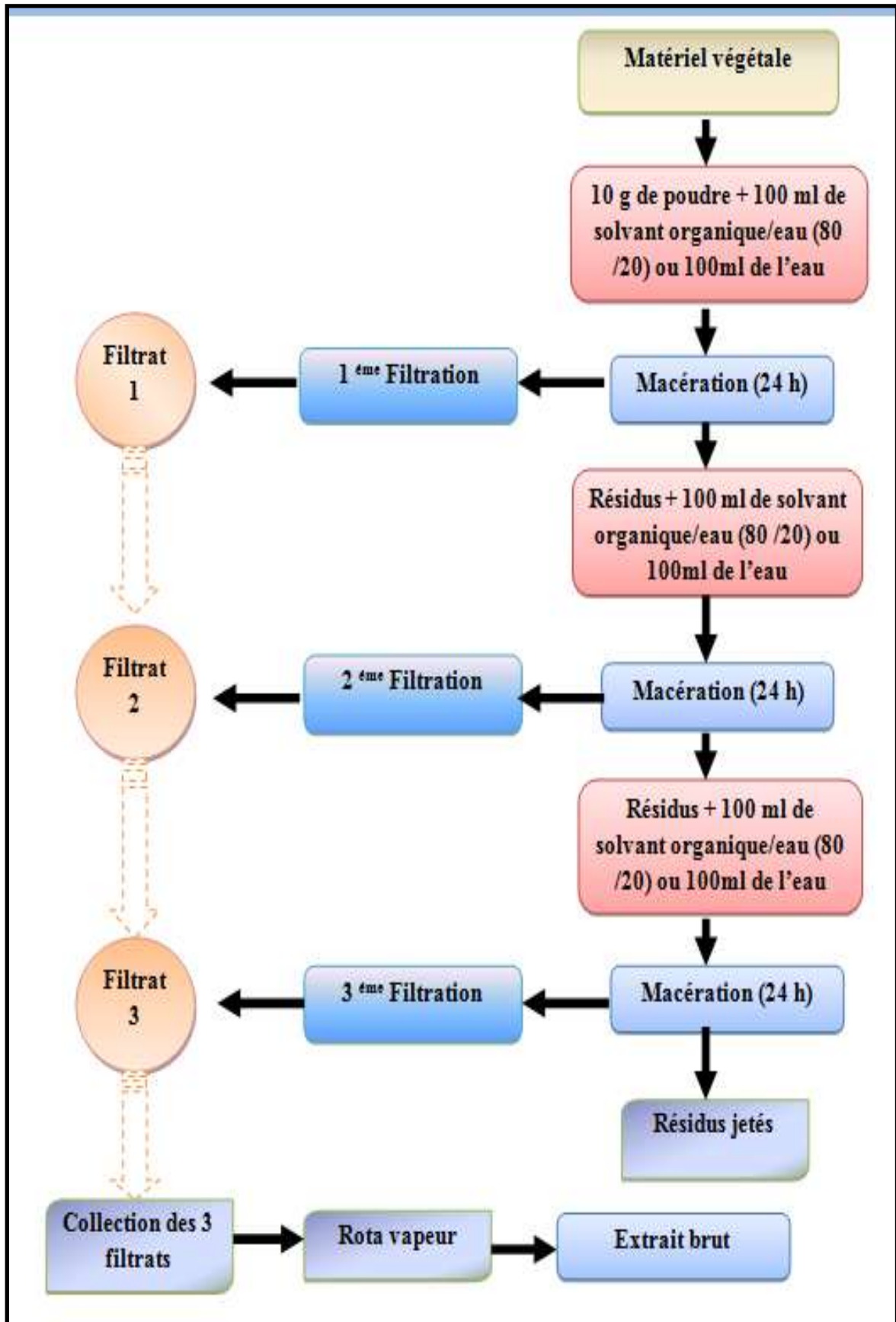


Figure 7. Protocole d'extraction de la partie racinaire de *Bunium incrassatum* (Boukri, 2014).

4.1.3. Rendement des extraits

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction (Boubekri, 2014).

$$R\% = \frac{\text{masse d'extrait sec}}{\text{masse de la matière végétale}} \times 100$$

4.1.4. Principe d'extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation, il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée (Goumni et Salhi, 2013).

4.1.5. Mode opératoire de l'extraction des huiles essentielles

100g de la matière végétale de *Bunium incrassatum* est immergée directement dans un ballon rempli d'1 L d'eau, placé sur une source de chaleur (Chauffe-ballon), le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant puis elles sont récupérées dans une ampoule à décanter et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par une simple différence de densité (Goumni et Salhi, 2013).

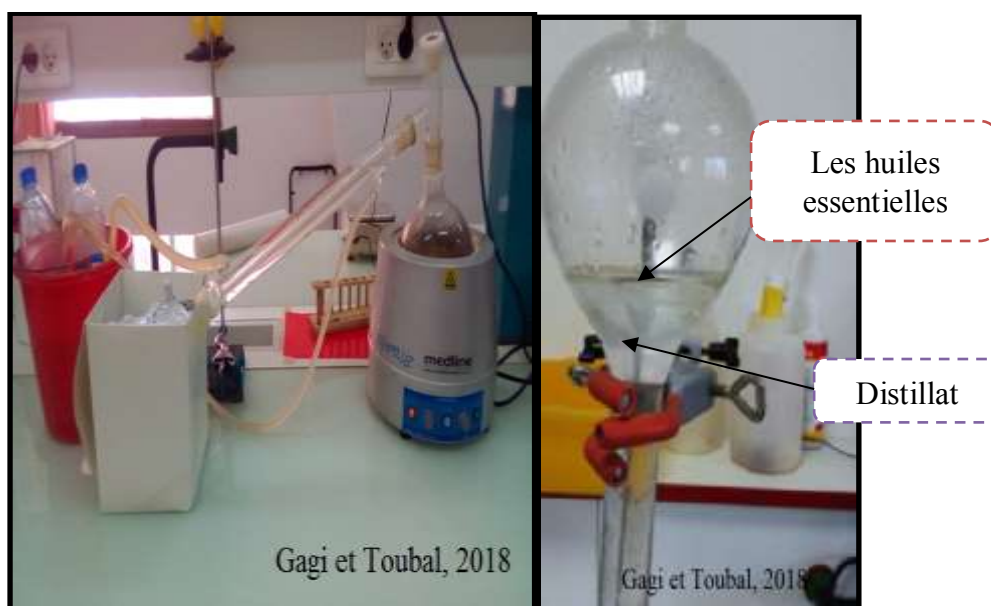


Photo 2. Montage de l'Hydrodistillation (Original).

4.1.6. Rendement en huiles essentielles

La quantification du rendement en huile essentielle obtenue par la technique d'hydrodistillation est calculée à partir du poids de l'huile essentielle par rapport au poids sec de la masse végétale utilisée dans l'hydrodistillation, soit :

$$\text{Rdt} = \text{Mhe} / \text{Mvg} \times 100$$

Rdt : rendement en HE (en%)

Mhe : masse de l'huile essentielle

Mvg : masse végétale sec (Lamamra, 2011).

4.2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont biosynthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Plus de 8500 métabolites secondaires sont déjà connus. Les plus grands groupes sont les alcaloïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes et les composés phénoliques. Ils présentent une énorme valeur économique (en particulier pour l'industrie pharmaceutique et cosmétique) (Kissoum et Khalfaoui, 2015).

4.2.1. Screening phytochimique

Ce terme screening, correspond à une technique de « criblage » c'est-à-dire la recherche systématique des produits naturels contenus dans les plantes (Kissoum et Khalfaoui, 2015).

Il s'agit des techniques qualitatives permettant la détermination des différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal (Boukri, 2014).

4.2.2. Protocole expérimentale de criblage phytochimique

a. Tanins :

Une quantité de 200µl d'extrait est mélangée avec quelques gouttes d'une solution de FeCl₃ à 1%. Le mélange est incubé pendant 15 min à 50 °C. La présence des tanins galliques est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu noire (Harborne, 1998).

Sur 300µl d'extrait aqueux on ajoute 150µl de réactif de Stiasny (10ml de formol 35% + 5ml d'acide chlorhydrique), ensuite la solution est chauffée à reflux au bain marie pendant 15 à 30 min. L'apparition d'une couleur rose claire montre la présence des tanins catéchiques (Mibindzou Mouellet, 2004).

b. Flavonoïdes

➤ **Anthocyanes**

200µl HCl (2N) et 200µl de l'hydroxyde d'ammonium NH₄OH sont ajoutés à 200µl de l'extrait aqueux à tester. La coloration rouge en milieu acide puis vire au bleu violacé en milieu basique, conclut la présence d'anthocyanes (Ribereau-Gayon, 1968).

➤ **Réaction à la cyanidine :**

À 500µl d'extrait aqueux, 500µl d'éthanol chlorhydrique (éthanol à 95°, eau distillée et HCl en volumes égales de 5ml) est ajouté, ensuite quelques copeaux de magnésium sont ajoutés ainsi que 100µl d'alcool isoamylique. L'apparition d'une coloration sur la couche du surnageant d'alcool isoamylique indique la présence des flavonoïdes libres (génine) :

- une coloration rose-orangée indique la présence des flavones.
- une coloration rose-violacée indique la présence des flavanones.
- une coloration rouge indique la présence des flavonols et des flavanonols (Mibindzou Mouellet, 2004).

➤ **Leucoanthocyanes**

La réaction de la cyanidine est effectuée sans l'ajout des copeaux de magnésium. Le mélange est chauffé pendant 10 minutes au bain marie. En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée ; les catéchols donnent une teinte brune-rouge (Dialla, 2000).

c. Coumarines

Les coumarines sont révélées à partir de 200µl de l'extrait placé dans un tube dans lequel sont ajoutés 300µl de NaOH (10%). Après l'agitation de la solution, l'apparition d'une couleur jaune indique la présence de coumarines (Dohou, 2004).

d. Quinones libres

Après l'ajout à 500µl d'extrait quelques gouttes du NaOH (1%), il se développent une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet, ce qui révèle la présence des quinones libres (Benzahi, 2001 ; Chaouch, 2001).

e. Alcaloïdes

Un mélange de 500µl d'acide chlorhydrique à 1% et 100µl de chaque extrait est chauffé au bain marie puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux. Un volume est traité par 5 gouttes de réactif de Mayer (1.36g HgCl₂, 5g KI, eau distillée q.s.p 100ml), l'autre par 5 gouttes de réactif de Wagner (2g KI, 1.27g d'iode, eau distillée quantité suffisante pour 100ml) ; l'apparition de précipité brun traduit la présence des alcaloïdes (Benzahi, 2001 ; Chaouch, 2001).

f. Terpénoïdes

Deux 2 méthodes sont utilisées pour détecter la présence des terpénoïdes :

➤ **Réaction de Libermann-Burchard**

200µl d'anhydride acétique et 100µl d'acide sulfurique sont ajoutés à 500µl d'extrait. L'apparition d'une couleur mauve ou violette indique un test positif.

➤ 500µl d'extrait est ajouté à 200µl de chloroforme et 300µl d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique la présence de terpénoïdes (Benzahi, 2001 ; Chaouch, 2001).

g. Stéroïdes

500µl d'anhydride acétique est ajouté à 500µl d'extrait, 50µl d'acide sulfurique est ajouté. L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu ou au vert indique une réaction positive (Harborne, 1998).

h. Saponosides (test de mousse)

Dans un tube à essai, 10 ml de l'extrait aqueux est agité énergétiquement pendant 5 secondes puis laissé au repos pendant 15 minutes. Une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 centimètre indique la présence de saponosides (Trease et Evans, 1987).

i. Composés réducteurs

Leur détection consiste à traiter 100µl de l'extrait avec 200µl H₂O et 200µl de liqueur de Fehling puis le tube est chauffé au bain marie à 40°C. La formation le précipité rouge-brique signifie la présence des composés réducteurs (Trease et Evans, 1987).

5. Etude de l'activité antimicrobienne

5.1. Activité antibactérienne

5.1.1. Les souches bactériennes

Un total de cinq souches bactériennes est utilisé dans la recherche de l'activité antibactérienne (3 bactéries à Gram+ et 2 à Gram-) comme montré dans le tableau 3. Quatre souches sont des bactéries de référence de type ATCC (American Type Culture Collection) alors que la cinquième souche non référencié a été fourni (Tableau 3).

Ces souches obtenues du laboratoire de l'hôpital de Métlili conservée dans le réfrigérateur dans des boîtes de Pétris contenant le milieu nutritive jusqu'à leurs utilisation.

Tableau 3. Les souches bactériennes testées.

| Famille | Genre et espèce | Gram | Origine |
|---------------------------|-------------------------------|------|------------|
| <i>Micrococcaceae</i> | <i>Micrococcus luteus</i> | + | ATCC 9314 |
| <i>Staphylococcaceae</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> | + | ATCC 25923 |
| <i>Enterobacteriaceae</i> | <i>Escherichia coli</i> | - | ATCC25922 |
| <i>Pseudomonadaceae</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | - | ATCC27853 |
| <i>Streptococcaceae</i> | <i>Streptococcus</i> sp. | + | / |

5.1.2. Test d'antibiogramme

L'étude est réalisée par la méthode de diffusion sur gélose, qui est initialement conçue pour les antibiotiques (antibiogramme), elle est appelée aussi la méthode des disques (Goumni et Salhi, 2013).

L'activité antibactérienne de l'extrait hydro-méthanolique, hydro-éthanolique et les huiles essentielles de la partie racinaire de *Bunium incrassatum* à différents dilutions est testé contre les souches bactériennes indiquées dans le tableau 3.

- **Milieux de cultures**

- Le milieu de culture utilisé est le Trypticase Soja Agar (TSA) (Annexe 3), pour les souches bactériennes.
- L'épaisseur de la gélose doit être de 4 mm répartie uniformément.

- **Protocole d'antibiogramme** (Annexe 4)

❖ **Préparation d'inoculum**

- L'inoculum doit être de $2 \text{ à } 3.10^6$ bactéries. Il est obtenu à partir d'une culture pure de 18 à 24 heures sur milieu d'isolement. Puis on racle les colonies bien isolées et parfaitement identiques. On décharge l'anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% (Aref et Heded, 2015).

❖ **Préparation de la gamme de concentration des extraits végétaux**

La gamme de concentration a été préparée par la méthode de dilution (25%, 50%, 75%, 100%) pour l'extrait hydro-méthanolique et hydro-éthanolique par l'eau distillée, et (50% et 100%) pour les huiles essentielles par DMSO(diméthylsulfoxyde).

❖ **Préparation des disques**

Des disques de papier Whatman de 6 mm de diamètre, sont stérilisés par UV pendant 15 minutes, puis conservés dans des tubes en verre stériles fermés jusqu'à utilisation (Kissoum et Khalfaoui, 2015).

❖ **Ensemencement**

Dans les boîtes de pétrie stériles précédemment coulées, deux à quatre millilitres de chaque suspension bactérienne préalablement préparée sont ensemencées par étalement à l'aide d'un râteau stérile, l'ensemencement doit être réalisé de telle façon à assurer une distribution homogène des bactéries dans tous les sens et de bien couvrir toute la surface de du milieu de culture (Zeghad, 2009).

❖ **Application des disques**

Les disques stériles à sont imprégnés par différentes concentrations d'extrait à tester à raison de 10 μ l par disque et sont déposés à l'aide d'une pince à la surface du milieu gélosés (Kissoum et Khalfaoui, 2015).

Des contrôles sont réalisés simultanément pour chaque essai ; pour se faire, on utilise trois antibiotiques l'amoxicilline (25mg), l'ampicilline (10µg) et la gentamicine (10µg), comme contrôle positif. Ce choix est justifié par la disponibilité de ces produits au niveau du laboratoire.

On teste également le DMSO, l'eau distillée, le méthanol et l'éthanol comme témoin négatif.

❖ **Incubation et lecture**

Les boîtes de Pétri sont incubées à l'étuve pendant 24 à 48 heures à 37°C. La lecture s'effectue en mesurant sur chaque disque le diamètre d'inhibition de l'extrait. Cette distance millimétrique est ensuite reportée sur l'échelle de concordance afin que la souche soit interprétée en sensible, intermédiaire ou résistante (Aref et Heded, 2015).

Selon la littérature, les souches bactériennes répondent ou pas aux extraits en fonction de l'existence ou non de zones d'inhibition, trois réponses sont possibles :

- ✓ Souche sensible: La dimension du diamètre de la zone d'inhibition est égale ou supérieure à 10mm.
- ✓ Souche limite (intermédiaire): La dimension du diamètre de la zone d'inhibition inférieure à 10mm.
- ✓ Souche résistante: Absence de zone d'inhibition (Kissoum et Khalfaoui, 2015).

*RESULTATS ET
DISCUSSION*

III. Résultats et discussion

1. Résultats et discussion de l'enquête ethnobotanique

1.1. Résultats de l'enquête ethnobotanique

292 fiches d'enquêtes ont été remplies, les résultats obtenus sont les suivants :

1.1.1. Profil de la personne enquêtée

1.1.1.1. Classe d'âge

L'utilisation des plantes médicinales au niveau de la région étudiée est répandue chez toutes les classes d'âge avec une prédominance des personnes d'âge supérieur à 40 ans (53,08%). Les classes d'âge de 20 à 40 ans, inférieur à 20 ans, viennent ensuite respectivement avec 34,59% et 7,88%. Cependant les personnes de classe d'âge inférieur à 20 ans ne recourent pas beaucoup à la médecine traditionnelle pour leur sécurité médicale (Figure 8).

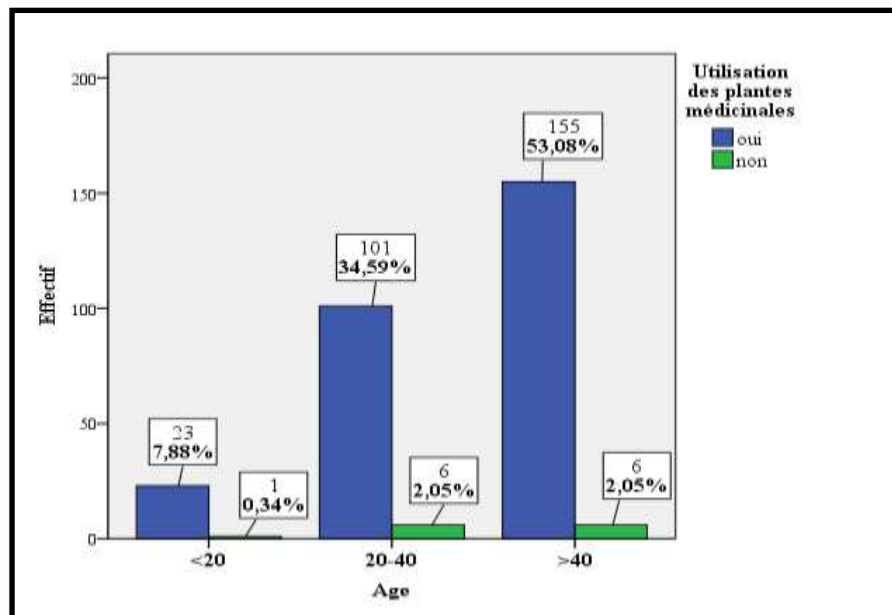


Figure 8. Utilisation des plantes médicinales selon l'âge.

1.1.1.2. Sexe

Au niveau de la région étudiée, les deux sexes femmes et hommes exercent la médecine traditionnelle. Cependant, le sexe féminin prédomine avec un pourcentage de 78,08%. Par ailleurs, ce pourcentage est seulement de 17,47% chez le sexe masculin (Figure 9).

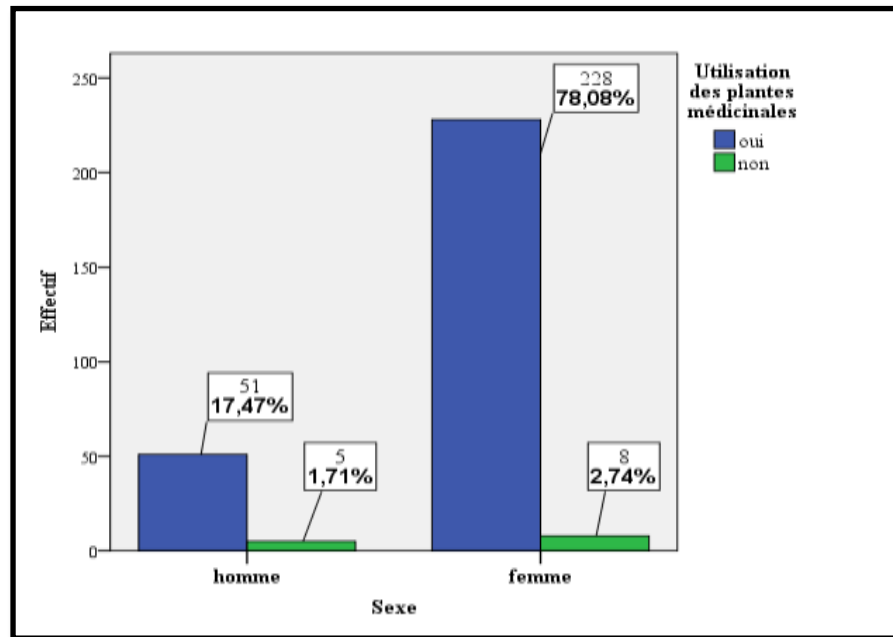


Figure 9. Utilisation des plantes médicinales selon le sexe.

1.1.2. Utilisation des plantes médicinales

1.1.2.1. Les maladies traitées par les plantes médicinales

L'enquête a révélé que la majorité des personnes utilisent les plantes médicinales dans le traitement des troubles respiratoires avec 40,1 % des cas, suivi des maladies de l'appareil digestif avec 30,9 % des cas (Tableau 4).

Tableau 4. Pourcentage des maladies traitées par les plantes médicinales.

| Type des maladies | | Pourcentage (%) |
|----------------------------|--|-----------------|
| Respiratoire | Grippe, toux, angines, asthme | 40,1 |
| Digestif | Douleurs abdominales, diarrhées, ulcère gastrique, colon, hémorroïde | 30,9 |
| Métabolique | Goitre, diabète, anémie, cholestérol | 6,3 |
| Dermique | Allergie, varicelle, chute de cheveux, brûlure, inflammation de la gencive | 5 |
| Rénal et urinaire | Infection urinaire, douleur rénale | 2,4 |
| Vasculaire | Hypertension artérielle | 2,6 |
| Rhumato-articulaire | Rhumatisme | 4 |
| Neurologique | Insomnie, traumatismes psychologiques | 1 |
| Infertilité | Infertilité féminine, infertilité masculine | 0,7 |
| Autres maladies | Maux de tête, fractures | 7 |

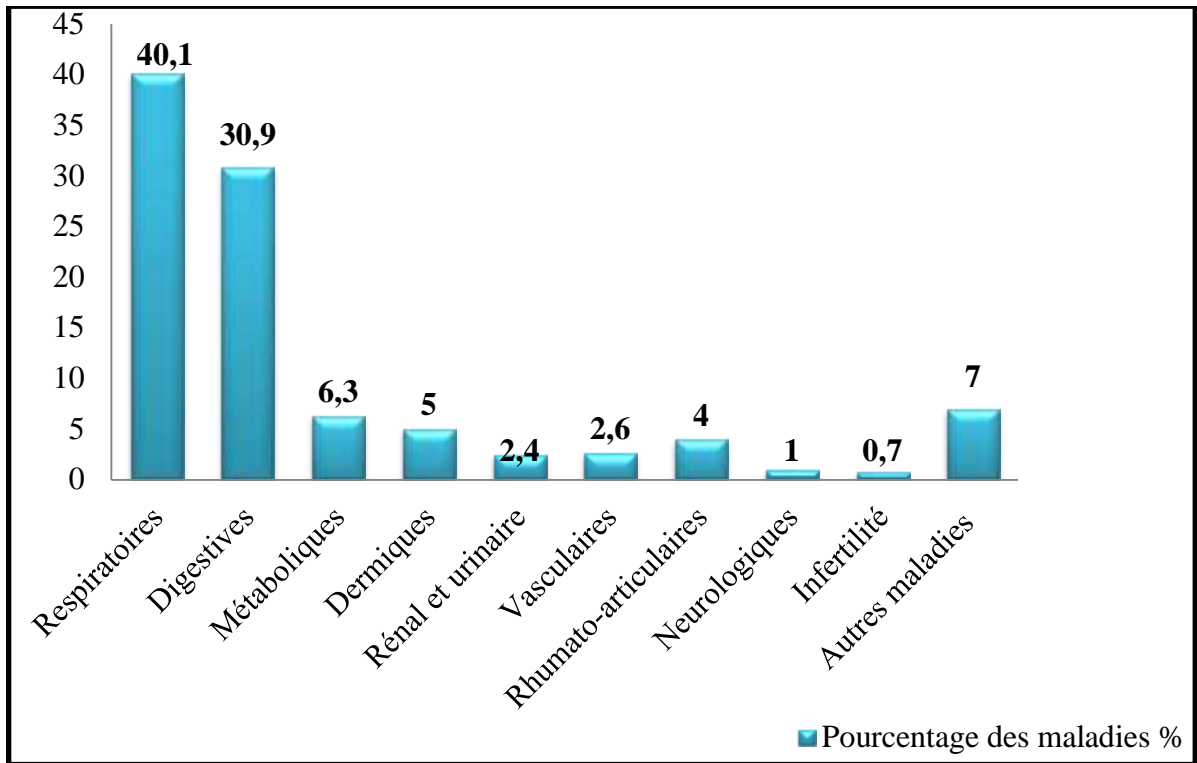


Figure 10. Les types des maladies traitées par les plantes médicinales.

1.1.2.2.Utilisation de Talghouda

Parmi les 292 personnes interrogées, 70,5% (206 personnes) ont utilisé Talghouda, et 29,5% (86 personnes) n'ont jamais utilisé la plante Talghouda comme un traitement phytothérapeutique (Figure 11).

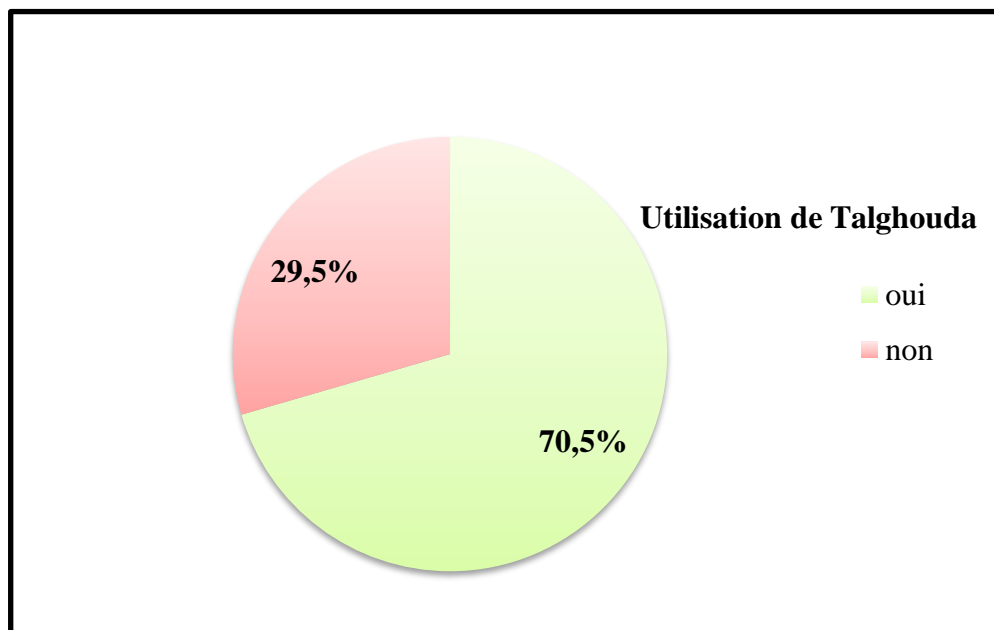


Figure 11. Utilisation de Talghouda.

1.1.2.2.1. Type de maladie traitée

La figure 12 montre que sur les 70,5% des personnes qu'ils utilisent Talghouda, 81,3% de ces personnes utilisent la plante pour le traitement des angines, suivi par le traitement de goitre et de diabète avec 9,2% et 6,1% respectivement, 3,4% pour les autres maladies.

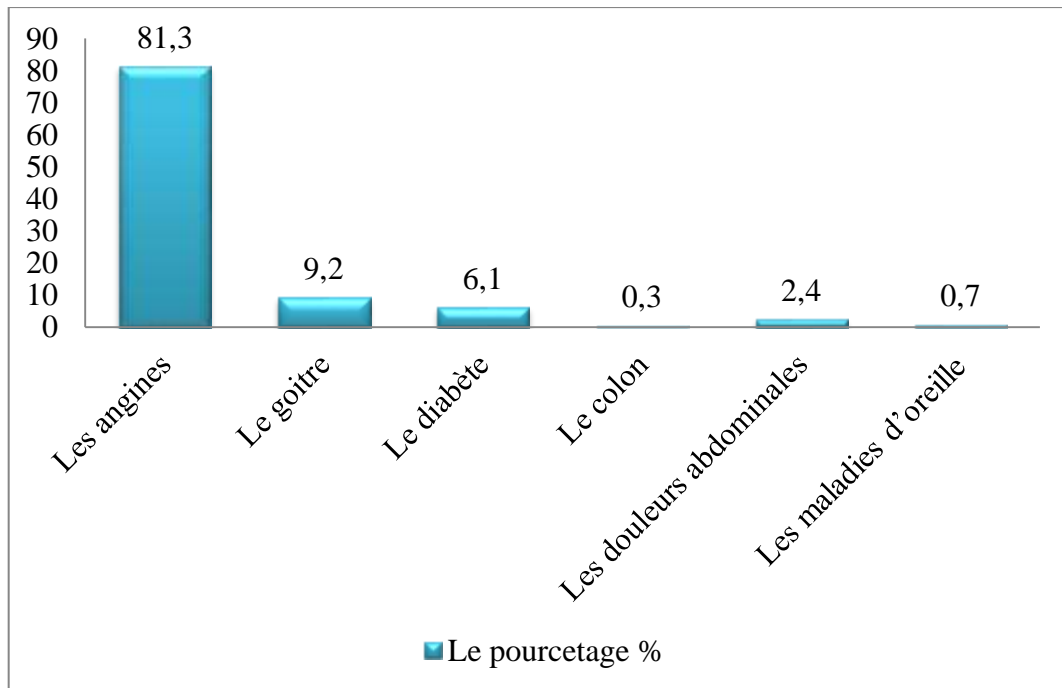


Figure 12. Les types des maladies traitées par Talghouda.

1.1.2.2.2. Mode d'utilisation

Pour traiter les maladies par Talghouda, diverses modes d'utilisations sont employées. L'utilisation de la poudre avec le miel et avec le lait sont les modes les plus utilisés avec 40% et 25%, puis 12% ont l'utilisé avec l'eau et 23% ont l'utilisé avec d'autres aliments comme : la soupe, le yaourt, les œufs, le D'han...etc. (Figure 13).

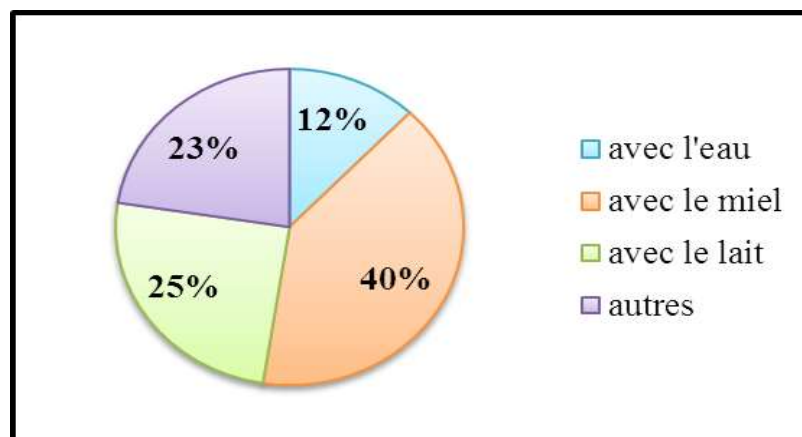


Figure 13. Les différentes modes d'utilisation de Talghouda.

1.1.2.2.3. Durée d'utilisation

Les résultats obtenus, concernant la durée de traitement par Talghouda ont montré que la plupart des personnes ont l'utilisée de 1 à 4 jours (56%), 40% des personnes ont l'utilisée de 5 à 8 jours et que 4% des personnes ont l'utilisée plus de 8 jours (Figure 14).

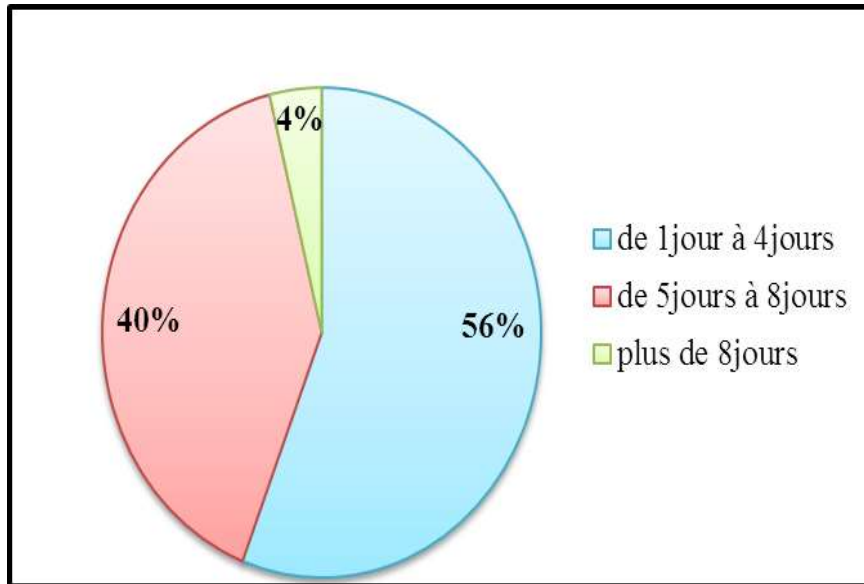


Figure 14. Les différentes durées d'utilisation de Talghouda.

1.1.2.2.4 Posologie

65% des personnes utilisent Talghouda avec une dose d'une cuillère de café seulement par jours, suivi par 25% des personnes l'utilisent avec une dose de 2 cuillères, 9% l'utilisent avec une dose de 3 cuillères et 1% seulement utilisent plus de 3 cuillères par jours (Figure 15).

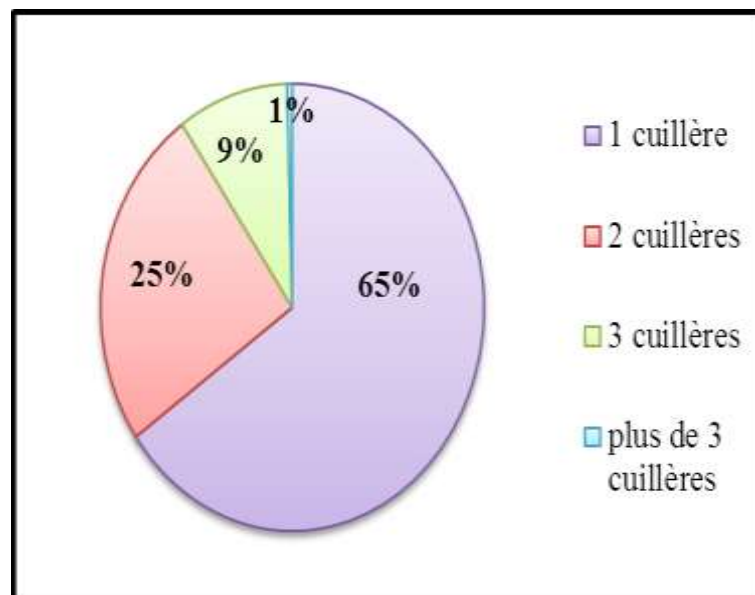


Figure 15. Différentes doses utilisés de Talghouda par (Cuillère de café/jour).

1.1.2.2.5. Satisfaction

Concernant l'efficacité de la plante cible, 68,15% des sujets pensent que la phytothérapie par Talghouda est efficace et 31,85% juge qu'elle est inefficace (Figure 16).

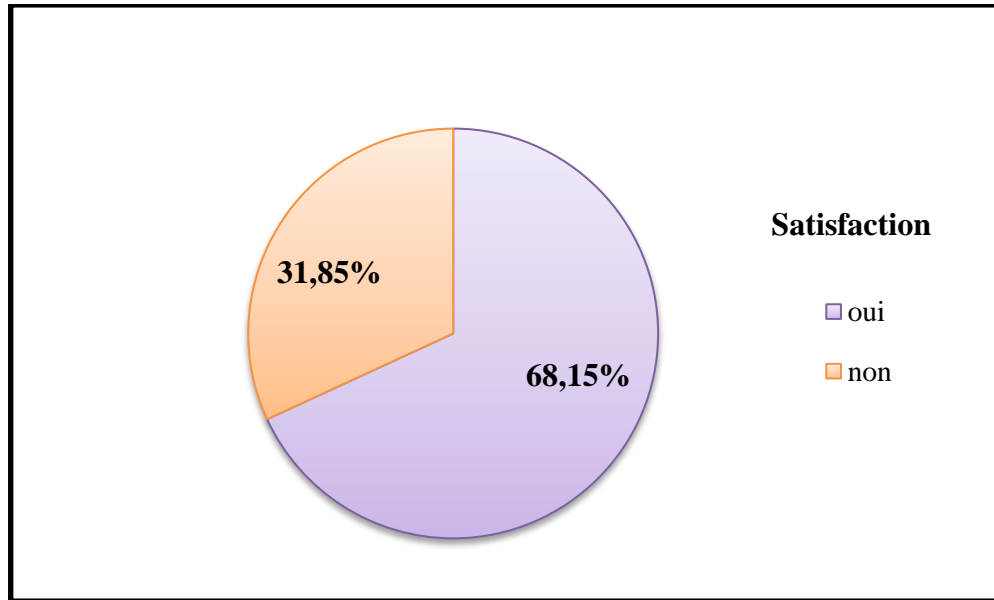


Figure 16. La satisfaction des personnes enquêtées.

1.1.2.2.6. Les effets indésirables

97,6% des personnes enquêtées trouvent que Talghouda ne provoque aucun effet secondaire. Cependant, 2,4% des personnes pensent que le traitement par Talghouda provoque des effets secondaires (Figure17).

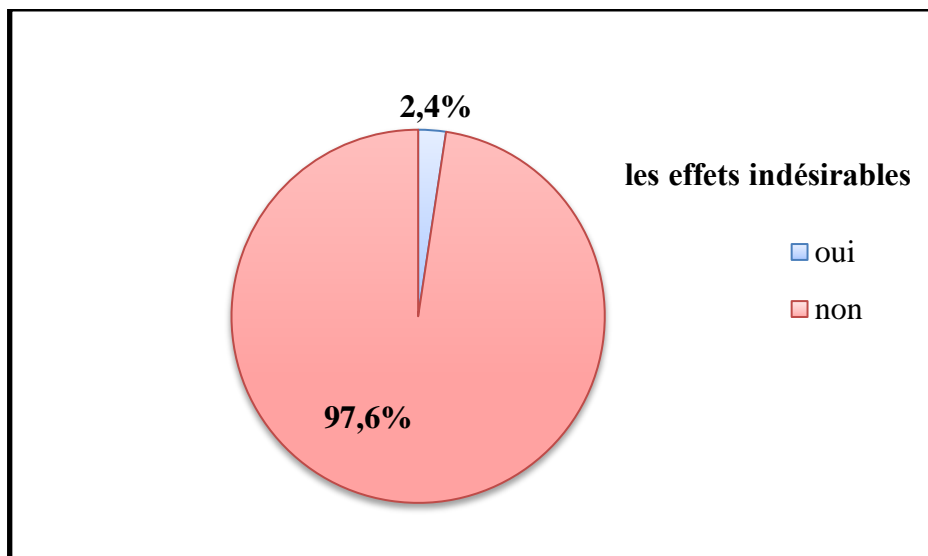


Figure 17. Les effets indésirables d'utilisation de Talghouda.

1.2. Discussion des résultats de l'enquête ethnobotanique

- L'utilisation des plantes médicinales était très répandue avec une fréquence d'usage de 95,55%, cela indique que les personnes enquêtées ont un fort recours à la phytothérapie. Ce résultat est en concordance avec celui de l'OMS, qui annonce que 80% de la population Africaine dépend de la médecine traditionnelle (Boumediou et Addoun, 2017).
- Le plus grand pourcentage d'usage des plantes a été observé chez les sujets de plus de 40 ans (53,8%), tandis que le pourcentage d'usage chez les sujets les plus jeunes, est beaucoup plus faible (7,88%). Cette différence notable revient au fait que les personnes les plus âgées ont davantage de connaissances en plantes médicinales que les autres classes d'âges. L'expérience accumulée avec l'âge constitue la principale source d'information de l'usage des plantes en médecine traditionnelle. Ces valeurs confirment les résultats obtenus dans d'autres travaux antérieurs sur l'utilisation des plantes médicinales (Ait Ouakrouch, 2015 et El Hilah *et al.*, 2015 au niveau du Maroc), (Adouane, 2016 dans la région de Biskra), (Boughrara, 2016 dans la région d'El-kala), (Bouderba, 2016 dans la Wilaya de Béchar). Ces travaux montrent effectivement que les personnes âgées connaissent bien la phytothérapie traditionnelle par rapport aux autres classes d'âges, de même, le manque d'intérêt pour la phytothérapie chez les personnes de tranche d'âge inférieur à 20 ans s'explique par la méfiance particulièrement des jeunes qui ont tendance à ne plus trop croire en ces types de traitement.
- L'utilisation des plantes médicinales varie selon le sexe 78,08% des femmes questionnées ont utilisé la plante étudiée contre 17,47% pour les hommes. Cela peut être expliqué par le fait que les femmes sont plus concernées par le traitement phytothérapeutique et la préparation des recettes à base végétales, non seulement pour elles-mêmes mais aussi pour la totalité de la famille. Les résultats obtenus en Algérie par Mehdioui et Kahouadji en 2007, et dans la province d'Essaouira (Maroc) par Bouallala *et al.*, 2014, et dans la région du Souf par Bakiri *et al.*, 2016, et ceux de Bouziane, 2017 dans la région d'Azail (Tlemcen –Algérie), montrent que les femmes sont plus intéressées par le savoir phytothérapeutique traditionnel que les hommes. Ainsi, (Bouallala *et al.*, 2014) trouve aussi dans son étude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Souf que ce sont les femmes (72,86%) qui ont plus de connaissance sur les espèces médicinales par rapport aux hommes (27,14 %).
- L'enquête réalisée dans ce présent travail a également révélé que la majorité des personnes utilisent les plantes médicinales pour traiter les troubles respiratoires dans 40,1% des cas,

suivi des maladies de l'appareil digestif dans 75,9% des cas, ce qui confirme les résultats des enquêtes réalisées par Sebai et Boudali, 2012, Boumediou et Addoun, 2017.

- Les plantes médicinales sont utilisées, en général dans les domaines thérapeutiques, cosmétiques, aromatiques ou décoratifs. Dans notre cas, Talghouda est utilisé dans le domaine thérapeutique. Soit 70,55% des personnes interrogé utilisent Talghouda majoritairement pour le traitement des angines (81,3%). Ainsi, Bouziane, 2017 trouve aussi dans son étude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Tlemcen que les tubercules de cette plante sont utilisés pour traiter le rhumatisme, la flatulence et les tumeurs.
- Concernant les modes d'utilisation de Talghouda par la population locale de Ghardaïa, le mode le plus courant et le mélange de la poudre fine avec le miel (40%) suivi par le mélange de la poudre avec le lait (25%), et (12%) pour l'eau ainsi avec d'autres aliments. Selon Ben Ziane et Yousfi (2001), la poudre de Talghouda est additionnée au D'han, à la patte des dattes, au miel, à la soupe chaude, au beurre ou à l'huile d'olive pour traiter les angines.
- La majorité des personnes utilisent Talghouda avec une dose d'une cuillère (65%) de 1 à 4 jours.
- L'avis de la population étudiée sur la phytothérapie par Talghouda est globalement positif, plus que 68,15% des sujets pensent que Talghouda est efficace sans effets secondaires et un pourcentage de 31,85% juge qu'elle est inefficace. Donc la majorité a une confiance à la phytothérapie par la plante étudiée.
- Seulement 2,4% des personnes pensent que le traitement par Talghouda provoque des effets secondaires tel que la diarrhée et les vertiges. Selon Gahbiche (2009), les effets indésirables ont été causés principalement par les plantes qui ne sont pas potentiellement toxiques mais qui peuvent l'être sous certaines conditions; cela peut revenir probablement à l'utilisation incontrôlée de ces plantes, ou bien aux connaissances insuffisantes des sujets, sur le bon mode de préparation de la plante, la bonne voie d'administration, la fréquence d'utilisation journalière, ou la dose thérapeutique.
- Beaucoup de plantes médicinales et de médicaments sont thérapeutiques à une certaine dose et toxiques à une autre. Tout dépend de la composition de ces plantes, c'est le cas particulier des produits végétaux riches en : saponosides, terpènes, alcaloïdes, ou autres substances chimiques. Le faux savoir traditionnel importé par des «guérisseurs», peuvent être à l'origine d'effets secondaires inattendus, suite à une utilisation incorrecte de la plante, ceci par méconnaissance de la bonne préparation (infusion, décoction...) ou du mode d'usage (voie interne ou externe), ex : les feuilles de Laurier rose sont utilisées par voie externe (pour soigner des troubles cutanés), cependant elles sont toxiques par voie interne. Ainsi, la

ressemblance de la dénomination et de l'aspect macroscopique, pose un problème et peut conduire à des erreurs sur l'identité de la plante médicinale, ex : confusion de feuilles d'*Eucalyptus* avec celles du Laurier rose (Boumediou et Addoun, 2017).

L'investigation ethnobotanique menée montre que la phytothérapie demeure une pratique encore largement utilisée par la population locale pour le traitement de nombreuses maladies, notamment le traitement des maladies de l'appareil respiratoire et digestif. Le traitement des angines par Talghouda présente l'une des voies alternatives la plus utilisée par la population locale à cause des bienfaits marqués par cette plante. Donc il est nécessaire et important de sauvegarder les connaissances phytothérapeutiques de la population locale et de développer ces pratiques afin d'éviter des atteintes et des complications imprévus.

2. Résultats et discussion de l'étude phytochimique

2.1. Criblage phytochimique

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques (Boukezata, 2014).

Ces dernières permettent de définir la présence ou non de métabolites secondaires : alcaloïdes, triterpènes, flavonoïdes, saponosides, tanins...etc.

Les résultats de ce criblage phytochimique effectués sur la partie racinaire de la plante étudiée "*Bunium incrassatum*" sont résumés dans le tableau suivant :










Tableau 5. Résultats de criblage phytochimique de l'extrait aqueux, hydro-méthanolique et hydro-éthanolique de la partie racinaire de *Bunium incrassatum*.
















| Métabolites secondaires | | Remarque de test positif | Extrait aqueux | Extrait Hydro-méthanolique | Extrait Hydro-éthanolique |
|--------------------------|-----------------------------------|--|----------------|----------------------------|---------------------------|
| Tanins | | coloration verdâtre | - | + | + |
| Flavonoïdes | Anthocyanes | couleur rouge en milieu acide et bleu violacée en milieu basique | - | - | - |
| | Réaction à la cyanidine | coloration sur la couche surnageant | - | - | - |
| Coumarines | | Apparition d'une couleur jaune | + | + | + |
| Quinones | | couleur jaune, rouge ou violet | - | - | - |
| Alcaloïdes | | formation d'un précipité blanc ou brun | - | - | - |
| Terpénoïdes | Test de Libermann-burchard | couleur move ou violée | - | + | - |
| | Test 2 | formation de deux phases | - | + | - |
| Saponosides | | Une hauteur de mousse persistante supérieur à 1cm | - | - | - |
| Stéroïdes | | coloration violette | - | + | - |
| Composé réducteur | | La formation d'un précipité rouge- brique | - | + | + |

- (+) : test positif.
- (-) : test négatif.

Ce tableau montre les principaux métabolites secondaires de *Bunium incrassatum* ou on a trouvé que l'extrait hydro-méthanolique contienne des tanins galliques, des coumarines, des terpénoïdes, des stéroïdes et des composés réducteurs. Ainsi que l'extrait hydro-éthanolique renferme des tanins galliques, des coumarines, des composés réducteurs, des huiles essentielles. Cependant, l'extrait aqueux comporte seulement les coumarines.

Tableau 6. Photos de criblage phytochimique de l'extrait aqueux, hydro-méthanolique et hydro-éthanolique de la partie racinaire de *Bunium incrassatum*.

| Métabolites secondaires | Extrait aqueux | Extrait hydro-méthanolique | Extrait Hydro-éthanolique |
|-------------------------|---|--|---|
| Tanins |  |  |  |
| anthocyanes |  |  |  |
| Cyanidine |  |  |  |

| | | | |
|---------------------------|---|--|---|
| <p>Coumarines</p> |  |  |  |
| <p>Quinones</p> |  |  |  |
| <p>alcaloides</p> |  |  |  |
| <p>terpénoides</p> |  |  |  |
| <p>saponosides</p> |  |  |  |



Les analyses phytochimiques des extraits des plantes médicinales est une étape préliminaire et d'une grande importance, puisqu'elle révèle la présence des constituants bioactives responsables des vertus thérapeutiques (Zeghouane, 2014).

Le screening phytochimique de notre plante nous a permis de connaître les composants majoritaires présents : les tanins, les coumarines, les terpénoïdes, les stéroïdes et les composés réducteurs. Ainsi Boukezata dans ces travaux publiés en 2014 confirme la présence des alcaloïdes, des saponines et des tanins dans la partie aérienne de *Bunium Incrassatum*.

L'extrait hydro-méthanolique est très riche en différent types des métabolites secondaires que l'extraits hydro-éthanolique et aqueux. Cette différence due à la différence de polarité de chaque solvant d'extraction. Boudarba en 2016 a exprimé que l'utilisation de solvants à polarités différentes pour la préparation des extraits permet de séparer les composés de la poudre des plantes selon leur polarité et degré de solubilité dans le solvant d'extraction.

Les différences trouvées entre les extraits peuvent être attribuées à plusieurs facteurs tels que méthodes d'extraction (Turkmen *et al.*, 2007), préparation d'extrait, solvant utilisé (Natarajan *et al.*, 2005).

Le potentiel d'une plante médicinale est attribué à l'action de ses constituants phytochimiques. Ils sont produits comme métabolites secondaires, en réponse au stress

environnemental ou pour assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux (Mohammedi, 2013).

L'activité antiseptique des tannins a été largement décrite. Certaines drogues à tannins présenteraient des effets antimicrobiens, antifongiques ou antiviraux, néanmoins, les applications actuelles en thérapeutique restent restreintes (Chung *et al.*, 1998; Bruneton, 1999).

Les coumarines sont des molécules biologiquement actives, elles manifestent diverses activités : anti-agrégation plaquettaires, anti-inflammatoires, anticoagulantes, antitumorales, diurétiques, antimicrobiennes, antivirales et analgésique (Chen *et al.*, 2005).

Beaucoup de terpènes servent comme des additifs dans les industries alimentaires et cosmétiques (Tsao et Coats, 1995) et plusieurs d'entre eux possèdent des activités biologiques, antimicrobienne, insecticide, anti-carcinogénique, anti-inflammatoire (Murakami *et al.*, 2004 ; Griffin, 1999), anesthésique, anti-histaminique et diurétique (Velicković *et al.*, 2003 ; Hsiou *et al.*, 2000), neuroprotective (Hyun et Hyang ; 2007).

On peut citer également les propriétés anti-tumorales et cytotoxiques des diterpènes et des activités anti-oxydantes attribuées surtout aux diterpènes phénoliques (Hill, 1993 ; Valdés, 1994).

Le rôle des huiles essentielles dans la physiologie de la plante reste encore mal connu. Toutefois, les parfums émis jouent un rôle attractif pour les insectes pollinisateurs Les huiles essentielles ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales et antiparasitaires (Domart et Bourneuf, 1988 ; Laib, 2011), antibactérienne, antifongique, anti-inflammatoires (Bouderdara, 2013). Dû leurs vaste utilisation dans les domaines pharmaceutique, alimentaire, cosmétique. Néanmoins, une seule huile peut avoir plusieurs utilisations à la fois (Boukri, 2014).

L'ensemble des groupes chimiques ainsi identifiés, ayant des propriétés pharmacologiques diverses. Ce qui justifier l'utilisation multiple de *Bunium incrassatum* en tradi-thérapeutique.

2.2. Rendement d'extraction (Annexe 5)

Dans cette étude, le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Les résultats de cette manipulation sont représentés dans la figure 18.

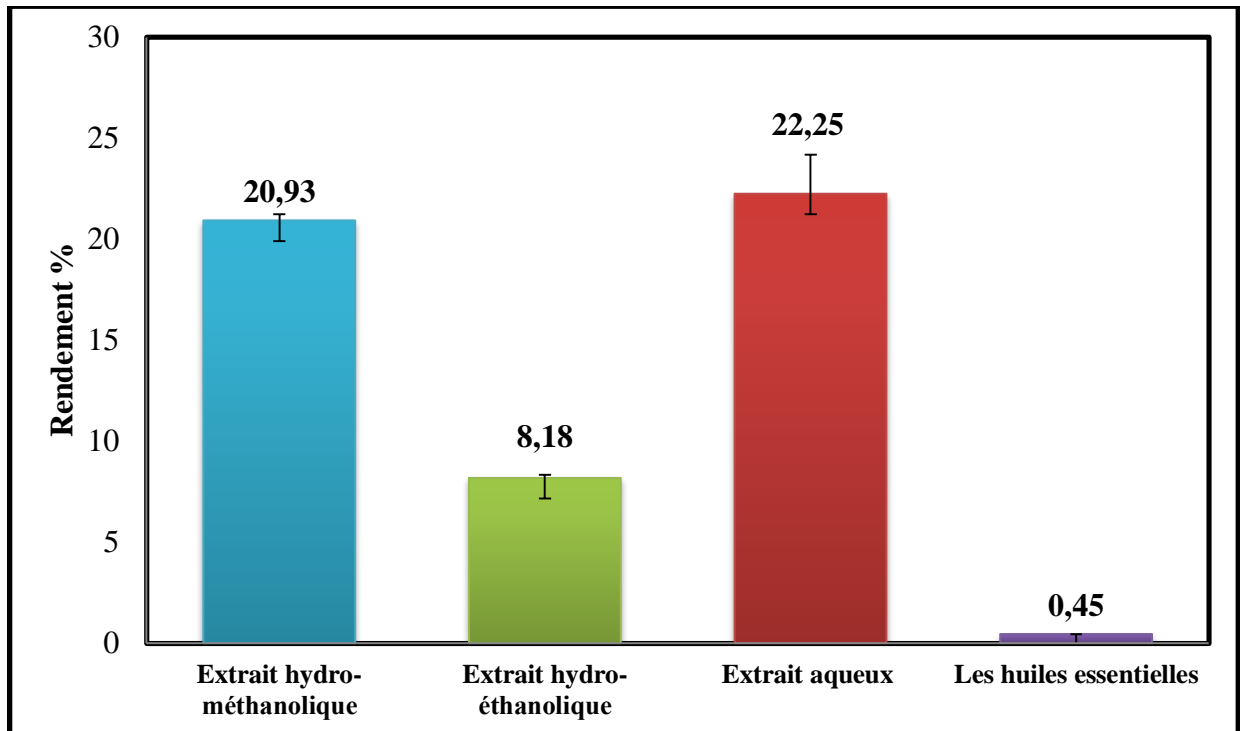


Figure 18. Le rendement des différents extraits de *Bunium incrassatum*.

D'après ces résultats, nous pouvons déduire que le rendement le plus élevé a été obtenu par l'extrait aqueux avec 22,25% suivie par l'extrait hydro-méthanolique avec 20,93%, l'extrait hydro-éthanolique avec 8,18%, enfin 0,45% pour les huiles essentielles.

Le meilleur rendement obtenu est celui de l'extrait aqueux (22,25%). Dans notre cas, peut être les substances solubles dans l'eau sont présentes en quantité importante est sont l'un des causes essentielles de l'augmentation du rendement correspondant à la méthode d'extraction avec l'eau. Lehout et Laib en 2015 confirment que ces substances peuvent être de nature protéiques ou carbohydrates.

Dans ce contexte, El Kolli et El Kolli (2017) ont trouvé que les tubercules du Talghouda est composé de : 15,66 % eau, 5,50 % cendres, 7,00 % matières azotées, 1,34 % matières grasses, 63,12 % amidon et congénères, 6,40 % cellulose et 0,98 % matières non dosées.

Par ailleurs, l'extrait sec ne renferme pas uniquement des métabolites secondaires, il contient également d'autres substances naturelles. (Békro *et al.*, 2007; Kebièche *et al.*, 2011)

D'après Aref et Heded (2015) ; Adouane (2016), la différence de rendement entre les extraits est due aux techniques d'extraction utilisées, qui sont différentes, à la préparation d'extrait, aussi aux solvants utiliser et à la composition chimique qui diffère d'un extrait à l'autre.

3. Résultats et discussion de l'activité antibactérienne

3.1. Résultats de l'antibiogramme standard

L'antibiogramme permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne *in vitro*. Les diamètres d'inhibition des bactéries étudiées vis-à-vis différents antibiotiques de référence sont regroupés dans le tableau ci-après.

Tableau 7. Résultats de l'activité antimicrobienne des antibiotiques, exprimés par diamètre de la zone d'inhibition en mm.

| | Amoxicilline | Pénicilline | Gentamicine |
|-------------------------------|--------------|-------------|-------------|
| <i>Micrococcus luteus</i> | <6 | 7 | 19 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 20 | 10 | 18 |
| <i>Escherichia coli</i> | <6 | <6 | 21 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <6 | <6 | 14 |
| <i>Streptococcus sp.</i> | 31 | 20 | 20 |

Les résultats indiquent que le degré de sensibilité de chaque bactérie vis-à-vis les antibiotiques testés, est différent d'une espèce à une autre. Les caractéristiques des zones d'inhibition révèlent que :

- ❖ *Staphylococcus aureus* (ATTC 25923) et *Streptococcus sp.* sont sensibles à tous les antibiotiques testés.
- ❖ *E. coli* (ATTC 25922) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATTC 27853) présentent une sensibilité à la gentamicine seulement.
- ❖ *Micrococcus luteus* (ATTC 9314) est résistante à l'amoxicilline.

3.2. Résultats de l'activité antibactérienne

La méthode de diffusion sur disques (antibiogramme) nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des extraits (hydro-méthanolique et hydro-éthanolique) et les huiles essentielles vis-à-vis les cinq bactéries utilisées. Les moyennes des zones d'inhibition de chaque extrait sont indiquées dans les tableaux 8, 9 et 10 suivants :

a. Pour l'extrait hydro-méthanolique

Les résultats obtenus concernant l'effet de l'extrait hydro-méthanolique de *B. incrassatum* sur les souches testées sont illustrés dans le tableau 8.

Tableau 8. Diamètres en mm des zones d'inhibitions de l'extrait hydro-méthanolique.

| | 25% | 50% | 75% | 100% | Amoxicilline | Pénicilline | Gentamicine |
|--------------------------|------------|------------|------------|------------|--------------|-------------|-------------|
| <i>M. luteus</i> | 15±1,73 | 15,66±1,15 | 16±1,73 | 18±1 | <6 | 7 | 19 |
| <i>S. aureus</i> | 9±1,73 | 14±1 | 18,33±1,52 | 21±1,73 | 20 | 10 | 18 |
| <i>E. coli</i> | 11±1 | 14±1,73 | 14,66±1,15 | 18,33±0,57 | <6 | <6 | 21 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 17,33±1,15 | 21±1 | 27,33±1,15 | 30,33±1,52 | <6 | <6 | 14 |
| <i>Streptococcus sp.</i> | 11,33±0,57 | 14,33±1,15 | 17±1 | 19,33±0,57 | 31 | 20 | 20 |

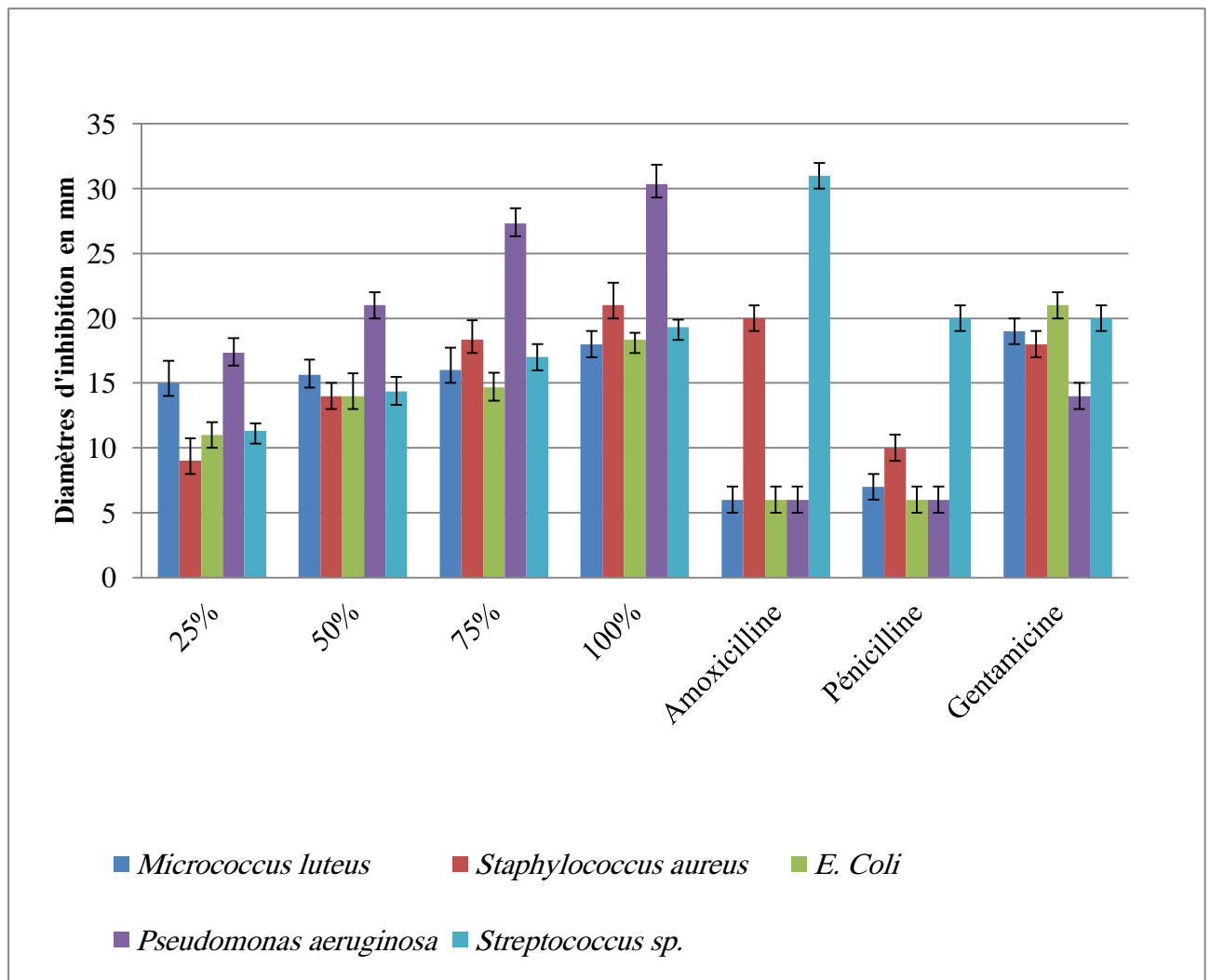


Figure 19. Activité antibactérienne de l'extrait hydro-méthanolique avec chaque souche.

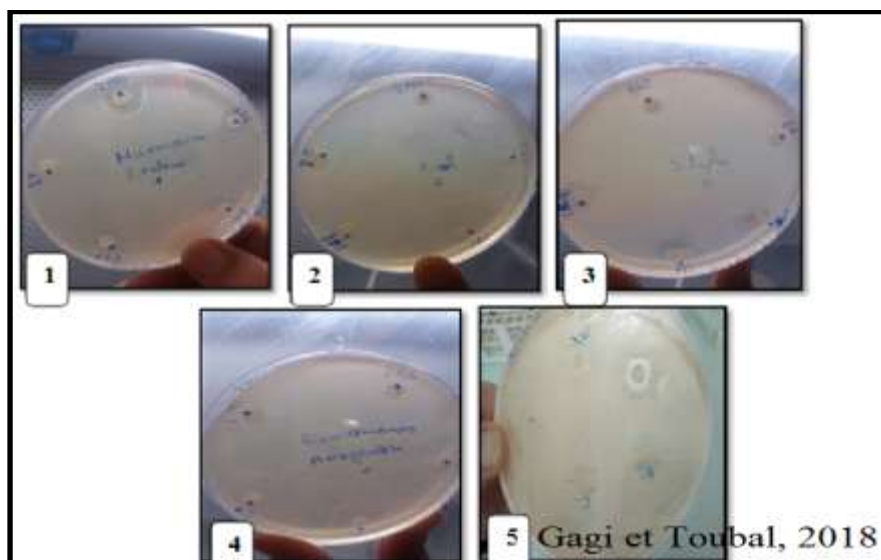


Photo 3. L'activité antibactérienne de l'extrait hydro-méthanolique sur les bactéries (1: *M. luteus*, 2: *E. coli*, 3 : *S. aureus*, 4 : *P. Aeruginosa*, 5: *Streptococcus* sp.) (Original).

D'après les résultats présentés dans le tableau 8, les souches bactériennes testées ont présenté des différents degrés de sensibilité pour toutes les dilutions préparées. Les diamètres des zones d'inhibition enregistrés varient entre 9 et 30,33 mm. Avec la dilution 100%, *P. aeruginosa* (30,33mm) et *S. aureus* (21mm) possèdent des meilleures valeurs de sensibilités par rapport aux *Streptococcus* sp. (19,33mm), *E. coli* (18,33mm) et *M. luteus* (18mm). L'effet de l'extrait hydro-méthanolique sur *P. aeruginosa* est supérieur aux effets des antibiotiques testés, et son effet sur *S. aureus* est similaire à l'effet de l'amoxicilline, ainsi son effet sur *Streptococcus* sp. est similaire aux effets de la gentamicine et de la pénicilline.

b. Pour l'extrait hydro-éthanolique

Les résultats obtenus concernant l'effet de l'extrait hydro-éthanolique de *B. incrassatum* sur les cinq souches testées sont illustrés dans le tableau 9.

Tableau 9. Diamètres en mm des zones d'inhibitions de l'extrait hydro-éthanolique.

| | 25% | 50% | 75% | 100% | Amoxicilline | Pénicilline | Gentamicine |
|--------------------------|-----------|------------|------------|------------|--------------|-------------|-------------|
| <i>M. luteus</i> | 7±0 | 10,33±2,51 | 13,66±2,08 | 14±1 | <6 | 7 | 19 |
| <i>S. aureus</i> | 6,33±0,57 | 8,33±1,15 | 9±1,73 | 11,66±2,88 | 20 | 10 | 18 |
| <i>E. coli</i> | 8±0 | 8,33±0,57 | 8,66±0,57 | 10,33±0,57 | <6 | <6 | 21 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 11±1 | 13,33±2,08 | 15,33±0,57 | 18,33±1,52 | <6 | <6 | 14 |
| <i>Streptococcus</i> sp. | 8,33±2,3 | 10,33±0,57 | 14,33±2,88 | 17,33±1,15 | 31 | 20 | 20 |

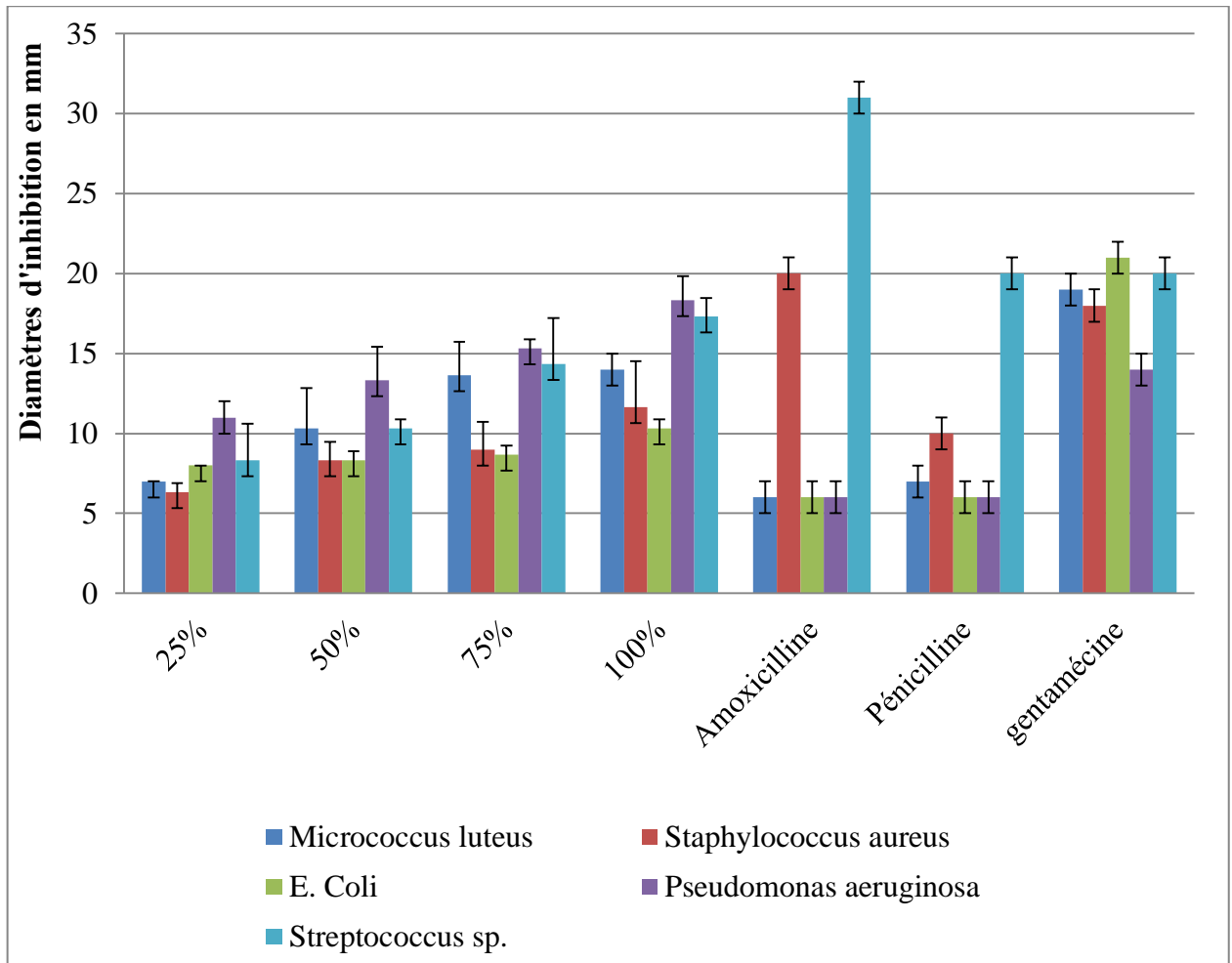


Figure 20. Activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique avec chaque souche.

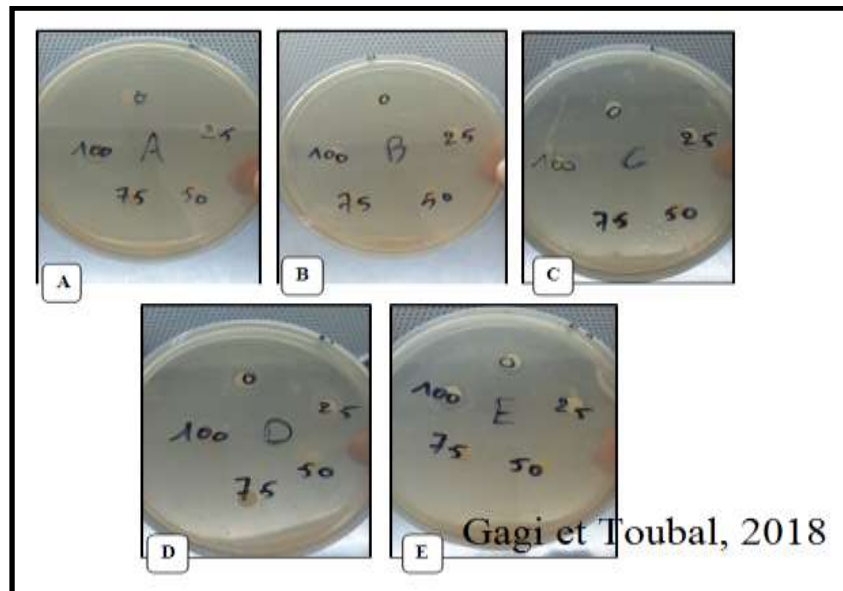


Photo 4. L'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique sur les bactéries (A : *E. coli*, B : *S. aureus*, C : *P. Aeruginosa*, D : *Streptococcus sp.*, E : *M. luteus*) (Original).

Les résultats obtenus montrent que l'activité antibactérienne varie en fonction de la bactérie cible. Il s'avère que toutes les bactéries testées ont été sensibles vis-à-vis des quatre dilutions de l'extrait hydro-éthanolique. Avec la dilution 100%, *P. aeruginosa* (18,33mm) et *Streptococcus* sp. (17,33mm) ont enregistré les meilleures valeurs de sensibilités par rapport aux *M. luteus* (14mm) et *E. coli* (10,33mm).

L'effet de l'extrait hydro-éthanolique sur *P. aeruginosa* est supérieur aux effets des antibiotiques testés, ainsi son effet sur *M. aureus*, *E. coli* est supérieur aux effets de l'amoxicilline et de la pénicilline.

Ces résultats montrent que l'extrait hydro-méthanolique et éthanolique du *B. incrassatum* a agi positivement sur la totalité des souches bactériennes ce qui est en concordance avec ce qui a été rapporté par Bousetla *et al.* (2011), dont, ils ont constaté que l'extrait hydro-méthanolique de *B. incrassatum* a un effet antibactérien notable.

Ainsi, les figures 19 et 20 montrent clairement l'augmentation du diamètre des zones d'inhibition correspond à une augmentation de la concentration de l'extrait appliquée.

Les résultats observés révèlent qu'un effet important antibactérien a été exercé par l'extrait hydro-méthanolique vis-à-vis *P. aeruginosa* avec une zone d'inhibition de 30,33mm. Néanmoins, Bousetla *et al.* (2011) trouvaient que *S. aureus* présente une forte sensibilité envers l'extrait hydro-méthanolique de *B. incrassatum* beaucoup plus que *P. aeruginosa*.

D'après ces résultats on a observé que l'activité antibactérienne est bien significative dans l'intervalle entre 9 et 30,33 mm. Par contre, les travaux réalisés antérieurement sur la partie aérienne de *B. incrassatum* par Boukezata (2014) ont signalés que l'activité antibactérienne n'est pas significative avec un intervalle entre 6 et 17 mm (généralement faible).

c. Pour les huiles essentielles

Les résultats obtenus concernant l'effet des huiles essentielles de *B. incrassatum* sur les souches testées sont illustrés dans le tableau 10.

Tableau 10. Diamètres en mm des zones d'inhibitions par les huiles essentielles.

| | 50% | 100% | Amoxicilline | Pénicilline | Gentamicine |
|--------------------------|------------|-----------|--------------|-------------|-------------|
| <i>M. luteus</i> | 11,33±1,15 | 14±1 | <6 | 7 | 19 |
| <i>S. aureus</i> | 7,66±1,15 | 9,66±1,15 | 20 | 10 | 18 |
| <i>E. coli</i> | 7±0 | 8,66±1,15 | <6 | <6 | 21 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 11±1,15 | 11,33±0,5 | <6 | <6 | 14 |
| <i>Streptococcus sp.</i> | 6,33±0,57 | 7±1 | 31 | 20 | 20 |

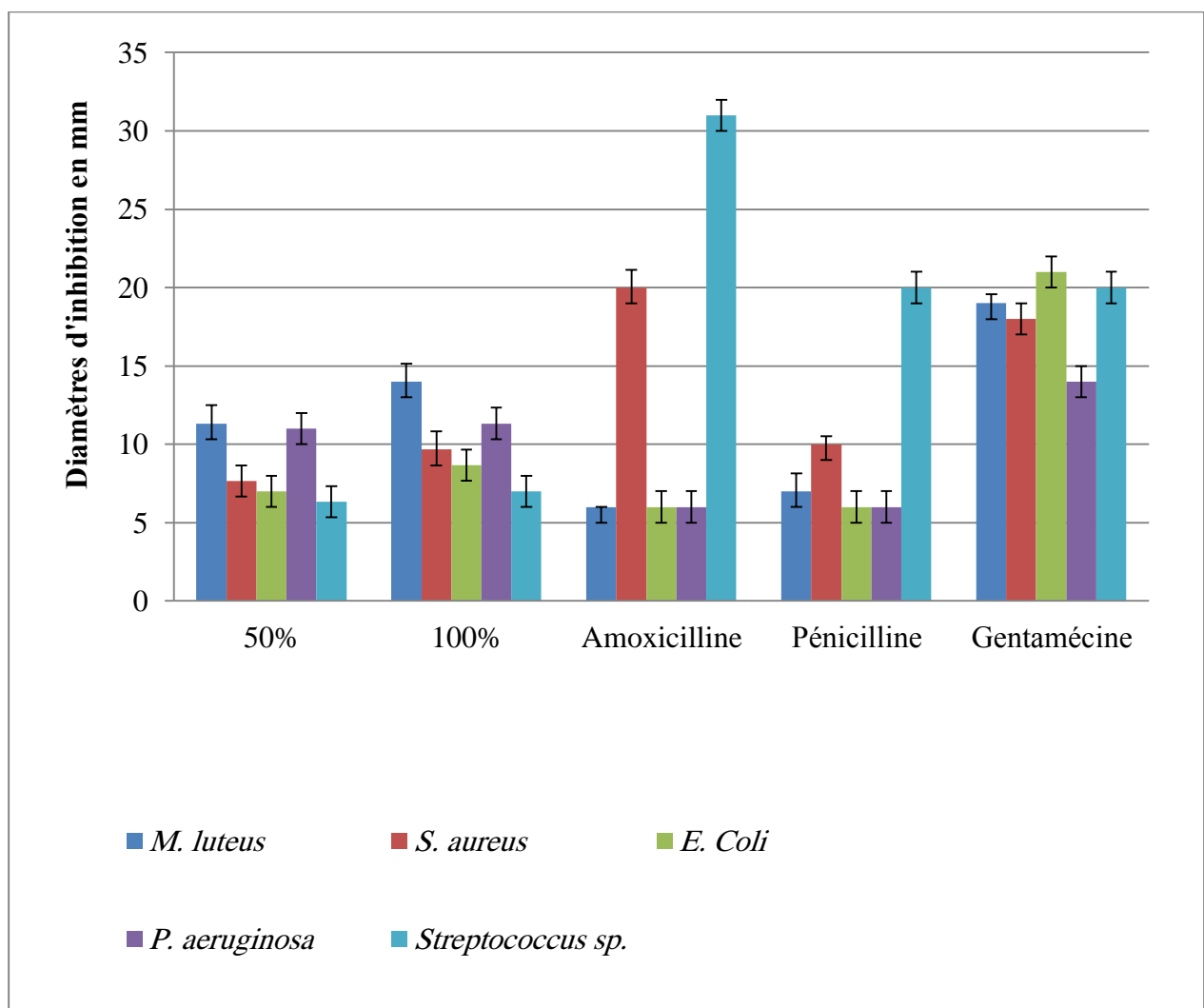


Figure 21. Activité antibactérienne des huiles essentielles avec chaque souche.

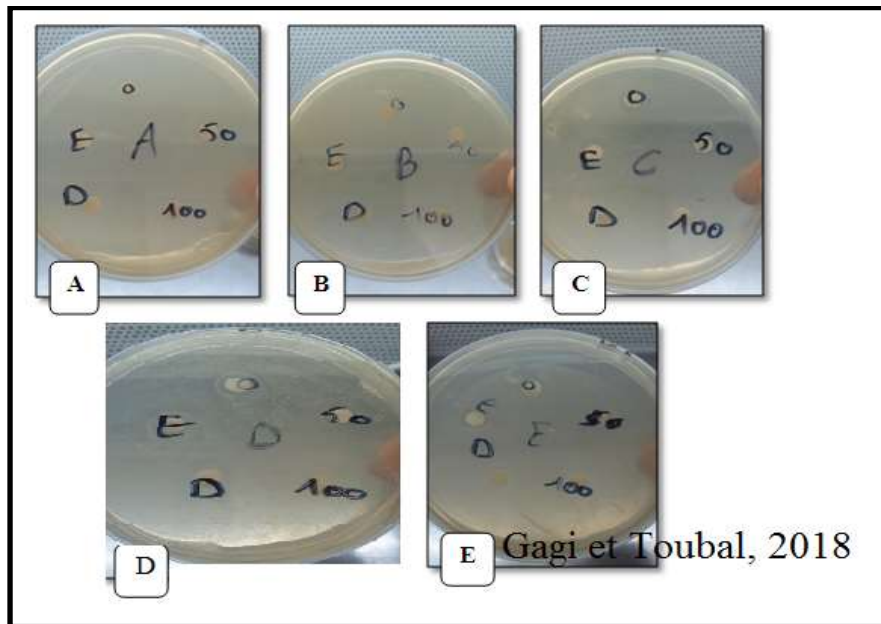


Photo 5. L'activité antibactérienne des huiles essentielles sur les bactéries (A : *E. coli*, B : *S. aureus*, C : *P. Aeruginosa*, D : *Streptococcus* sp., E : *M. luteus*) (Original).

Le screening des propriétés antibactériennes des huiles essentielles de la plante étudié révèle une activité vis-à-vis l'ensemble des souches testées avec une légère différence de sensibilité entre les bactéries à Gram+ et à Gram-.

Les huiles essentielles de la partie racinaire de *B. incrassatum* ont montré un effet sur toutes les bactéries, dont les diamètres d'inhibition sont compris entre 6,33 et 14mm. Par ailleurs, on note aussi que l'augmentation du diamètre de la zone d'inhibition augmente directement avec l'augmentation de la concentration des huiles essentielles.

M. luteus a été la plus inhibée avec une zone d'inhibition de 14mm, ensuite, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, et *Streptococcus* sp. Avec des zones d'inhibitions de 11.33, 9.66, 8.66 et 7mm, respectivement à la dilution 100%. L'effet des huiles essentielles sur *M. luteus* et *P. aeruginosa* est supérieur aux effets de l'amoxicilline et de la pénicilline, et son effet sur *S. aureus* est similaire à l'effet de la pénicilline.

Les huiles essentielles de la partie racinaire de *B. incrassatum* n'a pas présenté une activité antibactérienne intéressante. Cette faible efficacité est due probablement aux pertes des composés volatils des huiles essentielles durant le stockage et/ou l'extraction.

Selon Chemloul (2014), la faible efficacité pourrait être aussi due au fait qu'au cours de la période d'incubation, quelques composants volatils des huiles peuvent s'évaporer des milieux de culture, ce qui diminuerait sa concentration, et par la suite son activité antibactérienne.

A notre connaissance, aucune étude antimicrobienne sur les huiles essentielles de la partie racinaire de *B. incrassatum* d'Algérie n'a été réalisée. Nos résultats représentent les premières données obtenues.

Les études sur les mécanismes d'action de l'activité des huiles essentielles sont presque en nombre négligeable. Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action des huiles essentielles. Il est très probable que chacun des constituants des huiles essentielles a son propre mécanisme d'action. D'après Merouane (2013), l'action des huiles essentielles se déroule généralement en trois phases :

- Attaque de la paroi bactérienne par les huiles essentielles, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est vraiment difficile à corréler à un composé particulier en raison de leur complexité et de leur variabilité (Cowan, 1999). D'après les travaux antérieures réalisées par Djedai et Yezza (2016) et Labiod (2016), les bactéries à Gram (+) sont plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries à Gram (-). La tolérance des bactéries Gram (-) aux huiles essentielles a été attribuée à la présence d'une membrane hydrophile externe qui bloque la pénétration des huiles hydrophobes dans la membrane de la cellule cible. En revanche, cela n'est pas toujours juste, car la sensibilité des bactéries est, en fait, dépendante des huiles essentielles utilisées (Merouane, 2013).

D'après Cosentino *et al.* (1999) et Gulfranz *et al.* (2008), l'activité antimicrobienne de toutes les huiles essentielles est assignée aux terpénoïdes et aux composés phénoliques.

D'après tous ces résultats obtenus, on peut conclure que l'extrait hydro-méthanolique de la partie racinaire de *B. incrassatum* présente une meilleure activité antibactérienne par rapport à l'extrait hydro-éthanolique et les huiles essentielles. La différence d'activité entre ces extraits pourrait s'expliquer par la nature des molécules contenues dans chacune d'elles. On pourrait en déduire que le méthanol permet une bonne extraction des principes actifs contenu dans la plante.

CONCLUSION

Conclusion

A l'heure actuelle, les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme une source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments.

Notre travail a porté sur la partie racinaire d'une espèce médicinale *Bunium incrassatum* de la famille des Apiaceae, qui pousse à l'état spontané dans le nord algérien.

Afin de comprendre l'utilisation traditionnelle de *B. incrassatum* par la population locale nous avons réalisé une enquête ethnobotanique, un criblage phytochimique, une extraction des huiles essentielles, et ainsi qu'un test d'antibiogramme.

L'enquête ethnobotanique a permis de révéler une multitude de résultats. Ou nous avons constaté que environ 95,55% des personnes enquêtés utilisent les plants médicinales généralement et environ 81,3% des personnes ont déjà utilisé Talghouda comme traitement des angines. Ces personnes sont majoritairement âgées de plus de 40 ans. Également, nous avons constaté que les plantes médicinales attirent plus l'attention des femmes qui connaissent mieux ses valeurs et effets.

Le screening phytochimique a montré la présence des tanins, des terpénoïdes, des coumarines, des stéroïdes et des composés réducteurs. Ainsi, l'extraction de la partie racinaire de la plante a permis d'obtenir des rendements qui sont différentes en fonction des solvants utilisés et des méthodes d'extraction utilisés (22,25% pour l'extrait aqueux, 20,93% pour l'extrait hydro-méthanolique, 8,18% pour l'extrait hydro-éthanolique et 0,45% pour les huiles essentielles).

L'évaluation de l'activité antibactérienne selon la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme) a montré que les extraits hydro-méthanolique, hydro-éthanolique et les huiles essentielles de la partie racinaire de *B. incrassatum* possèdent une activité antibactérienne notable contre les cinq bactéries utilisées dans la présente étude. Avec parfois une activité antibactérienne meilleure que celle mesuré chez les antibiotiques de référence (amoxicilline, la pénicilline et la gentamicine) comme dans le cas de l'activité antibactérienne observé sur *P. aeruginosa* avec une zone d'inhibition de 30,33mm.

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche et l'étude des substances naturelles biologiquement actives contenues dans la plante spontanée *B. incrassatum*, ainsi l'activité biologique observée *in vitro* durant la réalisation de ce travail n'exprime pas l'activité réelle chez le patient. Donc il convient de toujours garder un œil critique vis-à-vis les résultats trouvés.

Dans cette optique, nous proposons de compléter ce travail par des études et des recherches plus approfondies pour le futur, telle que :

- Une étude de l'activité antibactérienne de *Bunium incrassatum* sur la souche *Streptococcus pyogenes* (la souche incriminée dans la majorité des cas des angines bactériennes).
- Une étude de l'activité anti-inflammatoire de *Bunium incrassatum*.
- Une étude *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes de cette plante.
- L'évaluation des seuils de la toxicité et d'efficacité.
- Mener des études plus approfondies sur la nature chimique et biochimique des principes actifs contenus dans la plante en utilisant des méthodes plus sophistiquées et plus précises telles que : l'HPLC et RMN.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- **Abdelli W. (2017).** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de Doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, 165p.
- **Adouane S. (2016).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès. Mémoire de Magistère. Université Mohamed Khider, Biskra, 209p.
- **Agence Nationale d'Intermédiation et de Régulation Foncière. (2011).** Rubrique Monographie wilaya de Ghardaïa. 6p.
- **Agence Nationale de Développement de l'Investissement. (2015).** Wilaya de Ghardaïa. 19p.
- **Ait Ouakrouch I. (2015).** Enquête ethnobotanique à propos des plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète de type II à Marrakech. Thèse de Doctorat. Université Cadi Ayyad, Marrakech, 92p.
- **Aref M. et Heded M. (2015).** Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydant et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf). Mémoire de Master. Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, 78p.
- **Bakiri N., Bezzi M., Khelifi L. et Khelifi-Slaoui M. (2016).** Enquête ethnobotanique d'une plante médicinale *Peganum harmala* L. dans la région de M'Sila. *Revue Agriculture*. 1 : 38-42.
- **Bannerman T. L. et Peacock S. J. (2007).** *Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase- Positive Cocci*. In: P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry et M. A. Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed., Washington, USA: ASM Press, pp 390-404.
- **Békro Y.A., Janat A., Békro M., Boua B. B., Trabi F.H. et Éhilé E. (2007).** Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *caesalpinia benthamiana* (baill.) herend et zarucchi (caesalpinaceae). *Sciences & nature*. 4(2) : 217 – 225.
- **Belhaj Soulami O. (2010).** Surcout de l'infection nosocomiale en réanimation médicale au chu ibn rochd (à propos de 10 cas), université sidi Mohammed ben Abdellah faculté de médecine et de pharmacie, Fès. 91 : 38-39.
- **Benjira L. (2016).** Etude de la prescription d'antibiotique chez l'enfant. Thèse de Doctorat. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Maroc, 165p.
- **Benzahi K. (2001).** Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la Plante *cynodn Dactylon* L. (chindent). Mémoire de Magister. Université d'Ouargla, P, 15-17.
- **Benzeggouta N. (2005).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Mémoire de Magister. Université Mentouri de Constantine. 18p.
- **Bouallala M., Bradai L. et Abid M. (2014).** Diversité et utilisation des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien dans la pharmacopée saharienne. Cas de la région du Souf. *Revue ElWahat pour les Recherches et les Etudes*. 7(2) : 16 – 24.
- **Boubekri C. (2014).** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de Doctorat. Université Mohamed Khider, Biskra, 176p.
- **Bouderba N. (2016).** Etude ethnobotanique, écologique et activités biologiques de la coloquinte (*Citrullus colocynthis* L.) et du contenu floristique de la région de Béchar. Thèse de Doctorat. Université Mustapha Stambouli, Mascara, 159p.
- **Bouderdara N. (2013).** Séparation et détermination de structures des métabolites secondaires de *Cachrys libanotis* L. Thèse de Doctorat. Université Mentouri, Constantine, 210p.

- **Boughrara B. (2016).** Inventaire et étude ethnobotanique et chimique des plantes à intérêts thérapeutique et nutritif du Parc national El- kala. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba, 144p.
- **Boukezata A. (2014).** La Composition chimique et l'activité antibactérienne d'une plante Algérienne (*Bunium Incrassatum*). Mémoire de Master. Université Ferhat Abbas, Sétif, 59p.
- **Boukri N.E.H. (2014).** Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Mémoire de Master. Université Kasdi Merbah, Ouargla, 81p.
- **Boumediou A. et Addoun S. (2017).** Étude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen (Algérie). Thèse de Doctorat. Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen, 92p.
- **Bousetla A., Zellagui A., Derouiche K. et Rhouati S. (2011).** Chemical constituents of the roots of Algerian *Bunium incrassatum* and evaluation of its antimicrobial activity. *Arabian Journal of Chemistry*, Arabie Saoudite. 8 : 313–316.
- **Bouvet A., Schlegel L. et Loubinoux J. (2007).** Streptococcaceae : *streptococcus*, *abiotrophia*, *granulicatella*, *enterococcus* et autres genres apparentes. *Précis de bactériologie clinique*. 45: 845-884.
- **Bouziane Z. (2017).** Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales de la région d'Azail (Tlemcen –Algérie). Mémoire de Master. Université Aboubakr Belkaïd, Tlemcen, 67p.
- **Bouzid A., Chadli R. et Bouzid K. (2016).** Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. *Phytothérapie*. 15: 373-378.
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie; Phytochimie; Plantes médicinales, 3ème édition ; Ed : Tec et Doc Paris.
- **Chaouch. (2001).** Etude des alcaloïdes dans la coloquinte *Colocynthis vulgaris* L Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N' sa (Wilaya de Ouargla). Mémoire de Magister. Université d'Ouargla. 44p.
- **Chemloul F. (2014).** Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* de la région de Tlemcen. Mémoire de Master. Université d'Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, 43p.
- **Chibi A. (2015).** Evaluation de formation de biofilm par *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* isolées de CHU Tlemcen. Mémoire de Magister. Université Aboubekr Belkaid, Tlemcen, 60p.
- **Cosentino S., Tuberoso C.I.G., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E. et Palmas F. (1999).** In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils, *Letters in Applied Microbiology*, p.130-135.
- **Daroui-Mokaddem, H. (2012).** Etude phytochimique et biologique des espèces *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniium olusatrum* (Apiaceae), *Asteriscus maritimus* ET *Chrysanthemum trifurcatum* (Asteraceae). Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba, 193p.
- **Delamare G. (1999).** Dictionnaire des termes de médecine. 25ème édition, Maloine, Paris.
- **Denis F. (2002).** Les bactéries, champignons et parasites transmissibles de la mère à l'enfant. *John Libbey Eurotext, Paris*, 484p.
- **Deysson G. (1979).** Organisation et classification des plantes vasculaires, cours de botanique générale quatrième série, tome II, Paris, 529 p.
- **Dialla D. (2000).** Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Azoaceae), *Diospyros abyssinica* (Eblanceae), *Entada africana* (Meliaceae). Thèse de Doctorat. Université de Lausanne, Lausanne Suisse.

- **Djediai R. et Yezza S. (2016).** Analyse physicochimique et activités biologiques des huiles essentielles de quelques épices. Mémoire de Master. Université Kasdi Merbah, Ouargla, 69p.
- **Dohou N. (2004).** Approche floristique, ethnobotanique, phytochimique et étude de l'activité biologique de *thymeleae lythroides*. Thèse de Doctorat, Maroc, 59 p.
- **Domart A. et Bourneuf J. (1988).** Nouveau Larousse des plantes médicinales. Librairie Larousse. Paris.
- **Dupont F. et Guignard J.L. (2007).** Systématique moléculaire, Abrégé de botanique, 14e édition, Masson, Issy-les-moulineaux, 285 p.
- **Duquenois P. (1967).** Coumarins et Dérivés : Répartition Dans le Règne Végétal et Biosynthèse *Pharm. Weekblad.* 102- 443.
- **El Hilah F., Ben Akka F., Dahmani J., Belahbib N. et Zidane L. (2015).** Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des infections du système respiratoire dans le plateau central marocain. *Journal of Animal & Plant Sciences.* 25(2) : 3886-3897.
- **El Kolli H. et El Kolli M. (2017).** Se soigner et se nourrir par des plantes médicinales utilisées par la population algérienne Exemple de *Bunium incrassatum* (Talghouda d'Algérie) in(.) 2^{ème} jour de Séminaire International sur : Phytodiversité et Plantes d'intérêt écologique et économique en Algérie. Inventaire, Conservation et Valorisation SIPA.ICV17, M'Sila. pp.147-148, le 30/10/2017.
- **Elodie G. (2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat. Life Sciences. Université de Corse, France. 5p.
- **Filliat P. (2012).** Les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs. Mémoire de Doctorat. Université Joseph Fourier, France, 91p.
- **Fomba M. (2006).** Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des *Acinetobacter* et des *Staphylococcus* a coagulasse négatif à l'hôpital du point G. Thèse de Doctorat.
- **Gahbiche S. (2009).** La phytothérapie. Certificat Thalassothérapie. Ecole supérieure des sciences et techniques de la sante de Sousse, 7p.
- **Goumni Z. et Salhi A. (2013).** Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extrait de la plante *Laurus nobilis L.* Mémoire de Master. Université Kasdi Merbah, Ouargla, 41p.
- **Griffin S.G., Wyllie S.G., Markham J.L. et Leach D.N. (1999).** The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour and fragrance journal.* 14 : 322-332.
- **Gulfraz M., Mehmood S., Minhas N., Jabeen N., Kausar R., Jabeen K. et Arshad G. (2008).** Composition and antimicrobial properties of essential oil of *Foeniculum vulgare*, *African Journal of Biotechnology.* 7 (24): 4364 - 4368.
- **Harborne JB. (1998).** Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. Third Edition. pp 203-214.
- **Hill R.A. (1993).** In the chemistry of natural products, 2nd Edition Ed.R.H.Thomson, Blackie, Glasgow. 124p.
- **Hsiou Y.D., Yang Ch.W. et Hang Ch.L. (2000).** *Journal of the chinese chemical society,* 47: 561-566.
- **Hyun J., Hyun J.K. et Hyang S. C. (2007).** Quantitative structure-activity relationship (QSAR) for neuroprotective activity of terpenoids. *Life sciences.* 80 : 835-841.
- **Ilbert H., Hoxha V., Sahi L., Courivaud A. et Chailan C. (2016).** Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie. *OPTIONS méditerranéennes.* 73 : 220p.

- **Jarlier V. (2004).** Bactéries multirésistantes dans les hôpitaux français : Des premiers indicateurs au réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin). *Bull Epidemiol Hebdo*, 32-33 : 148-151.
- **Jassbi A. R., Mehrdad M., Soleimani M., Mirzaeian M. et Sonboli A., (2005).** Chemical Composition of the essential oils of *Bunium elegans* and *Bunium caroides*. *Chemistry of Natural Compounds*. 41: 415–417.
- **Kebièche M., Lakroun Z., Mraïhi Z et Soulimani R. (2011).** Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Phytothérapie*. 9: 274-282.
- **Kemassi A., Darem S., Cherif R., Boual Z., Sadine S. E., Aggoune M. S., Ould El Hadj Khelil A. et Ould El Hadj M. D. (2014).** Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M'Zab (Sahara septentrional Est Algérien). *Journal of Advanced Research in Science and Technology*. 1 : 1-5.
- **Kissoum A. et Khalfaoui K. (2015).** Evaluation phytochimique et étude des activités biologiques d'une plante médicinale Algérienne (*Foeniculum vulgare*). Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri, Constantine, 56p.
- **Kocur M., Kloos W. E. et Schleifer K. H. (2006).** The Genus *Micrococcus*. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer et E. Stackebrandt (Eds.) *The Prokaryotes*. New York: Springer. 3rd ed. pp. 961-971.
- **Labiod R. (2016).** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydant et activité fongicide. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba, 115p.
- **Laib I. (2011).** Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs. Mémoire de Magister. Université Mentouri Constantine. p23, 25- 27.
- **Lamamra M. (2011).** 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. Mémoire de Magister. Université Ferhat Abbas, Sétif, 107p.
- **Le Loir Y. et Gantier M. (2009).** *Staphylococcus aureus*. Lavoisier, Paris, 300p.
- **Leclerc H, Gaillard J.L. et Simonet M. (1995).** Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.
- **Lefahal M. (2014).** Etude phytochimique, biologique et activité anticorrosion de trois plantes médicinales Algériennes appartenant aux familles Plumbaginaceae, Tamaricaceae et Apiaceae. Thèse de Doctorat. Université de Constantine 1, Constantine, 127p.
- **Lehout R. et Laib M. (2015).** Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri, Constantine, 59p.
- **Margot P. et Chantal G. (2009).** Les infections nosocomiales - Agir ensemble pour des milieux cliniques sains et sécuritaires, La gestion des risques 1re partie ; p : 1-19.
- **Mehdioui S. et Kahouadji A. (2007).** Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forêt d'Amsittène : cas de la Commune d'Imi n'Tlit (Province d'Essaouira). *Bulletin de l'Institut Scientifique*, Rabat. 29 : 11-20.
- **Merouane A.E. (2013).** Caractérisation, activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de trois espèces de sauges (*Salvia algeriensis*, *Salvia argentea* et *Salvia barrelieri*). Mémoire de Magister. Université Hassiba Ben Bouali, Chlef, 88p.
- **Mibindzou Mouellet A. (2004).** Screening phtochimique de deux espèces de plantes : *Crotalia retusa* L. (papilionaceae) et *Hallea ciliata* Aubrev et Pellegrer (rubiaceae) récoltées au Gabon. Thèse de Doctorat, Mali, 58 p.

- **Ministère de la santé et des solidarités. (2006).** Guide de prévention des infections liées aux soins en chirurgie dentaire et en stomatologie, DGS, France ; p : 72.
- **Mohammedi. (2013).** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie. 169 p.
- **Murakami A., Tanaka T., Lee J.Y., Surch Y.J., Kim H.W., Kawabata K., Nakamura Y., Jiwajinda S. et Ohigashi H. (2004).** Zerumbone, Asesquiterpene en subtropical ginger, supresses skin tumor initiation and promotion stages in ICR mice. *International journal of cancer.* 110 : 481-490.
- **Natarajan D., John Britto S., Srinivasan K., Nagamurugan N., Mohanasundari C. et Perumal G. (2005).** Anti-bacterial activity of *Euphorbia fusiformis* -A rare medicinal herb. *J-Ethnopharmacol.* 102 : 123-126.
- **Nukaga M, Mayama K, Hujer A-M, Bonoma R-A, Knox J-R. (2003).** Ultrahigh resolution of class A beta-lactamase: on the mechanism and specificity of the extendedspectrum SHV-2 enzyme. *J.Mol.Biol.* 328 : 289-301.
- **Ould El Hadj M. D., Hadj Mahammed M., Zabeirou H. (2003).** Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d'Ouargla (Sahara septentrional Est). *Courrier du Savoir.* 3 : 47-51.
- **Phohl Leszkowicz A. (1999).** Les mycotoxines dans l'alimentation, évaluation et gestion du risque, Tec & Doc : Paris.
- **Quezel P., Santa S. (1963).**Nouvelle flore de l'Algerie et des regions desrtiques méridionales.CNRS, Paris.
- **Ribereau Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux, Dunod, Paris, p254.
- **Roulet A. et Milovanovic N. (2015).** *Streptococcus* & VITEK 2 Revêt ou réalité ? Travail de diplôme. Institut de microbiologie - Centre hospitalier universitaire Vaudois, France, 51p.
- **Sebai M. et Boudali M. (2012).** La phytothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire professionnel infirmier. Institut de formation paramédical CHETTIA, Algérie, 56p.
- **Taniguchi M., Yanai M., Xiao Q. Y., Kido T. et Baba K. (1996).** Three Isocoumarins from *Coriandrum sativum*. *Phytochemistry, Japan.* 42(3), 843p.
- **Toure D. (2015).** Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte D'Ivoire. Thèse de Doctorat. L'Université Félix Houphouët-Boigny, Côte D'ivoire. 116p.
- **Trease E. et Evans W.C. (1987).** Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London 13th ed.
- **Tsao R. et Coats J.R. (1995).** Starting from nature to make better insecticides. *Chemtech.* 25 : 23-28.
- **Turkmen N., Velioglu Y.S., Sari F. et PolaT G. (2007).** Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules.* 12 : 484-496.
- **Valdés L.J. (1994).** *A.J.Psycoactive Drugs.* 26 : 277-283
- **Velicković A.S., Ristić M.S., Veliković D.T., Ilićand S.N. et Mitić N.D. (2003).** *J.Serb.Chem.Soc.*68(6) : 435-445.
- **World Health Organization. (2002).** Prevention of hospital-acquired infections: A practical guide. 2nd edition, Duce G., Fabry J., Nicolle L editors, Geneva-Lyon-Winnipeg, 72p.
- **Zeghad N. (2009).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister. Université Mentouri, Constantine, 96p.
- **Zeghouane H. (2014).** Essai de caractérisation phytochimique des extraits de quelques plantes médicinales du Sahara septentrional Est- Algérien. Mémoire de Magister. Université d'Ouargla, 54p.

Sites Web :

- **Ben Ziane A. et Yousfi I.** (Page consulté le 14 Janvier 2018). *Bunium incrassatum* (Boiss) Batt. et Trab, [site web] ([en ligne]), URL : <https://sites.google.com/site/pastoraldz/plantes-medicinales/enquete-ethnobotanique/resultats/bunium-incrassatum-boiss-batt-et-trab>.
- **United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization**, (page consulté le 14 Avril 2018). Ghardaïa, [site web] ([en ligne]), URL: <http://whc.unesco.org/fr/list/188>.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Matériel et produits de laboratoire

| Matériel | produits |
|--|--------------------------------|
| Autoclave (HIRAYAMA) | Alcool isoamylique |
| Bain marie (Wise Bath®) | Ammoniac |
| Balance électrique (OHAUS®) | Anhydre acétique |
| Bec Bunsen | Chloroforme |
| Broyeur électrique (IKA®) | CuSO ₄ |
| Disques des antibiotiques (Bioanalyser) | DMSO |
| Hotte à flux laminaire (BIOBASE) | Ethanol |
| Incubateur (Raypa®) | FeCl ₃ |
| Montage d'hydrodistillation (MEDLINE) | Formol 35% |
| pH-mètre (ADWA) | H ₂ SO ₄ |
| Plaque chauffant (VELP®) | HCl |
| Rotavapor (Heidolph) | HgCl |
| | Iode |
| | KI |
| | Liqueur de Fehling |
| | Magnésium |
| | Méthanol |
| | Milieu de culture TSA |
| | NaOH |
| | NH ₄ OH |
| | Réactif de Mayer |
| | Réactif de Stiasny |
| | Réactif de Wagner |
| | SbCl ₃ |

ANNEXE 2 : La fiche questionnaire de l'enquête ethnobotanique



Université de Ghardaïa



Fiche questionnaire

Le but de ce questionnaire est de déterminer l'intérêt de la population local de traitée par les plantes médicinales.

- 1) L'âge :
- 2) Sexe : Homme Femme
- 3) Utilisez-vous des plantes médicinales pour traiter certaines maladies? Oui Non
- 4) Quels sont les types des maladies traitées par les plantes médicinales ?

.....
.....

- 5) Avez-vous déjà utilisé la plante Talghouda ? Oui Non
- 6) Pour traiter quoi ?

.....
.....

- 7) Quelle est la méthode d'utilisation ? Avec l'eau Avec le miel
Avec le lait Autre.....

- 8) Quelle est la durée de traitement? (Les jours).....

- 9) Quelle est la quantité utilisée (posologie) ? Une cuillère Deux cuillères
Trois cuillères Plus

- 10) Est-ce qu'elle est efficace ? Oui Non

- 11) Est-ce qu'elle a des effets indésirables ? Oui Non

- 12) Si oui, quelles sont ?

.....



جامعة غرداية



استبيان

هذا الاستبيان هدفه معرفة مدى اهتمام المجتمع بالعلاج بالأعشاب الطبية:

1. العمر:
2. الجنس: ذكر أنثى
3. هل تستعمل الأعشاب الطبية في علاج بعض الأمراض؟ نعم لا
4. ما هي أنواع الأمراض التي تعالجها بالأعشاب الطبية؟
.....
.....
5. هل سبق لك أن استعملت عشبة التلخودة؟ نعم لا
6. في علاج ماذا؟
.....
.....
7. ما هي طريقة الاستعمال؟
 مع الماء مع العسل مع الحليب أخرى :
8. ما هي مدة العلاج؟ (بالأيام)
9. ما هي الكمية المتناولة يوميا؟ ملعقة ملعقتين ثلاث أكثر
10. هل كانت النتيجة إيجابية؟ نعم لا
11. هل لديها أضرار جانبية؟ نعم لا
12. إذا كانت الإجابة نعم ما هي؟
.....

ANNEXE 3 : Milieu de culture bactérienne Trypticase Soja Agar (TSA)

Les bactéries ont besoin pour se développer d'un milieu nutritif plus ou moins spécifique et comportant les éléments suivants : carbone, azote organique, minéraux et des facteurs de croissance.

La composition de milieu de culture TSA

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone 15,0 g
- Peptone papainique de soja 5,0 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- Agar agar bactériologique 15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : $7,3 \pm 0,2$.

Mettre en suspension 40,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée. Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution. Répartir en tubes ou en flacons. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

ANNEXE 4 : Protocole d'antibiogramme

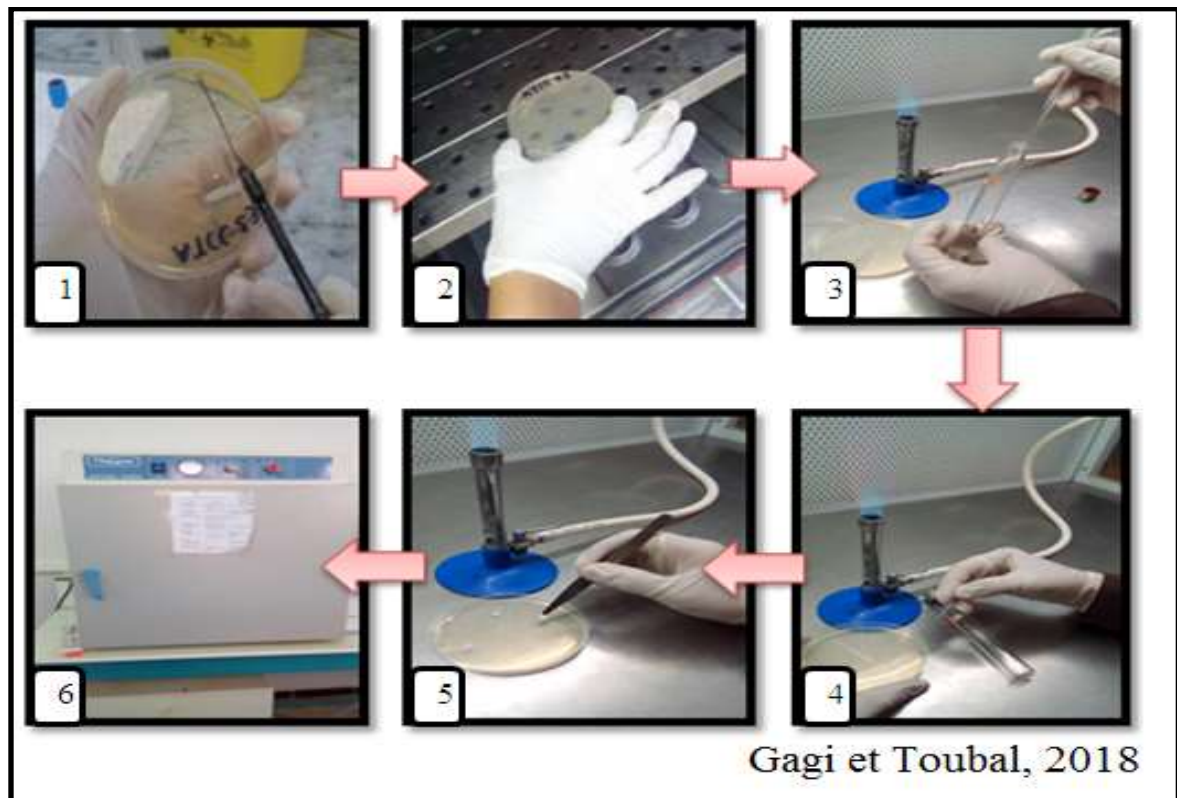


Photo 6. Les étapes de l'antibiogramme (1 : repiquage, 2 : Incubation 3 : Préparation d'inoculum, 4 : ensemencement, 5 : application des disques, 6 : Incubation) (Original).

ANNEXE 5 : Rendement des extraits brut

Tableau 11: Rendement de l'extrait hydro-méthanolique,hydro-éthanolique et aqueux .

| Méthode d'extraction (Macération) | Poids d'extrait sec (g) | Rendement (%) |
|---|--------------------------------|----------------------|
| Extrait hydro-méthanolique 80:20ml | 2,093±0,033 | 20,93% |
| Extrait hydro-éthanolique 80:20ml | 0,818±0,016 | 8,18% |
| Eau distillée 100ml | 2,225±0,19 | 22,25% |

Tableau 12: Rendement des huiles essentielles.

| Méthode d'extraction | Poids des huiles essentielles (g) | Rendement (%) |
|--|--|----------------------|
| Hydrodistillation 400g de la poudre | 1,844 | 0,45% |

ANNEXE 6 : Activité antibactérienne de l'extrait hydro-méthanolique

| <i>Micrococcus luteus</i> | Boite 1 | Boite 2 | Boite 3 | Moyenne | Ecartype |
|---------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|
| 17,44mg/ml | 17 | 14 | 14 | 15 | 1,73205081 |
| 34,88mg/ml | 17 | 15 | 15 | 15,6666667 | 1,15470054 |
| 52,32mg/ml | 18 | 15 | 15 | 16 | 1,73205081 |
| 69,76mg/ml | 19 | 18 | 17 | 18 | 1 |
| 0 mg/ml | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | 0 |
| Méthanol | <6 | <6 | <6 | <6 | 0 |

| <i>Staphylococcus aureus</i> | Boite 1 | Boite 2 | Boite 3 | Moyenne | Ecartype |
|------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|
| 17,44mg/ml | 10 | 10 | 7 | 9 | 1,73205081 |
| 34,88mg/ml | 15 | 14 | 13 | 14 | 1 |
| 52,32mg/ml | 20 | 17 | 18 | 18,3333333 | 1,52752523 |
| 69,76mg/ml | 23 | 20 | 20 | 21 | 1,73205081 |
| 0 mg/ml | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | 0 |
| Méthanol | <6 | <6 | <6 | <6 | 0 |

| <i>E. Coli</i> | Boite 1 | Boite 2 | Boite 3 | Moyenne | Ecartype |
|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|
| 17,44mg/ml | 12 | 10 | 11 | 11 | 1 |
| 34,88mg/ml | 12 | 15 | 15 | 14 | 1,73205081 |
| 52,32mg/ml | 16 | 14 | 14 | 14,6666667 | 1,15470054 |
| 69,76mg/ml | 19 | 18 | 18 | 18,3333333 | 0,57735027 |
| 0 mg/ml | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | 0 |
| Méthanol | <6 | <6 | <6 | <6 | 0 |

| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Boite 1 | Boite 2 | Boite 3 | Moyenne | Ecartype |
|-------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|
| 17,44mg/ml | 16 | 18 | 18 | 17,3333333 | 1,15470054 |
| 34,88mg/ml | 22 | 21 | 20 | 21 | 1 |
| 52,32mg/ml | 28 | 26 | 28 | 27,3333333 | 1,15470054 |
| 69,76mg/ml | 30 | 29 | 32 | 30,3333333 | 1,52752523 |
| 0 mg/ml | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | 0 |
| Méthanol | <6 | <6 | <6 | <6 | 0 |

| <i>Streptococcus sp.</i> | Boite 1 | Boite 2 | Boite 3 | Moyenne | Ecartype |
|--------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|
| 17,44mg/ml | 11 | 12 | 11 | 11,3333333 | 0,57735027 |
| 34,88mg/ml | 15 | 15 | 13 | 14,3333333 | 1,15470054 |
| 52,32mg/ml | 16 | 17 | 18 | 17 | 1 |
| 69,76mg/ml | 20 | 19 | 19 | 19,3333333 | 0,57735027 |
| 0 mg/ml | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | 0 |
| Méthanol | <6 | <6 | <6 | <6 | 0 |

ANNEXE 7 : Activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique

| <i>Micrococcus luteus</i> | Boite 1 | Boite 2 | Boite 3 | Moyenne | Ecartype |
|---------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|
| 10,23mg/ml | 7 | 7 | 7 | 7 | 0 |
| 20,45mg/ml | 8 | 13 | 10 | 10,33333333 | 2,51661148 |
| 30,68mg/ml | 12 | 13 | 16 | 13,66666667 | 2,081666 |
| 40,9mg/ml | 13 | 14 | 15 | 14 | 1 |
| 0 mg/ml | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | 0 |
| Ethanol | 9 | 9 | 10 | 9,33333333 | 0,57735027 |

| <i>Staphylococcus aureus</i> | Boite 1 | Boite 2 | Boite 3 | Moyenne | Ecartype |
|------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|
| 10,23mg/ml | <6 | <6 | 7 | 6,33333333 | 0,57735027 |
| 20,45mg/ml | 9 | 9 | 7 | 8,33333333 | 1,15470054 |
| 30,68mg/ml | 8 | 8 | 11 | 9 | 1,73205081 |
| 40,9mg/ml | 10 | 10 | 15 | 11,66666667 | 2,88675135 |
| 0 mg/ml | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | 0 |
| Ethanol | 7 | 8 | 8 | 7,66666667 | 0,57735027 |

| <i>E.coli</i> | Boite 1 | Boite 2 | Boite 3 | Moyenne | Ecartype |
|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|
| 10,23mg/ml | 8 | 8 | 8 | 8 | 0 |
| 20,45mg/ml | 8 | 8 | 9 | 8,33333333 | 0,57735027 |
| 30,68mg/ml | 9 | 8 | 9 | 8,66666667 | 0,57735027 |
| 40,9mg/ml | 11 | 10 | 10 | 10,33333333 | 0,57735027 |
| 0 mg/ml | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | 0 |
| Ethanol | 7 | 7 | 8 | 7,33333333 | 0,57735027 |

| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Boite 1 | Boite 2 | Boite 3 | Moyenne | Ecartype |
|-------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|
| 10,23mg/ml | 11 | 10 | 12 | 11 | 1 |
| 20,45mg/ml | 11 | 14 | 15 | 13,33333333 | 2,081666 |
| 30,68mg/ml | 15 | 15 | 16 | 15,33333333 | 0,57735027 |
| 40,9mg/ml | 17 | 18 | 20 | 18,33333333 | 1,52752523 |
| 0 mg/ml | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | 0 |
| Ethanol | 8 | 8 | 10 | 8,66666667 | 1,15470054 |

| <i>Streptococcus sp.</i> | Boite 1 | Boite 2 | Boite 3 | Moyenne | Ecartype |
|---------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|
| 10,23mg/ml | 11 | 7 | 7 | 8,33333333 | 2,30940108 |
| 20,45mg/ml | 11 | 10 | 10 | 10,33333333 | 0,57735027 |
| 30,68mg/ml | 16 | 16 | 11 | 14,33333333 | 2,88675135 |
| 40,9mg/ml | 18 | 18 | 16 | 17,33333333 | 1,15470054 |
| 0 mg/ml | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | 0 |
| éthanol | 7 | 8 | 10 | 8,33333333 | 1,52752523 |

ANNEXE 8 : Activité antibactérienne des huiles essentielles

| <i>Micrococcus luteus</i> | Boite 1 | Boite 2 | Boite 3 | Moyenne | Ecartype |
|---------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|
| 307mg/ml | 12 | 12 | 10 | 11,3333333 | 1,15470054 |
| 614mg/ml | 15 | 13 | 14 | 14 | 1 |
| 0 mg/ml | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | 0 |
| DMSO | 7,5 | 7,7 | 8 | 7,73333333 | 0,25166115 |

| <i>Staphylococcus aureus</i> | Boite 1 | Boite 2 | Boite 3 | Moyenne | Ecartype |
|------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|
| 307mg/ml | 9 | 7 | 7 | 7,66666667 | 1,15470054 |
| 614mg/ml | 9 | 9 | 11 | 9,66666667 | 1,15470054 |
| 0 mg/ml | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | 0 |
| DMSO | 7 | 7 | 8 | 7,33333333 | 0,57735027 |

| <i>E.coli</i> | Boite 1 | Boite 2 | Boite 3 | Moyenne | Ecartype |
|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|
| 307mg/ml | 7 | 7 | 7 | 7 | 0 |
| 614mg/ml | 8 | 10 | 8 | 8,66666667 | 1,15470054 |
| 0 mg/ml | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | 0 |
| DMSO | 8 | 8 | <6 | 7,33333333 | 1,15470054 |

| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Boite 1 | Boite 2 | Boite 3 | Moyenne | Ecartype |
|-------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|
| 307mg/ml | 13 | 10 | 10 | 11 | 1,73205081 |
| 614mg/ml | 11 | 12 | 11 | 11,3333333 | 0,57735027 |
| 0 mg/ml | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | 0 |
| DMSO | 10 | 7 | 7 | 8 | 1,73205081 |

| <i>Streptococcus sp.</i> | Boite 1 | Boite 2 | Boite 3 | Moyenne | Ecartype |
|--------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|
| 307mg/ml | <6 | 7 | <6 | 6,33333333 | 0,57735027 |
| 614mg/ml | 7 | <6 | 8 | 7 | 1 |
| 0 mg/ml | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | Pas d'activité | 0 |
| DMSO | 7 | 8 | 8 | 7,66666667 | 0,57735027 |