

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou  
Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques  
Département de Biochimie - Microbiologie



# Mémoire



De fin d'étude  
En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie  
Option : Microbiologie Appliquée

## Thème

**Contribution à l'Etude de l'activité  
antimicrobienne de l'extrait aqueux  
d'*Inula viscosa***

Présenté par :

- Melle.REKKAL Melisa
- Melle.MAACHOU Ourida

Devant le jury :

|                                     |                   |       |
|-------------------------------------|-------------------|-------|
| Président : Mr SEBBANE Hilal        | Maitre assistant  | UMMTO |
| Promoteur: Mr HOUALI Karim          | Professeur        | UMMTO |
| Examineur: Mme IRATNI AICHE Ghenima | Maitre-assistante | UMMTO |
| Examineur: Mr MOUALEK Idir          | Maitre-assistant  | UMMTO |

**Promotion 2015/2016**

# REMERCIEMENT

De prime abord, louanges à Dieu, le Tout Puissant, pour nous avoir donné santé, courage ainsi que la force et la patience.

Nous tenons ensuite, à exprimer notre gratitude à notre Promoteur, le Professeur HOUALI. K , Doyen de la Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'Université Mouloud MAMMERI de Tizi Ouzou, pour nous avoir fait l'honneur de nous encadrer et guider pour réaliser ce travail, par ses conseils et orientations constructifs, ses encouragements continus et la confiance qu'il nous a accordé.

Nous exprimons également nos chaleureux remerciements à Mr. METHRI. M S, enseignant et Vice-doyen de la faculté des Sciences biologiques et agronomiques de l'Université MOULOUD MAMMERI pour sa grande disponibilité, ses conseils pertinents et son aide hautement appréciable.

Nous remercions vivement Mr BARIZ. K, enseignant et chef de département de BMC pour son aide et ses conseils.

Aussi, nous tenons à remercier vivement Mr. MOUALEK. I et Mr TITOUCHE .Y pour leurs judicieux conseils, Mesdames MESTA et LAHCENE, pour leur disponibilité et leur aide durant le stage et Mme. MEGUENI, pour ses encouragements et l'intérêt qu'elle a porté pour notre travail.

Nous exprimons toute notre gratitude à Mr SEBBANE H maître assistant l'université MOULOUD MAMMERI pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury. Et notre profonde reconnaissance à Mr MOUALEK.I et Mr SEBANE. H pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, notamment le personnel des bibliothèques, centrale et du département de biologie et l'ensemble des techniciens (es) du laboratoire commun de microbiologie.

# DEDICACES

*Louanges à **DIEU**, le Tout Puissant et Miséricordieux, pour m'avoir tout donner et principalement une foi inébranlable, des parents magnifiques et la soif de progresser continuellement dans mes études.*

*C'est pour mes parents que je dédie en premier lieu ce travail, pour tous leurs sacrifices, leur affection et leur amour, pour mon éducation, pour leur soutien et encouragements en toutes situations, leur présence et leurs conseils en toutes circonstances et leur engagement total pour notre réussite, moi et mes deux sœurs.*

*Je dédie ce mémoire à mes deux sœurs Mekioussa et Katia, pour leur présence, leur chaleur et leurs encouragements.*

*Je dédie ce travail également à mes oncles et mes tantes, à mes cousins et cousines, à toute la famille de près ou de loin, à mes amis (es) et mes camarades.*

**MELISA**



# Dédicaces

## **Je dédie ce mémoire :**

A mon cher père pour son amour inestimable, sa confiance, son soutien, ses sacrifices et toutes les valeurs qu'il a su m'inculquer.

A ma chère maman pour sa patience, son amour, ses conseils, sa douceur et tous les efforts qu'elle a fournis et qu'elle fournit toujours pour mon bien être.

A mes chers frères : Samir et Abderrazak pour leur soutien constant, leur aide et leur amitié. Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

A ma très chère sœur Lydia, à ma future nièce Kahina ainsi qu'à mon beau frère Lyes.

A mes chers grands parents maternels, à la mémoire de ma grand-mère paternelle.

A tous mes amis (e) sans exception.

*Ourida*

# Sommaire

|                              |     |
|------------------------------|-----|
| Liste des Figures .....      | I   |
| Liste des Tableaux .....     | II  |
| Liste des Abréviations ..... | III |
| Glossaire .....              | V   |
| Introduction .....           | 1   |

## Première partie : Synthèse bibliographique.

### Chapitre I : *Inula viscosa*

|   |    |
|---|----|
| 1- Histoire des plantes médicinales .....               | 03 |
| 2-Définition d' <i>Inula viscosa</i> .....              | 03 |
| 3-Taxonomie .....                                       | 04 |
| 4-Description botanique.....                            | 04 |
| 5- Répartition géographique.....                        | 05 |
| 6-Vertus médicinales et usages traditionnels .....      | 06 |
| 7-Travaux réalisés sur la plante <i>I.viscosa</i> ..... | 07 |

### Chapitre II : Métabolites secondaires et méthodes d'extraction

|   |    |
|---|----|
| 1-Les métabolites secondaires.....        | 09 |
| 1-1. Les composés phénoliques .....       | 09 |
| 1.1.1. Définition .....                   | 10 |
| 1.1.2. Classification.....                | 10 |
| 1.1.2.1. Les formes les plus simples..... | 10 |
| -Les acides phénoliques .....             | 10 |
| -Les flavonoïdes .....                    | 11 |
| 1.1.2.2. Les formes condensées.....       | 13 |

|   |           |
|---|-----------|
| -Les tanins .....   | 13        |
| -Les lignines .....   | 13        |
| 1.2. Les Terpènes.....  | 14        |
| 1.2.1. Définition.....  | 14        |
| 1.2.2. Classification.....                                      | 14        |
| 1.2.2.1. Les monoterpènes .....                                 | 14        |
| 1.2.2.2. Les sésquiterpènes.....                                | 14        |
| 1.2.2.3. Les diterpènes.....                                    | 15        |
| 1.2.2.4. Les triterpènes .....                                  | 15        |
| 1.2.2.5. Les tétraterpènes.....                                 | 15        |
| 1.3. Les Alcaloides.....  | 16        |
| 1.4. Les Huiles essentiels.....                                 | 17        |
| 1.4.1. Définition .....   | 17        |
| 1.4.2. Composition chimique .....                               | 19        |
| - Les métabolites secondaires d' <i>I.viscosa</i> .....         | 19        |
| <b>2-Les méthodes d'extraction des principes actifs .....</b>   | <b>20</b> |
| 2.1. La récolte.....  | 20        |
| 2.2. Les différentes méthodes d'extraction .....                | 20        |
| 2.2.1. La décoction.....  | 20        |
| 2.2.2. L'infusion.....  | 20        |
| 2.2.3. La macération.....                                       | 21        |
| 2.2.4. Les techniques utilisées pour la séparation des HEs..... | 21        |
| -Hydrodistillation .....  | 21        |
| -Entrainement à la vapeur d'eau.....                            | 21        |

### **Chapitre III : Les Activités antibactériennes d'*I.viscosa***

|   |    |
|---|----|
| 1-Les activités antimicrobiennes des HEs.....         | 23 |
| 1.1. L'activité antibactérienne .....                 | 23 |
| 1.2. L'activité antifongique.....                     | 24 |
| 2-Les activités antimicrobiennes des polyphénols..... | 24 |
| 2.1. L'activité antibactérienne .....                 | 24 |
| 2.2. L'activité antifongique.....                     | 25 |

### **Deuxième partie : Partie expérimentale**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. Matériels et méthodes .....</b>       | <b>27</b> |
| 1.1. Matériels.....                         | 27        |
| 1.1.1. Appareillages.....                   | 27        |
| 1.1.2. Verreries et autres matériels .....  | 27        |
| 1.1.3. Milieux de culture .....             | 28        |
| 1.1.4. Colorants .....                      | 28        |
| 1.1.5. Matériel végétal.....                | 28        |
| -La cueillette .....                        | 28        |
| 1.2. Méthodes .....                         | 29        |
| 1.2.1. Préparation de l'extrait aqueux..... | 29        |
| 1.2.2. Tests microbiologiques.....          | 30        |
| A-Tests antibactériens.....                 | 30        |
| B- Tests antifongiques.....                 | 35        |
| <b>2. Résultats et discussions....</b>      | <b>38</b> |

**Conclusion et perspectives ..... 45**

**Références bibliographiques**

**Annexes**

## Liste de figures

---

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure1</b> : Images représentant les différentes parties d' <i>Inula viscosa</i> .....   | 5  |
| <b>Figure2</b> : Structure de base des flavonoïdes.....  | 12 |
| <b>Figure3</b> : Structures chimiques des flavonoïdes isolés d' <i>I.viscosa</i> .....   | 12 |
| <b>Figure 4</b> : Molécule d'isoprène.....   | 16 |
| <b>Figure 5</b> : Structure chimique d'Inulviscolide.....  | 16 |
| <b>Figure 6</b> : Séchage des feuilles de la plante <i>I. viscosa</i> .....  | 28 |
| <b>Figure 7</b> : Poudre obtenue après broyage des feuilles sèches d' <i>I.viscosa</i> .....   | 32 |
| <b>Figure8</b> : Préparation de l'inoculum.....  | 32 |
| <b>Figure 9</b> : Aspect microscopiques d' <i>A.niger</i> .....  | 34 |
| <b>Figure 10</b> : Photos montrant l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux d' <i>I.viscosa</i> par méthode de diffusion sur gélose..... | 38 |
| <b>Figure 11</b> : Photo montrant l'activité antifongique de l'extrait aqueux d' <i>I.viscosa</i> sur <i>A.niger</i> .....                     | 41 |

## Liste des tableaux

---

|   |    |
|---|----|
| <b>Tableau I :</b> Classes de composés flavonoidiques isolés d' <i>I. viscosa</i> .....                                       | 11 |
| <b>Tableau II:</b> Classification des Terpènes.....   | 15 |
| <b>Tableau III :</b> Propriétés biologiques de quelques CP.....   | 26 |
| <b>Tableau IV:</b> Principales caractéristiques des deux espèces bactériennes ( <i>E.coli</i> ,<br><i>K.pneumoniae</i> )..... | 30 |
| <b>Tableau V :</b> Caractères morphologiques observés lors d'identification bactérienne.....                                  | 31 |
| <b>Tableau VI :</b> Principales caractéristiques d' <i>A.niger</i> .....  | 35 |
| <b>Tableau VII :</b> Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux<br>d' <i>I.viscosa</i> .....             | 37 |

## Liste des Abréviations

---

**A.niger** : *Aspergillus niger*

**ATB** : Antibiotique

**ATCC**: American Type Culture Cells.

**BHIB** : Bouillon BRAIN HEART INFUSION

**CG/MS** : Chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse.

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**CP** : Composés phénoliques

**C°** : Degré Celsius

**DZI** : Diamètre de zone d’Inhibition

**DO** : Densité Optique

**E.coli** : *Escherichia coli*

**ED** : Eau distillée

**g**: Gramme

**GN** : Gélose nutritive

**h** : Heure

**HE/HEs** : Huile essentielle

**I.viscosa** : *Inulaviscosa*

**Km** : Kilomètre

**LPS** : Lipopolysaccharides

**min** : Minute

**ml** : Millilitre

**mm** : Millimètre

**MH** : Mueller Hinton

**nm** : Nanomètre

**OF** : Ofloxacine

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**S.aureus** : *Staphylococcus aureus*

## Liste des Abréviations

---

**T°** : Température

**UFC** : Unité Formant Colonie

**UV** : Ultraviolet

**µg** : Microgramme

**µl** : Microlitre

**µm** : Micromètre

**%** : Pourcentage

## Glossaire

---

- **Aigrette** : ensemble de poils soyeux qui couronnent certains fruits et grains, comme ceux des akènes de diverses Astéracées.
- **Akène** : petit fruit sec qui ne contient qu'une seule graine et qui ne s'ouvre pas à maturité. les akènes des Astéracées possèdent une aigrette.
- **Allélopathie** : ensemble d'interactions biochimiques (directes ou indirecte) positives ou négatives d'une plante avec un autre organisme vivant (plante ou microorganisme) au moyen de métabolites secondaires.
- **Angiosperme** : quand les graines sont renfermées dans des fruits.
- **Analgésique** : se dit d'une substance, d'un médicament qui abolit la sensibilité à la douleur.
- **Annuelle** : est une plante qui vit qu'une seule année. Il s'agit d'une plante qui fait son cycle végétatif (de la germination jusqu'à sa mort) en un an.
- **Antibactérien** : substance qui diminue la croissance des bactéries et peut aussi les détruire.
- **Anthelminthiques** : substance capable de traiter des infections d'origine parasitaire provoquées par des vers, les helminthes.
- **Antiémétique** : substance qui permet de prévenir ou de traiter les vomissements et les nausées.
- **Antifongique /antimycosique** : substance qui diminue la croissance des champignons et peut aussi les détruire.
- **Antihypertenseur** : substance qui s'oppose à l'augmentation de la pression artérielle.
- **Anti-inflammatoire** : substance qui réduit les inflammations et les douleurs en résultant.
- **Anti-oxydant** : ce sont des molécules qui ont la propriété de diminuer ou d'empêcher l'oxydation d'autres matériaux et composés organiques, en captant les radicaux libres qui sont responsables du vieillissement des cellules.
  
- **Antiparasitaire** : substance qui permet de détruire les parasites de l'homme ou des animaux et empêche leur implantation, elle permet aussi de traiter les maladies dues à ces parasites.
- **Antipyrétique** : substance qui diminue la fièvre.
- **Antispasmodique** : substance qui empêche les contractures (spasmes).
- **Antiviral** : substance qui a la capacité de détruire les virus ou d'empêcher leur multiplication.
- **Aseptique** : substance qui a la propriété d'empêcher la prolifération des germes pathogènes à l'intérieure de l'organisme ou à sa surface.
- **Bractée** : petite feuille qui recouvre la fleur avant son développement et qui est située à la base du pédoncule floral.
- **Capitule** : inflorescence formée de petites fleurs serrées les unes contre les autres et insérées sur le pédoncule élargi en plateau.
-

## Glossaire

---

- **Cataplasme** : préparation pâteuse étalée entre deux linges et appliquée sur la peau pour soulager une inflammation.
- **Cicatrisant** : se dit d'une substance qui favorise la cicatrisation.
- **Cosmopolite** : se dit d'une espèce végétale quand elle est présente dans toutes les régions du monde.
- **Cutanée** : qui a rapport à la peau.
- **Dermatose** : est le nom utilisé pour désigner toutes les affections de la peau, elle peut être allergique comme l'eczéma, inflammatoire comme l'acné, infectieuse comme une mycose.
- **Diabète** : maladie métabolique caractérisée par un taux élevé de sucre dans le sang.
- **Gale** : affection contagieuse de la peau transmise par la femelle d'un acarien appelée le sarcopte de la gale, qui creuse des galeries dans l'épiderme où elle dépose ses œufs ce qui provoque l'éruption des vésicules accompagnées de démangeaisons intenses généralement nocturnes.
- **Galénique** : se dit d'un médicament obtenu d'une préparation pharmaceutique.
- **Garrigues** : formation végétale méditerranéenne des sols calcaires, constituée de chênes verts mélangés à des buissons et à des plantes herbacées.
- **Hémostatique** : substance qui arrête une hémorragie.
- **Herbacée** : se dit d'une plante non ligneuse dont la tige n'a pas la consistance du bois.
- **Hétéroside** : sont des substances qui résultent de la condensation d'un ou plusieurs oses avec une partie non glucidique appelée génine ou aglycone.
- **Hypoglycémiant** : substance capable de diminuer le taux de glucose dans le sang (glycémie).
- **Ligulée** : se dit des fleurs qui portent une ligule, languette qui se trouve entre le limbe de la feuille et la gaine, chez les herbes.
- **Mycoses** : maladie provoquée par le développement des champignons et des levures parasites dans une partie de l'organisme.
- **Panacée** : est un remède universel à toutes les maladies.
- **Placebo** : Substance inactive dépourvue de toute action biologique substituée à un médicament pour étudier l'efficacité de celui-ci en éliminant toute participation psychologique du malade.
- **Poils glanduleux** : ce sont des poils qui se terminent par une petite glande.
- **Résine** : produit solide ou semi-liquide, translucide et insoluble dans l'eau que secrètent certaines espèces végétales.
- **Rosée** : vapeur d'eau qui se dépose, le matin ou le soir, en gouttelettes très fines sur les végétaux à l'air libre.
- **Sédatif** : se dit d'une substance qui apaise les douleurs, calme l'anxiété et aide à dormir en cas d'insomnie.
- **Spasme** : contraction involontaire et de courte durée de fibres musculaires
- **Topique** : se dit d'un médicament qui agit à l'endroit où il est appliqué.
- **Vivace** : un végétal dont le développement peut s'étendre sur plusieurs années.

Synthèse  
bibliographique

## Introduction

---

Les propriétés médicinales de certaines plantes sont connues depuis l'antiquité. En effet, les plantes ont toujours joué un rôle important dans le quotidien de l'homme aussi bien au niveau de son alimentation que pour leur usage en thérapie. Car ce dernier a fini par réaliser, peu à peu, qu'il pouvait se soigner par les plantes et ce, grâce à l'observation et à l'expérience à travers les temps. C'est ainsi, qu'est née la discipline dénommée « la Phytothérapie », qui est le traitement des maladies par les plantes.

A rappeler que l'O.M.S (Organisation Mondiale de la Santé) considère la phytothérapie comme médecine alternative (SEBAI et BOUDALIM, 2012).

Aujourd'hui, le recours aux plantes médicinales ou aux médicaments à base de plantes contenant des principes actifs naturels a pris de grandes proportions vu que beaucoup de molécules de synthèse ont montré leur limite. En effet, selon les statistiques, plus de 25% des médicaments utilisés dans les pays développés dériveraient directement ou indirectement des plantes, du fait que ces phytomédicaments seraient moins agressifs pour l'organisme et que leur consommation ne présenteraient pas d'effets secondaires (RAMLI, 2013).

Située dans le bassin méditerranéen et exposée à de grandes variations climatiques du Nord au Sud, l'Algérie est un terrain de prédilection au développement de plusieurs cultures aromatiques et médicinales, principalement dans des jardins familiaux dont l'exploitation demeure à ce jour traditionnelle (BENYAHYIA, 2014).

La valorisation de ces ressources naturelles peut avoir des retombées économiques considérables pour notre pays. Récemment des projets de production des plantes aromatiques et médicinales ont vu le jour et sont essentiellement orientés vers l'exportation des plantes fraîches, d'huiles essentielles et d'huiles concrètes (BENYAHYIA, 2014).

Considérant l'importance de ce potentiel naturel dont une partie des plantes connues sont réputées pour leur pouvoir thérapeutique, nous nous sommes intéressées à une plante particulière, dénommée « *Inula viscosa* », qui est très répandue en Algérie et principalement en Kabylie.

Ainsi, le présent travail est axé à l'étude des activités antimicrobiennes de l'extrait aqueux de cette plante. Dans ce cadre, on a réparti notre mémoire en deux parties distinctes, à savoir :

- ✓ La première partie est consacrée à la recherche bibliographique. Elle comprend trois chapitres respectivement consacrés à :

## Introduction

---

- Le premier chapitre : à l'étude botanique de l'inule visqueuse ainsi qu'aux travaux antérieurs et vertus médicinales de la plante.
  - Le second chapitre : aux principales classes de métabolites secondaires, comme les composés phénoliques, les huiles essentielles et les alcaloïdes. De même à élucider les différents procédés d'extractions de ces métabolites.
  - Le troisième chapitre : aux activités antimicrobiennes de l'inule visqueuse à savoir : l'activité antibactérienne et antifongique.
- ✓ La deuxième partie de ce travail est consacrée aux matériels et méthodes utilisés ainsi qu'aux résultats obtenus.

## **1. Histoire des plantes médicinales**

La connaissance rationnelle des plantes médicinales date de l'Antiquité. C'est HIPPOCRATE qui différencia l'usage interne et l'usage externe et qui définit la notion de dose qui permet de distinguer l'effet thérapeutique de l'effet toxique (BENROKIA et AOUAR, 2015).

D'après FLEURENTIN (2007) rapporte qu'au cours du premier siècle, DIOSCORIDE référenca 609 drogues végétales dans son ouvrage « De materia medica », connu sous l'appellation « Pharmacognosie » (BRUNETON, 2009).

En 1635, LOUIS XIII crée à Paris le célèbre jardin royal des plantes médicinales riche de plus de 2300 espèces végétales (DELAVEAU, 1983). Au 18<sup>ème</sup> siècle, les plantes acquièrent leurs identités telles qu'elles sont connues aujourd'hui, à savoir un double nom indiquant le genre et l'espèce (BENROKIA et AOUAR, 2015).

Au 19<sup>ème</sup> siècle, la découverte des molécules naturelles, qui font la valeur thérapeutique des drogues héroïques, a été impressionnante. En 1819, MEISSNER proposa le nom d'« Alcaloïde », dérivé des termes « al kali » qui signifie cendre et de « eidos » signifie la forme. Ce scientifique serait le premier à observer que ces substances azotées, présentes dans certaines plantes, possédaient des propriétés basiques.

C'est ainsi que, la morphine fut isolée par SERTUNER en 1817, la codéine par ROBIQUET en 1832, il isola aussi l'asparagine de l'asperge. La papavérine par MERCK en 1848. C'est aussi l'époque de l'isolement de l'inuline à partir de l'aunée en 1804. En 1820, il y'a eu isolement de la quinine et de la caféine. En 1860, isolement de la cocaïne de la feuille de coca et en 1879, isolement de la trinitrine (DJEDIOUI, 2010).

Toutes les civilisations antiques: mésopotamienne, égyptienne, chinoise, indienne, précolombienne avaient respectivement leurs propres panoplies de remèdes végétaux (MEKKIOU, 2005).

A ce jour, 20000 à 25000 plantes seraient utilisées dans la pharmacopée humaine. Environ 75 % des médicaments auraient une origine végétale dont 25 % d'entre eux contiendraient au moins une molécule active d'origine végétale (FOUCHE *et al.*, 2000).

## **2. Définition**

L'inule visqueuse est une plante des régions méditerranéennes, très connue et largement utilisée en médecine traditionnelle. Elle appartient à la famille des Asteraceae. Cette famille est l'une des plus répandues dans le monde végétal. Elle comprend plus de 13 tribus, 1000 genres et 23000 espèces, selon GUIGNARD (1994). Aussi, il en existerait 109 genres et 408 espèces en Algérie et 111 genres et 638 espèces en France, selon QUEZEL et SANTA (1963).

D'après les recherches de CICCARELLI (2007), l'inule visqueuse a été rattachée au genre *Dittrichia* (*Dittrichia viscosa*) car elle possède des poils glanduleux sur l'ovaire, ce qui n'est pas le cas des autres plantes du genre *Inula*.

*Inula* viendrait du grec : Inéo, qui signifie « je purge » allusion à une propriété thérapeutique de la plante. Quant au terme *Viscosa*, il signifie « visqueuse » (FOURNIER, 1947).

### **3. Taxonomie**

D'après FOURNIER (1947), la position systématique de l'inule visqueuse est comme suite :

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous Classe : Gamopetales

Ordre : Campunulales

Famille : Compositae

Genre : *Inula*

Espèce : *viscosa* - L - AIT

Synonymie : *Dittrichiaviscosa* L

Nom commun : Inule, aunée visqueuse

Noms vernaculaires (QUEZEL et SANTA, 1963) : Magramane ou amagramane (En Afrique du Nord).

### **4. Description botanique**

QUEZEL et SANTA (1963), décrivent l'inule visqueuse comme étant une plante herbacée, annuelle, vivace, visqueuse, à odeur forte, à feuilles alternes, présentant des capitules jaunes, comprenant à la fois des fleurs tubuleuses et des fleurs ligulées et bractées en plusieurs séries.

On la trouve sous forme de buissons hauts, d'une longueur de 50 cm à 1 m, ligneuse dans sa partie inférieure. Les feuilles sont ondulées, dentées, aiguës, rudes, recouvertes sur les deux faces de glandes visqueuses, qui dégagent pendant la phase végétative une odeur âcre. Les feuilles caulinaires sont amplexicaules (elles entourent complètement la tige) et sont plus largement lancéolées (AIT YOUSSEF, 2006).

La floraison commence à partir du mois de septembre. Les fleurs sont toutes fertiles et de couleur jaune. Les fleurs périphériques sont liguliformes, alors que celles du centre sont tubulaires. Le fruit est un akène cylindrique présentant au sommet une aigrette simple (AIT YOUSSEF, 2006).



(A)



(B)



(C)

**Figure1** : Images représentant les différentes parties d'*Inula viscosa* (A) sous forme de buisson, (B) les fleurs d'*Inula viscosa*, (C) feuille dentée d'*Inula viscosa* (<http://lagunesgarrigue.canalblog.com/archives/2013/09/25/28083167.html>)

## 5. Répartition géographique

Selon QUEZEL et SANTA (1963), L'espèce *I.viscosa* est répandue dans tout le bassin méditerranéen. Cet arbrisseau pousse dans les champs denses et sauvages, sur les sols secs et calcaires. De même, dans les prairies humides et les bords de cours d'eau.

AIT YOUSSEF (2006), a rapporté que cette plante est répandue aussi en Algérie et qu'elle pousse surtout dans les garrigues, les rocailles et sur les terrains argileux et peu humides.

## **6. Vertus médicinales et usages traditionnels**

*I.viscosa* est une plante médicinale, anciennement connue pour ses vertus réparatrices, sédatives, tonifiantes, revitalisantes et immunologiques. Elle est présente dans toute l'aire méditerranéenne et elle est considérée comme une panacée (AIT YOUSSEF, 2006).

Cette plante vivace, dont l'usage est topique, est utilisée dans la médecine traditionnelle comme un anti gale, un anti-inflammatoire et un antiseptique par excellence. Au niveau de l'appareil respiratoire, elle présente une action sédative de la toux et des spasmes bronchiques (AIT YOUSSEF, 2006).

Les feuilles de l'inule visqueuse secrètent un mélange de résines tout au long de la durée de leur vie. Ces exsudats se composent de plusieurs flavonoïdes aglycones ainsi que de nombreux terpénoides. Ils ont une activité allélopathique et un effet inhibiteur vis-à-vis des microorganismes phytopathogènes. Ces feuilles sont utilisées en cataplasme pour traiter les abcès, la gale, les dermatoses, les furoncles, les ulcères, les gerçures. Elles sont aussi utilisées comme cicatrisant des plaies cutanées (HMAMOUCHE, 2001).

Par ailleurs, les travaux de BELLAKHDAR (1997) ont démontré la présence de l'inuline au niveau de la racine de cette plante. Sa richesse en ce fructose extrêmement nutritif expliquerait son usage traditionnel pour faire grossir, dès lors qu'elle renforcerait et augmenterait la vitalité de l'estomac et de l'intestin, améliorant ainsi l'appétit. Elle est aussi un anti émétique.

YANIZ (1987) a mis en évidence l'action hypoglycémiant de *I.viscosa* en infusion chez l'homme diabétique. L'extrait aqueux de cette plante pourrait aussi jouer un rôle préventif dans le développement du diabète sucré par l'amélioration des métabolismes glucidiques, lipidiques et protéiniques. Il peut être utilisé comme un antioxydant (DJEDIOUI, 2010) et également comme un antihypertenseur (KATTOUF *et al.*, 2009).

Les travaux de BEZANGER *et al* (1990) affirment que l'hispiduline, qui est un flavonoïde présent dans la feuille de l'inule visqueuse, exerce un pouvoir relaxant sur les muscles.

Selon BRUNETON (1999), *I.viscosa* exerce une activité antiparasitaire et antihelminthique et présente également des propriétés antifongiques à des concentrations de 10 µg/ml. D'après cet auteur, elle inhibe la croissance de *Microsporium cookei*, *Trichophyton mentagrophyte* et d'autres champignons pathogènes pour l'homme, d'où son utilisation dans le traitement de mycoses cutanées, essentiellement sous forme de poudre.

Les études de TRIPALLI en 1981, rapportées par HAMDI PACHA *et al* (1999), démontrent l'activité antibactérienne des flavonoïdes de l'inule visqueuse qui, en application locale, crée un foyer aseptique.

De même, l'inule est connue pour son pouvoir cicatrisant avéré. En effet, les travaux de HAMDI PACHA en 1999, attribuent à cette plante un pouvoir cicatrisant certain et ce, suite aux essais de traitement des brûlures expérimentales réalisées sur des lapins. Cette propriété cicatrisante a été mise en évidence en utilisant une préparation galénique contenant 45% d'huile d'amande douce, 45% de glycérine et 10% de l'extrait alcoolique d'*I.viscosa* (CHARI, 1999).

Les résultats obtenus avec cette préparation (galénique) ont été comparés à ceux obtenus en utilisant un placebo. Il a été déduit une accélération nette du processus de cicatrisation de 19 à 21 jours pour les brûlures traitées avec la préparation d'inule. Par contre, la cicatrisation est de 31 jours pour les brûlures traitées avec le placebo.

A l'issue de cette expérience, HAMDI PACHA (1999) a conclu que l'inule visqueuse aurait agi en stimulant la synthèse du collagène en créant un foyer aseptique favorisant ainsi la réparation tissulaire.

## **7. Travaux réalisés sur *I.viscosa***

Les Inules ont fait l'objet de nombreuses études phytochimiques du fait de leur richesse en divers métabolites secondaires. Nous essayerons, ci-après, de rappeler quelques travaux antérieurs qui leur ont été consacrés :

Plusieurs équipes dont celle de chercheurs espagnols, anglo-saxons et algériens ont pu isoler sur des feuilles d'*I.viscosa*, couvertes de leurs exsudats visqueux, de nombreux flavonoïdes à savoir : l'Hispiduline, la Népétine la Sakuranétine, l'Aromadendrine et la Taxifoline (AIT YOUSSEF *et al* ., 2006).

Une étude phytochimique réalisée sur la racine et la partie aérienne d'*I.viscosa*, d'origine espagnole, a abouti à l'isolement de nouveaux sesquiterpénoides tel que l'Inulviscolide, 4-H-Tomentosin, et l'acide Ilicique (BOUMAZA, 2011).

D'autres travaux réalisés sur l'inule visqueuse confirment l'existence de nombreux composés au niveau de sa partie aérienne à savoir : les flavonoïdes, les lactones sesquiterpéniques et les triterpènes esters. Ces mêmes travaux ont permis également de révéler la présence d'autres constituants au niveau des racines. Il s'agit principalement de la Paraffine, de l'Inuline, de l'Hélénine et de trois Sesquiterpènes essentiels à savoir l'Alantole, l'Alantolactone et l'Acide Allantique (BENAYACHE, 1991).

En outre, la plante contient également d'autres substances dites « mineures », comportant des résines et des pectines, constituant une matière noirâtre appelée : la Phytomélane (OKSUZ, 1976).

De même, d'autres équipes de chercheurs ont étudié la composition chimique de l'huile essentielle (HE) d'*I.viscosa*, dont la teneur varie selon ses différentes parties : les feuilles (0,42%), les fleurs (0,29%) et les racines (0,28%). L'analyse de l'HE par chromatographie CG/MS a révélé la présence de plusieurs constituants variés dont les composants majoritaires sont :  $\gamma$ -terpène (36,9%),  $\alpha$ -pinène (18,9%),  $\beta$ -pinène (8,9%), p-cymène (11,7%), limonène (18,9%), 2,5-dimethoxy-p-cymène (21,2%),  $\beta$ - caryophyllène (16,58%) et  $\alpha$ -cadinol (4,2%) (BENCHOHRA *et al.*, 2011).

## **1. Les métabolites secondaires**

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment une part importante de composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme.

On distingue ainsi deux groupes de métabolites : les métabolites primaires et les métabolites secondaires.

- Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ces composés sont classés en quatre principaux groupes : les glucides, les lipides, les protéines et les acides nucléiques.
- Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement, en assurant la protection des plantes contre les agressions extérieures (les herbivores et les infections microbiennes). Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante.

D'un point de vue pharmacologique, les métabolites secondaires constituent la base des principes actifs que l'on retrouve chez les plantes médicinales. Ils font, en outre, l'objet de nombreuses recherches. Ils ont un intérêt multiple et sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Ils sont également utilisés en thérapie pour leurs propriétés anti-oxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires.

Nous essayerons dans ce chapitre de citer les principales familles de métabolites secondaires ayant des intérêts biologiques ainsi que les différentes méthodes d'extraction de ces derniers.

### **1.1. Les composés phénoliques**

#### **1. 1.1. Définition**

Selon FLEURIET *et al* (2005), le terme « polyphénols » devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols, ce qui exclurait alors les monophénols, pourtant abondants et importants chez les végétaux. Selon cet auteur, la désignation générale de «composés phénoliques» concerne à la fois les mono, les di et les polyphénols, dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques.

Les composés phénoliques (CP), constituent l'une des plus grandes familles de molécules largement répandues dans le règne végétal. Ils sont présents dans toutes les parties de la plante (BETA *et al.*,2005).

Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues (FERGUSON *et al.*, 2001 ; HABAUZIT et HORCAJADA, 2008) .

D'après OVASKAINEN *et al* (2008), l'élément structural fondamental qui caractérise les CP est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction chimique (éther, ester, hétéroside). La structure des CP naturels varie depuis les molécules simples à 6 carbones (acides phénoliques simples) vers les molécules hautement polymérisées (tanins condensés).

Aussi, selon MACHEIX *et al* (2005), les CP participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant, soit le rôle de signal de reconnaissance entre les plantes et les symbioses ou bien, ils lui permettent de résister aux diverses agressions des organismes pathogènes, principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes. Ils lui confèrent également la protection contre les rayonnements UV, du fait qu'ils absorbent les rayonnements solaires.

### 1.1.2. Classification

Les CP peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient d'abord, par la complexité du squelette de base ensuite, par les degrés de modification de ce squelette (degrés d'oxydation, d'hydrolation, de méthylation ...) et enfin, par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules : glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des CP (SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006).

#### 1.1.2.1 Les formes les plus simples

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques variées allant du simple phénol en C6, aux flavonoïdes en C15 (SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006), on citera :

##### ✓ **Les acides phénoliques**

Selon BENYAHIA (2014), ils sont subdivisés en deux groupes, à savoir :

- **Les acides hydroxybenzoïque** : Ils dérivent de l'acide benzoïque. Ils se présentent sous forme libre, estérifiée ou glycosylée et leur concentration est généralement très faible chez les végétaux comestibles (NADOUR, 2010).
- **Les acides hydroxycinnamique** : les acides hydroxycinnamique (ou acides coumariques) dérivent de l'acide cinnamique. Ils ont une structure de base C6-C3. Il s'agit d'une classe importante dont les molécules de base sont l'acide p – coummarique (et ses dérivés), l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide sinapique (NADOUR, 2010).

## ✓ Les flavonoïdes

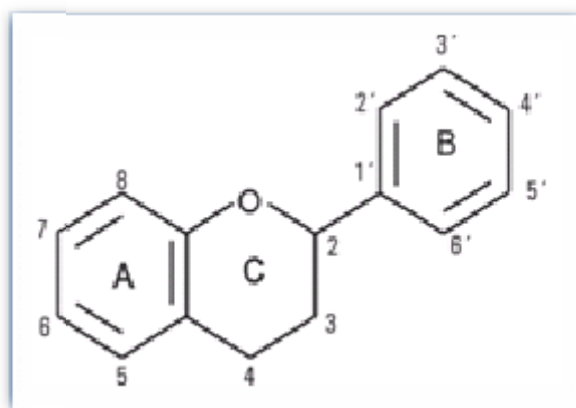
Les flavonoïdes appartiennent à la classe la plus abondante des CP. Ils sont considérés comme des pigments chez la plupart des végétaux. Ils possèdent tous un squelette carboné de 15 atomes de carbone, constitué de deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 formant ainsi un hétérocycle oxygéné. Selon BRUNETON (1999), plus de 6500 structures ont été identifiées. Voir la figure 2 ci-dessous, représentant la structure de base des flavonoïdes.

Les composés flavonoidiques sont regroupés en une dizaine de classes, dont six principales classes peuvent être mentionnées. Les flavones et les flavonols sont les composés les plus répandus, alors que les flavanones, les flavonols, les chalcones et les anthocyanidines sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires (BRUNETON, 1999 ; HARBORNE et WILLIAMS, 2000 ; HAVSTEEN, 2002 ; DACOSTA, 2003).

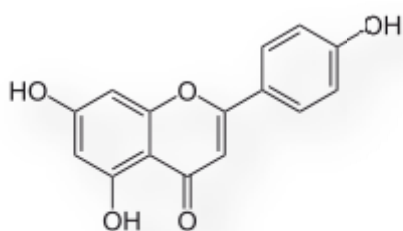
Ils sont largement répandus dans le règne végétal. On les trouve principalement dans les agrumes, dans les légumes feuilles (salade, choux, épinard, etc.), ainsi que dans les téguments externes des fruits (BRONNER et BEECHER, 1995 ; REMESY *et al*, 1996). Ils sont également présents en quantités importantes dans de nombreuses plantes médicinales, dont l'inule visqueuse, qui renferme différents composés flavonoidiques, tel que cités dans le tableau I et illustrés par la figure 3 ci-dessous.

**Tableau I** : Classes des composés flavonoidiques isolés d'*I.viscosa* (BICHA, 2003).

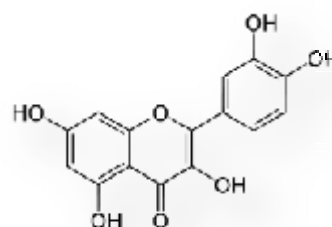
| Classes flavonoidiques | Exemples             |
|------------------------|----------------------|
| flavones               | Apigénine, lutéoline |
| flavonols              | Quercétine           |
| dihydroflavonols       | Taxifoline           |
| flavanones             | Sakuranétine         |
| flavones               | Népétine             |
| flavanonols            | Aromadendrine        |



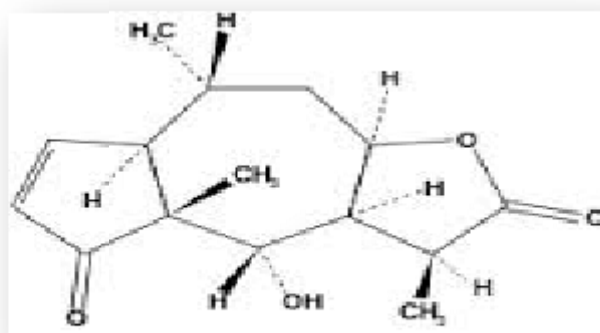
**Figure 2 :** Structure de base des flavonoïdes (BICHA, 2003).



Apigénine



Quercétine



Hispiduline

**Figure 3 :** Structures chimiques des flavonoïdes isolés d'*I.viscosa* (SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006).

### **1.1.2.2 Les formes condensées**

Ce sont des composés obtenus généralement de la condensation de certaines des formes simples de CP, précédemment citées. Les formes condensées sont particulièrement difficiles à étudier et dans la plupart des cas, on est obligé de les dégrader, chimiquement ou enzymatiquement, avant de pouvoir les analyser. On en distingue :

#### **✓ Les tanins**

Ils représentent une classe très importante des polyphénols localisés dans pratiquement toutes les parties des végétaux (écorces, racines, feuilles...). Ils sont caractérisés par leur aptitude à se combiner aux protéines, aux glucides et aux enzymes, formant ainsi des complexes insolubles. Deux groupes de tanins différents, aussi bien par leur structure que par leur origine biogénétique, sont distingués (BENYAHIA, 2014) :

- Les tanins hydrolysables : Ils sont composés de sucre et d'acide phénol. Ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique, libérant ainsi une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique (tanins galliques), soit de l'acide éllagique (tanins éllagiques) et une partie non phénolique, qui est souvent du glucose ou de l'acide quinone (SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006).
- Les tanins condensés : ce sont des polymères de flavonols (Catéchols). Contrairement aux tanins hydrolysables, ils sont résistants à l'hydrolyse et seuls des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader et ne possèdent pas de sucre dans leurs molécules. Ils sont très abondants dans certains organes végétaux consommés ou utilisés par l'homme. Ils sont responsables de l'astringence caractéristiques des fruits avant leur maturité (raisin, pêche, pomme, etc....) et de certaines boissons (vin, cidre, thé, etc....), de même de l'amertume du chocolat (SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006).

#### **✓ Les lignines**

Ce sont des molécules complexes, accumulées dans les parois végétales avec des polysaccharides comme la cellulose et les hémicelluloses. Les lignines constituent un polymère amorphe et hydrophobe qui, en se déposant dans les parois cellulaires cellulosiques, leur confère une grande rigidité et une importante résistance mécanique. Leur synthèse résulte de la polymérisation d'unités monomériques, appelés monolignols. Les lignines dérivent de l'acide para-coumarique, qui se convertit monolignol (MOROT-GAUDRY et PRAT, 2012).

## **1.2. Les terpènes**

### **1. 2.1. Définition**

Les terpènes, appelés aussi terpénoïdes, constituent une classe de substances naturelles extrêmement abondante. Plus de 22000 composés ont été répertoriés (THOPPIL et BISHAYEE, 2011).

Ce sont des constituants habituels des cellules végétales. Ils sont présents chez toutes les plantes et possèdent des activités biologiques très diverses. Plusieurs d'entre eux sont exploités à l'échelle industrielle (industries des cosmétiques, du caoutchouc, de l'agro-alimentaires pour les arômes et les colorants alimentaires, etc...). Certains d'entre eux sont des substances odorantes comme le menthol et le thymol, provenant d'HEs extraites respectivement des feuilles de menthe et des fleurs de thym (BELLOUM, 2007).

Selon BENYAHIA (2014), les terpènes sont des hydrocarbures naturels résultant de la combinaison de plusieurs unités d'isoprènes (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>), dont la formule de base est constituée de multiples de celle-ci, c'est-à-dire (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>n</sub>. Voir la figure 4, page 16

### **I.2.2. Classification**

#### **I. 2.2.1. Les monoterpènes**

Ils sont les plus simples constituants des terpènes, ils sont odorants, très volatils et majoritaire dans la composition d'une HE. Ils peuvent être acycliques (ex : myrcènes, ocimènes), monocycliques (ex :  $\alpha$  et  $\gamma$  terpènes, p-cymène) ou bicycliques (ex : pinènes) et sont porteurs de groupements fonctionnels variés (BONNAFOUS, 2013).

#### **I.2.2.2. Les sesquiterpènes**

Ce sont des composés volatils et fortement odorants. Ils sont classiques dans les HEs. Leur squelette de base est constitué de 15 atomes de carbones. Selon BRUNETON (2009), c'est la classe la plus diversifiée des terpènes, vu qu'elle renferme plus de 3000 molécules.

Les sesquiterpènes se divisent en plusieurs catégories structurelles : acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques et polycycliques. Ils peuvent se trouver sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones (BRUNETON, 2009).

D'après BRUNETON (2009), les lactones sesquiterpéniques constituent un groupe important de substances qui avoisine 3000 structures connues. Elles ont une distribution botanique assez sporadique. Elles sont présentes chez les Champignons et les Bryophytes et on les rencontre également chez les Angiospermes, de même chez les Asteraceae. BRUNETON (2009), précise que chez ces dernières, les lactones sont fréquemment localisées dans les poils sécréteurs, situés au niveau des feuilles, des tiges et assez souvent présentes dans les akènes mais elles sont rares dans les organes souterrains.

### I.2.2.3 Les Diterpènes

Les diterpènes constituent une des classes des terpènes ayant tous un squelette carboné en C<sub>20</sub>. Ils sont présents chez certains insectes et chez divers organismes marins, ils sont répandus notamment chez les végétaux supérieurs, telle que les Asteraceae.

Ils peuvent être acycliques, bicycliques ou tricycliques. Les plus intéressants sur le plan pharmacologique sont les diterpènes tricycliques (BRUNETON, 2009).

### I.2.2.4 Les triterpènes

D'après MALECKY (2008), les triterpènes forment un groupe important de produits naturels contenant dans leur squelette une trentaine d'atomes de carbones.

Selon cet auteur, il existe plus de 1700 triterpènes dans la nature, dont la majorité est sous forme tétracyclique ou pentacyclique, la forme acyclique étant rare. Parmi les triterpènes acycliques, il citera le squalène, qui est le précurseur des autres triterpènes, tout affirmant que la plupart des triterpènes sont des alcools, sous forme libre ou glycoside (les saponines).

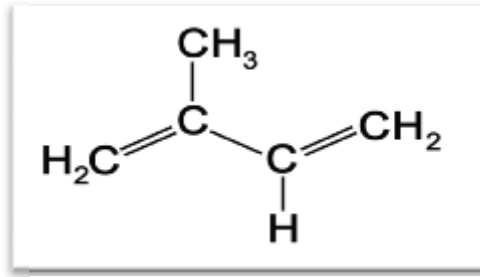
Aussi, il affirme que les triterpènes sont des métabolites dont l'intérêt thérapeutique et l'emploi industriel est majeur, ils rentrent dans la production de médicaments stéroïdiques ayant des propriétés contraceptives, anabolisantes et anti-inflammatoires.

### I.2.2.5 Les tétraterpènes

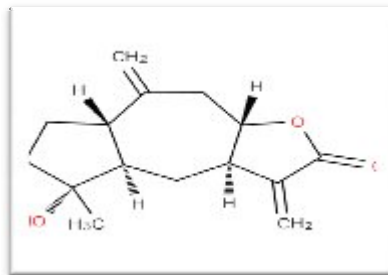
Leur squelette renferme 40 atomes de carbone. Les seuls représentants de ce groupe sont les caroténoïdes, substance colorée en jaune, orange ou rouge, auxquelles de nombreuses fleurs et fruits doivent leurs couleurs (MALECKY, 2008). Le tableau II ci-après représente les différentes classes des terpènes.

**Tableau II** : Classification des terpènes d'après MARIOTTA et *al* (2001).

| Nombre d'atomes de carbone | Unité d'isoprènes | Nomenclature                      |
|----------------------------|-------------------|-----------------------------------|
| 10                         | 2                 | Monoterpènes (C <sub>10</sub> )   |
| 15                         | 3                 | Sesquiterpènes (C <sub>15</sub> ) |
| 20                         | 4                 | Diterpène (C <sub>20</sub> )      |
| 25                         | 5                 | Sesterpène (C <sub>25</sub> )     |
| 30                         | 6                 | Triterpène (C <sub>30</sub> )     |



**Figure 4** : molécule d'isoprène (MALECKY, 2008).



**Figure 5** : Structure chimique d'Inulviscolide (BENYAHIA, 2014).

### I.3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes figurent parmi les substances les plus importantes pour leurs propriétés pharmacologiques et médicinales.

En 1803, DEROSNE a isolé le premier alcaloïde semi-pur du latex sec de l'opium (*Papaver somniferum*), une drogue utilisée depuis des siècles pour ses propriétés analgésiques et narcotiques. En 1805, SERTURNER a caractérisé cet alcaloïde et l'a nommé morphine (WALTON et BROWN, 1999).

Le terme d'alcaloïde est dû au pharmacien MEISSMER (1792-1853), pour désigner les substances naturelles réagissant comme des bases (SALLE, 1991).

D'après RELOUZAT et THIOLLET (2002), un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin, présentant une structure complexe. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique. Ils possèdent une activité pharmacologique significative.

Selon NGOBUM *et al* (2009), ces substances azotées ont des masses moléculaires très variables de 100 à 900g/mol. Les alcaloïdes non oxygénés, ne possédant pas un atome d'oxygène, sont liquides à température ambiante (ex la nicotine), tandis que ceux contenant de l'oxygène dans leur formule sont le plus souvent des solides cristallisables, rarement colorés. D'après ce même auteur, ils sont généralement insolubles ou très peu solubles dans l'eau, par contre ils sont solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires.

De nombreux auteurs pensaient que ces alcaloïdes se retrouveraient exclusivement dans le règne végétal, mais un certain temps, un nombre non négligeable d'alcaloïdes a été isolés chez certains animaux (Mc CALLEY, 2002).

On peut classer les alcaloïdes en trois classes (BRUNETON, 2009) :

- Les alcaloïdes vrais : ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ce sont des substances douées d'une grande activité biologique, même à faibles doses. Ils apparaissent dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme d'un sel, ou combinés avec tanins ;
- Les proto-alcaloïdes: ce sont des amines simples, dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle. Ils dérivent aussi d'acides aminés;
- Les pseudo-alcaloïdes: ils ne sont pas dérivés d'acides aminés. Ils peuvent cependant être indirectement liés à la voie des acides aminés par l'intermédiaire d'un de leurs précurseurs, ou d'un de leurs dérivés.

D'après HABORNE et HERBERT (1995), les alcaloïdes sont rarement libres dans la plante et qu'ils existent sous forme de sels ou combinés avec les tanins. Ils déclarent que la teneur en alcaloïde se différencie d'une partie à une autre, selon la période de récolte, les conditions de croissance et les facteurs environnementaux et ne se concentrent pas dans une partie de la plante et qu'ils sont le plus souvent localisés dans les tissus périphériques : assise externes des écorces de tige et de racine et tégument des graines, de même dans la partie supérieure des plantes : feuilles, fruit. Tout comme, ils ont confirmés que la vacuole constitue un lieu de stockage pour une grande variété d'alcaloïdes.

Le rôle des alcaloïdes dans les végétaux demeure peu connu. En effet, leur fréquente toxicité, même à faible dose, est souvent l'argument principal pour mettre en évidence la fonction de défense contre la prédation dans les interactions plante-herbivore.

En plus de leur toxicité, ils ont un goût généralement amer, qui est un argument supplémentaire aux fonctions de défense chimique de la plante vis-à-vis des prédateurs.

Certains alcaloïdes constituent une réserve de substances capables de fournir l'azote ou d'autres éléments nécessaires au développement de la plante (BADIAGA, 2011).

## **1.4. Les Huiles essentielles**

### **1.4.1. Définition**

Le terme « huile essentielle » a été inventé au 16<sup>ème</sup> siècle par le médecin Suisse : PARASCÉLUS Von HOHENHEIN pour désigner le composé actif d'un remède naturel (BENYAHIA, 2014).

Il s'agit d'un extrait pur et naturel provenant de plantes aromatiques (ROULIER, 1990; WEGRZYN, 2005). Les HEs sont des substances odorantes, volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs (LARDRY et

HABERKOM, 2007). Il faut réunir une grande quantité de plantes fraîches pour obtenir quelques millilitres d'HE (NOGARET-EHRHART, 2008).

Depuis sa 9<sup>ème</sup> édition, la pharmacopée n'utilise plus que le terme « HE ». Le terme « huile » se rapporte au caractère visqueux et hydrophobe de ces substances, quant au terme « essentielle », il fait référence à la caractéristique principale de la plante (AFNOR, 2000).

Les HES sont localisées au niveau des différentes parties des plantes : fleurs, feuilles, écorces, racines. Elles sont obtenues soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation ou par des procédés mécaniques : pressage ou incision des végétaux qui les contiennent (ISO, 1997).

Leurs caractères physico-chimiques sont (BONNAFOUS, 2013) :

- Les HES sont acres, inflammables et très odorantes ;
- Elles sont solubles dans les solvants organiques apolaires (tel que l'alcool et l'éther) et les huiles fixes, en revanche, elles sont insolubles ou peu solubles dans l'eau ;
- Elles sont généralement incolores ou de couleur jaune pâles lorsqu'elles viennent d'être préparées ;
- Elles sont liquides à température ambiante. Leur densité est généralement inférieure à 1 ;
- Elles sont sensibles à l'oxydation et donc de conservation limitée.

Il est important de distinguer HE et essence. Cette dernière est une sécrétion naturelle élaborée par l'organisme végétal, contenue dans divers types d'organes producteurs et dont la teneur est variable selon la partie de la plante étudiée. En revanche une HE est un extrait naturel obtenu par distillation à la vapeur d'eau, c'est-à-dire l'HE est une essence distillée. Leur volatilité les oppose aux huiles fixes qui sont constituées de lipides. Ces extraits naturels sont des composés liquides très complexes ayant des propriétés et des modes d'utilisation particuliers ce qui a donné naissance à une nouvelle branche de la phytothérapie, dénommée l'Aromathérapie (CATIER et ROUX, 2007).

Les HES se rencontrent dans tout le règne végétal. Cependant parmi les espèces végétales, 10% seulement seraient aromatiques, c'est-à-dire qu'elles synthétisent et secrètent d'infimes quantités d'HE (BACHELOT *et al*, 2006).

La biosynthèse et l'accumulation des HES sont effectuées grâce aux appareils sécréteurs contenus dans les différents organes végétaux (feuilles, fleurs, écorces, bois, racines, fruits et graines). Ces appareils, qui sont considérés comme étant des structures histologiques spécialisées, sont souvent situés sur ou à proximité de la surface du végétal, et ils sont variables selon l'espèce botanique à laquelle appartient l'arbre ou la plante en question (LUCCHESI, 2005). Ils peuvent être ainsi des cellules sécrétrices (cas des Lauracées), des poils sécréteurs (cas des Lamiacées), des poches sécrétrices (cas des Rutacées) ou des canaux

sécréteurs (ex les Astéracées principalement chez *I.viscosa*) (COUIC-MARINIER et LOBSTEIN, 2013).

### **1.4.2. Composition chimique**

Sur le plan chimique, les HEs sont des mélanges de structures très complexes, pouvant contenir 50 à 300 composés différents (BONNAFOUS, 2013). Ces derniers sont des molécules très volatiles appartenant à deux groupes chimiques caractérisés par des origines métaboliques distincts, à savoir : le groupe des composés terpéniques, et le groupe des composés aromatiques dérivés du phényl-propane.

#### **✓ Les composés terpéniques**

Ils sont issus de la voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique. Ce sont des composés majeurs de la plupart des essences. La particularité structurale la plus importante rencontrée dans la famille des terpènes est la présence, dans leur squelette, d'une unité isoprénique à cinq atomes de carbone (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) (BONNAFOUS, 2013).

#### **✓ Les composés aromatiques dérivés du phényl-propane**

Ce sont des composés issus de la voie de l'acide shikimique, précurseurs des composés aromatiques. Beaucoup moins abondants que les trapénoïdes, ces composés aromatiques existent néanmoins dans un certain nombre d'HEs et leurs composants présentent une grande intensité olfactive (BONNAFOUS, 2013).

### **Les métabolites secondaires de la plante *Inula viscosa***

Les propriétés médicinales des plantes du genre *Inula* sont dues à leur richesse en métabolites secondaires. La composition chimique de ce genre est représentée par :

- Les Flavonoïdes : comme la Quercétine, Apigénine, Sakuranétine, Hispiduline (ZHANG *et al.*, 2009) ;
- Les Terpenoïdes : Sesquiterpènes, Lactones (MAMOCI *et al.*, 2011 ; KHAN *et al.*, 2010) ;
- Les dérivés d'Acide anthranilique (QIN *et al.*, 2011) ;
- Les HEs avec différents composants chimiques (HAOUI *et al.*, in press).

## **2. Méthodes d'extraction des principes actifs**

### **2.1. La récolte**

La nature est une source très riche en plantes médicinales, certaines de ces plantes peuvent être cueillies toute l'année, mais la majorité doit être récoltée à un moment précis de leur croissance pour être utilisées immédiatement ou conservées.

De même, plusieurs facteurs doivent être pris en considération : l'âge de la plante, la période de l'année et les parties de la plante à récolter. En outre, il est préconisé de choisir des endroits éloignés de zones urbaines afin de cueillir des plantes propres et saines, dès lors que la poussière, la saleté et les produits chimiques les rendent inconsommables et dangereuses.

S'agissant de la cueillette, quelle que soit la partie de la plante qu'on désire cueillir et quelle que soit la saison, le meilleur moment pour procéder à la récolte est le matin, juste après le lever du soleil, par temps sec et après l'évaporation de la rosée. Une fois que la cueillette est achevée, il est recommandé de transporter le produit de la récolte dans des sacs en toile ou dans des paniers bien aérés. Les sacs hermétiques ou en plastique sont à éviter (BENHAMOU, 2009).

### **2.2. Les différentes méthodes d'extraction**

L'extraction est une technique qui consiste à séparer sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange sur la base de propriétés chimiques et physiques. Il existe ainsi différentes façons d'extraire les principes actifs d'une plante. Nous distinguons ainsi :

#### **2.2.1. La décoction**

Décrite par BASSENE et *al*(1987), elle est utile lorsque l'on utilise les parties compactes, dures et ligneuses de la plante qui cèdent difficilement leur principes actifs (racines, graines, écorces). On place la racine ou l'écorce d'une plante dans de l'eau froide, le tout est porté à ébullition et les constituants se dissolvent dans l'eau.

La décoction dure de 2 à 10 min, dès le commencement de l'ébullition de l'eau, en fonction de la substance de la plante ou le goût que l'on souhaite obtenir.

#### **2.2.2. L'infusion**

Ce type d'extraction est recommandé dans le cas où l'on utilise les parties fragiles, nobles de la plante telles que les fleurs, les feuilles, etc..

L'infusion consiste à recouvrir la partie dont on veut extraire le principe actif d'un solvant initialement bouillant, en général de l'eau et de le laisser infuser quelques minutes.

Selon la plante que l'on utilise, le temps d'infusion peut varier car plus les feuilles sont fines, plus l'infusion est rapide. Il est préconisé de couvrir l'infusion pour que les principes actifs ne s'évaporent pas (LUICITA, 2006).

### **2.2.3. La macération**

Cette technique permet d'extraire lentement les principes actifs de plantes fragiles dont les températures élevées risqueraient de les altérer. Elle consiste à verser de l'eau, de l'alcool ou de l'huile, tout dépend du but recherché, à température ambiante sur la substance végétale réduite en morceaux et broyés, et la laisser reposer quelques heures ou bien un ou plusieurs jours voir un mois, suivant les espèces concernées. Au cours de cette période, il y a lieu d'agiter de temps à autre le mélange. A la fin, on filtre soigneusement ce mélange, en pressant les végétaux macérés (CECCHINI et TICLI, 2008).

### **2.2.4. Les techniques utilisées pour la séparation des HEs**

- **L'hydrodistillation**

Il s'agit de la technique la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée, dont le principe consiste à immerger la matière végétale dans un ballon, lors d'une extraction au laboratoire, ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Sous l'effet de la chaleur, les molécules odorantes contenues dans les glandes sécrétrices des végétaux sont libérées en formant avec la vapeur d'eau un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant.

Au niveau des laboratoires, le système utilisé pour l'extraction des HEs en accord avec la pharmacopée Européenne est le Clevenger. En effet, ce système permet le recyclage de la phase aqueuse du distillat dans le bouilleur par cohobage. Ainsi l'eau et les molécules odorantes sont séparées par leur différence de densité en une phase aqueuse (hydrolat) et une phase organique surnageante (HE).

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre ainsi plusieurs heures et ce, selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. Cette dernière influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait (NAIT *et al.*, 2007).

- **Entrainement à la vapeur d'eau**

Contrairement à l'hydrodistillation, l'extraction par entrainement à la vapeur d'eau ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. La vapeur d'eau fournie par une chaudière, traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Le passage de la vapeur à travers le matériel végétal entraîne l'éclatement des cellules, libérant ainsi l'HE qui, sous l'action de la chaleur est vaporisée pour former un mélange « EAU+HE ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique.

L'absence de contact directe entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évitent certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (PARIS et HURABIELLE, 1980).

**1. Les activités antimicrobiennes des H.Es :****1.1. L'activité antibactérienne :**

La première mise en évidence de l'action des HEs contre les bactéries a été réalisée en 1881 par DELACROIX (BOYLE, 1995). Depuis, de nombreuses HEs ont été définies comme antibactériennes (BURT, 2004). En effet, l'activité antibactérienne d'une HE est à mettre en relation avec sa composition chimique.

Les composants actifs les plus importants des HEs sont les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes, dont les mono et les sesquiterpénoïdes forment la majeure partie. Ces derniers ont des effets contre les bactéries (CHOUITAH, 2012).

Le spectre d'action des HEs est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles développant des résistances aux antibiotiques (ATB). Cette activité est variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre, pouvant être bactéricide ou bactériostatique.

Les travaux de BURT (2004) ont montré qu'une HE exercerait son pouvoir antimicrobien par son interférence avec la bicouche lipidique de la cellule cible, grâce à sa propriété hydrophobe, ce qui entraîne une perturbation de la perméabilité et la perte des constituants de la cellule. Selon (MAHMOUD *et al.*, 2004), cette réaction varie en fonction de la nature de la bicouche lipidique, ce qui explique la résistance des bactéries à Gram-.

Par ailleurs, GORDON et ses collaborateurs (1973) et MAHMOUD et ses collaborateurs (2004) ont rapportés dans leurs travaux respectifs, que l'effet antimicrobien qu'exercent les HEs pourrait être expliqué par la destruction de certains systèmes enzymatiques, incluant ceux qui participent dans la production d'énergie cellulaire et la production des composés structuraux.

D'après les travaux de CAILLET et ses collaborateurs (2007), l'action antimicrobienne des HEs se déroule en trois phases:

- Attaque de la paroi bactérienne par l'H.E, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaire;
- 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.

## 1.2. L'activité antifongique

L'activité antifongique des HEs des feuilles et des fleurs de la plante entière, et de la plante entière sans fleurs d'*I.viscosa*, est révélée puissante contre les dermatophytes, *Trichophyton mentagrophytes* et *Trichophyton terrestre* et ceci, en inhibant la synthèse de la chitine qui constitue la paroi des dermatophytes (RAMLI, 2013).

COX *et al* (2000), ont rapporté que l'activité antifongique des HEs est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique, ce qui entraîne une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la cellule. Les composés terpéniques des HEs et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique de la levure (GLORDANI et KALOUSIAN, 2006).

## 2. Les activités antimicrobiennes des polyphénols

Selon SCALBERT (1999), de nombreuses études *in vitro* menées sur les CP, ont confirmés que ce sont des agents antimicrobiens contre un grand nombre de micro-organismes pathogènes avec des spectres d'activités variables, probablement dû à leurs diversités structurales.

D'après COWAN (1999), les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposées être reliées à leurs relative toxicité envers les micro-organismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité. Il a été rapporté que plus les C.P sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des micro-organismes (SCALBERT, 1999).

### 2.1. L'activité antibactérienne

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

Les flavonoïdes avec leurs différentes classes, ont un grand potentiel antibactérien (REZAIRE, 2012). En effet, ils s'attaquent à un très grand nombre de bactéries, avec une intensité qui diffère selon le micro-organisme et l'écosystème dans lequel il se trouve. Ils sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries notamment : *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis* ... etc (AKROUM, 2011).

L'action inhibitrice des flavonoïdes sur la croissance bactérienne était étudiée par KATARZYNA et ses collaborateurs (2007). Ils ont démontré que de nombreux composés flavoniques (Apigénine, Kaempferol et d'autres) sont doués d'un effet remarquable sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*E.coli*) et Gram positif (*S.aureus*). Ces composés flavoniques ont été décrits comme des composés bactéricides et bactériostatiques très efficaces (AKROUM, 2011).

D'après CHAOUCHE (2014), les tanins ont joué un rôle important au cours de l'évolution des végétaux en leur conférant un avantage adaptatif vis-à-vis des agents pathogènes. Ils exercent leur activité antibactérienne par interaction avec la membrane cellulaire, qui induit un changement morphologique de la bactérie, en inhibant l'activité des protéases, des protéines de transport et des adhésines.

## **2.2. L'activité antifongique**

Parmi les CP ayant une activité antifongique on cite les tanins. Ces derniers possèdent une activité toxique contre les champignons filamenteux et les levures (DIXON et al, 2005; ENGELS *et al*, 2011).

Le mécanisme d'action des polyphénols sur ses agents pathogènes n'est pas bien connu. En effet, les études exploitées par DOMENCO *et al* (2005) ont mené à conclure que l'effet antimicrobien des produits polyphénoliques est dû à une perturbation de la membrane plasmique des microorganismes entraînant la perméabilité de celle-ci et la perte de ses organites intracellulaires. Le tableau III ci-dessous résume les principales propriétés biologiques des CP.

Tableau III: Propriétés biologiques de quelques CP.

| Polyphénols                                   | Activités biologiques  | Auteurs  |
|---|--|--|
| Acides phénols<br>(cinnamiques et benzoïques) | Antibactériennes, anti-<br>ulcéreuses, antiparasitaires,<br>antifongiques,<br>antioxydantes.   | FLORESet al., 2009;<br><br>KIM <i>et al.</i> , 2010.   |
| Coumarines                                    | anti- inflammatoires, anti<br>parasitaires, analgésiques,<br>antioedémateuses, anti-<br>tumorales  | ITO <i>et al.</i> , 2005;<br><br>SMYTH <i>et al.</i> , 2009.                                     |
| Flavonoïdes                                   | Antitumorales,<br>antiparasitaires,<br>antibactériennes, anti-<br>inflammatoires,<br>analgésiques, hypotenseurs,<br>Antioxydantes,<br>diurétiques. | FRIEDMAN <i>et al.</i> ,2006;<br>CUSHNIE <i>et al.</i> , 2007;<br>BATOVSKA <i>et al.</i> , 2009. |
| Tanins condensés                              | Antioxydants, antitumorales,<br>antifongiques, anti-<br>inflammatoires   | MASQUELIER <i>et al.</i> ,<br>1979;<br><br>ZHOU <i>et al.</i> , 2011.                            |
| Tanins galliques<br>et catéchiqes             | Antioxydantes,<br>antimicrobiens, antiviraux,<br>anti-inflammatoire,<br><br>hypoglycémiants.   | OKAMURA <i>et al.</i> , 1993;<br>KUBATA <i>et al.</i> , 2005.                                    |
| Lignanés                                      | Anti-inflammatoires,<br>analgésiques   | KIM <i>et al.</i> , 2009.  |

# Partie expérimentale

### 1. Matériels et méthodes

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire commun de microbiologie, de la faculté des sciences biologiques et agronomiques. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

L'objectif de notre travail est de mettre en évidence l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait aqueux de la plante *I.viscosa*. Notre expérimentation a été réalisée en 2 parties :

- ✓ Une partie biochimique qui consiste en l'extraction aqueuse des molécules bioactives à partir des feuilles sèches d'*I.viscosa*.
- ✓ Une partie microbiologique dans laquelle des tests antimicrobiens ont été réalisés sur deux souches bactériennes et sur une souche fongique.

#### 1.1. Matériels

##### 1.1.1. Appareillages

- Autoclave ;
- Bain- marie ;
- Etuve 37°C ;
- Bec-Bunsen ;
- Réfrigérateur ;
- Spectrophotomètre ;
- Balance de précision ;
- Agitateur magnétique ;
- Microscope photonique à l'objectif 10, 40 et 100 ;
- Robot cuisine ;
- Moulinette à café ;
- Congélateur ;
- Lyophilisateur ;

##### 1.1.2. Verreries et autres matériels

- Lames et lamelles ;
- Micropipettes 100 et 1000 µl ;
- Tubes à essai à vis stériles ;
- Pipettes Pasteur ;
- Râteaux ;
- Anses à boucle ;

- Boîtes de Pétri en plastique à 90 mm de diamètre ;
- Spatule ;
- Barreau magnétique ;
- Cristallisateurs ;
- Seringues de 5 ml ;
- Erlenmeyers de 500 et 1000 ml ;
- Entonnoirs ;
- Béchers ;
- Bocal en verre pour faire la macération ;
- Disques de papier Wattman N°1 ;
- Papier Wattman ;
- Papier film alimentaire ;
- Cotton hydrophile pour filtration.

### 1.1.3. Milieux de culture (voir composition : annexe 2).

- **Liquide**

- ✓ Bouillon BRAIN HEART INFUSION (BHIB).

- **Solide**

- ✓ Gélose Nutritive (GN) ;
- ✓ Gélose Mueller Hinton (M.H) ;
- ✓ Gélose Sabouraud.

### 1.1.4. Colorants et réactifs

- ✓ Violet de Gentiane ;
- ✓ Lugol ;
- ✓ Alcool 70°
- ✓ Fuschine ;
- ✓ Huile d'immersion ;
- ✓ Disques d'antibiotiques en cartouche : Ofloxacin, Erythromicine ;
- ✓ Eau physiologique ;
- ✓ Eau distillée stérile ;

### 1.1.5. Matériel végétal

- **La cueillette**

La plante *I.viscosa* utilisée au cours de cette expérimentation a été récoltée durant le mois de février de l'année 2016 dans la région de Tamda, 15 km à l'est de la ville de Tizi-Ouzou.

Une fois récoltée, la plante a été mise à sécher à l'abri de la lumière et de l'humidité à température (T°) ambiante pendant 4 à 7 jours.

Après séchage, les feuilles ont été séparées des tiges et réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur.



**Figure 6 :** Séchage des feuilles de la plante *I.viscosa*(photo prise lors du séchage).



**Figure 7 :** Poudre obtenue après broyage des feuilles sèches d'*I.viscosa*

### 1.2. Méthodes

#### 1.2.1. Préparation de l'extrait aqueux

La macération est la technique utilisée pour préparer l'extrait aqueux. Pour cela 10 g du matériel végétal broyé est macéré dans 100 ml d'eau distillée (ED) et laissé à T° ambiante à l'abri de la lumière et de l'humidité, sous agitation continue, pendant 24h.

Le macérât a subi une double filtration sur coton hydrophile et sur papier wattman N°1. Le filtrat obtenu est ensuite mis dans quatre cristallisateurs à raison de 10 ml dans chacun. Les cristallisateurs sont immédiatement mis au congélateur à -80 C° pendant 24h. Après congélation, le filtrat a été lyophilisé dans un lyophilisateur.

Le lyophilisat est récupéré dans des flacons en plastique hermétiquement fermés et conservés à -4°C jusqu'à la réalisation des tests microbiologiques.

#### 1.2.2. Tests microbiologiques

##### A. Tests antibactériens

###### ➤ Origine des souches bactériennes

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de la plante *I.viscosa* a été mise en évidence en utilisant deux souches bactériennes qui nous ont été fournies par le laboratoire de recherche de la faculté des sciences biologiques et agronomique. Université de Tizi-Ouzou, à savoir :

- *Escherichia coli* ATCC25922 ;
- *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603.

Les caractéristiques des deux espèces bactériennes sont résumées dans le tableau IV qui suit ci-après.

**Tableau IV** : Principales caractéristiques des deux espèces bactériennes : *E.coli* et *K.pneumoniae* (DELARRAS, 2014).

| <b>Famille</b>     | <b>Genre et espèce</b>       | <b>Gram</b> | <b>Forme et mobilité</b> | <b>Caractères biologiques</b> | <b>Taille</b>                                       | <b>Habitat</b>   | <b>Pouvoir pathogène</b>   |
|--------------------|------------------------------|-------------|--------------------------|-------------------------------|---|--|--|
| Enterobacteriaceae | <i>Escherichia coli</i>      | Négatif     | Bacille ; mobile         | Aérobie facultatif            | De 0,5 à 3µm  | Tube digestif de l'homme et des animaux  | Diarrhées ; Gastro-entérites ; infantiles Infections urinaires ; Méningites ; Septicémies. |
| Enterobacteriaceae | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Négatif     | Bacille ; immobile ;     | Aéro-anaérobie facultatif     | De 0,6 à 6µm de longueur et de 0,3 à 1µm de largeur | Tube digestif et appareil respiratoire de l'homme et des animaux, retrouvés dans les selles, le sol et l'eau | Pneumonies nosocomiales ; Infections respiratoires, urinaires et intestinales.             |

➤ **Revivification des souches bactériennes**

Les souches sont revivifiées sur du bouillon BHIB, dans le but de les remettre à leur état physiologique normal, et incubées à 37°C pendant 24h afin de stimuler leur développement.

Nous avons vérifié la pureté des souches, et ceci en réalisant un repiquage sur gélose Nutritive (GN), l'incubation a été effectuée à 37°C/ 24h. Après incubation, on a procédé à la coloration de Gram et à l'examen microscopique au grossissement 10×100 (G×1000), dans le but de rechercher les caractères morphologiques des souches : la forme des cellules bactériennes, le mode de regroupement et le type de Gram. Le tableau V résume les caractères morphologiques des deux souches après l'identification bactérienne.

Le protocole de cette coloration est réalisé selon la méthode décrite par DELARRAS (2007) :

- ✓ Préparer un frottis de la souche utilisée ;
- ✓ Recouvrir le frottis de Violet de Gentiane, laisser agir 1min puis rincer à l'eau distillée (ED) ;
- ✓ Verser du lugol et laisser agir pendant 1min, rincer à l'ED ;
- ✓ Décolorer à l'alcool à 70° et laisser agir pendant 30 seconde puis rincer à l'ED ;
- ✓ Recolorer avec de la fuschine pendant 1 min, rincer à l'ED ;

- ✓ Sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen ;
- ✓ Observation au microscope optique à l'objectif x100 à l'immersion.

**Tableau V:**Caractères morphologiques observés lors d'identification bactérienne.

| Espèce bactérienne             | Milieu de culture | Gram    | Aspect morphologique |
|--------------------------------|-------------------|---------|----------------------|
| <i>E.coli</i> ATCC25922        | GN                | Négatif | Coccobacille rose    |
| <i>K.pneumoniae</i> ATCC700603 | GN                | Négatif | Coccobacille rose    |

➤ **Conservation des souches :**

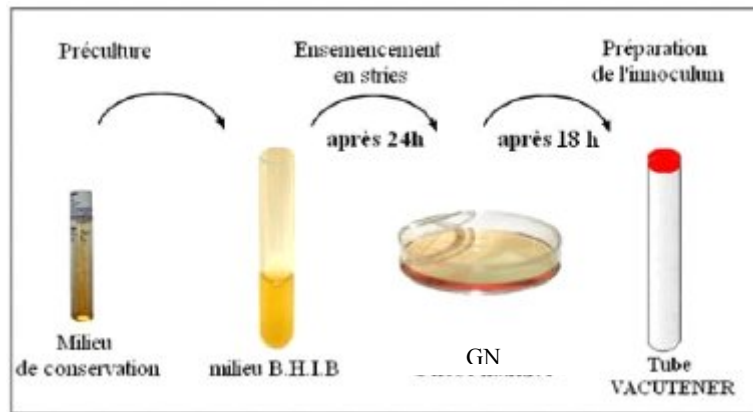
Les souches purifiées sont conservées dans le réfrigérateur à +4C°, après culture sur gélose nutritive inclinée en tube à essai.

➤ **Préparation de l'inoculum :**

✓ **Préparation des pré-cultures :**les souches bactériennes à tester sont cultivées dans des boîtes de Pétri contenant de la GN et incubées pendant 18h à une température de 37C° afin d'obtenir une culture jeune et des colonies bien isolées.

✓ **Préparation de la suspension bactérienne :** à partir d'une culture jeune de 18h sur GN, prélever à l'aide d'une anse de platine 3à5 colonies bien isolées et parfaitement identiques.

Décharger l'anse dans 9 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%, agiter manuellement pour bien homogénéiser la suspension bactérienne. La standardisation de la suspension est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 625nm. On admet qu'une densité optique (DO), comprise entre 0.08 et 0.1, qu'elle correspond à une concentration qui avoisine 10<sup>8</sup> cellules / ml. La figure 7 montre les étapes de la préparation de l'inoculum.



**Figure 8** : Préparation de l'inoculum

- **Mise en évidence de l'activité antibactérienne** (Protocole donné par les techniciens du laboratoire) :

- ✓ **Méthode de diffusion sur milieu gélosé :**

Pour mettre en évidence l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'inule visqueuse, nous avons adopté la méthode de diffusion en milieu gélosé telle que décrite par BAUER *et al* (1966) et reprise par BARRY et THORNSBERRY (1985) en utilisant des disques stériles en cellulose. Elle est dite qualitative car elle permet d'identifier l'existence ou non d'une éventuelle propriété antibactérienne.

- **Principe de diffusion sur milieu gélosé:**

C'est une technique qui consiste à utiliser des disques imprégnés de différentes substances à tester, puis déposés à la surface d'une gélose ensemencée au préalable avec une suspension de la bactérie à étudier. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition qui est représentée par une auréole formée autour du disque où aucune croissance n'est observée (WILKINSON, 2006).

La souche sera ainsi qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante (BOUHARB *et al.*, 2014).

- ✓ **Méthode de dilution :**

Cette méthode a pour but d'évaluer des concentrations minimales inhibitrices (CMI). Elle consiste à déterminer la plus faible concentration d'un agent antimicrobien, nécessaire

pour inhiber la croissance d'un microorganisme (OUSSOU *et al*, 2008; DERWICH *et al*, 2010).

### ➤ **Protocole expérimental**

✓ **Ensemencement** : 15ml de la gélose Mueller Hinton (MH) est coulée aseptiquement dans des boîtes de Pétri. Après refroidissement et solidification de la gélose (MH) sur la paillasse, 100µl de la suspension bactérienne à tester sont étalées à la surface du milieu gélosé à l'aide d'un râteau.

✓ **Préparation des disques** : les disques sont fabriqués à partir de papier Wattman N°1 suivant le diamètre de l'emporte-pièce (6mm) ; ils sont ensuite mis dans des tubes à essai et stérilisés à l'autoclave.

✓ **Préparation de l'agent antimicrobien** : 0.4g de l'extrait aqueux lyophilisé de la plante *I.viscosa* est reconstitué dans 1ml d'ED stérile. Les disques de papier Wattman N°1 sont alors imprégnés avec 20 µl de cette solution antimicrobienne.

✓ **Dépôt des disques** : dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, les disques sont déposés sur la gélose. Des disques d'ATB et des disques imprégnés d'ED stérile sont également déposés sur la même boîte à fin de servir respectivement de témoin positif et de témoin négatif. Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à T° ambiante pendant 15min, puis incubées à 37C° pendant 24h.

✓ **Lecture** :

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

✚ L'ATB utilisé pour la souche *E.coli* ATCC25922 est Ofloxacine (OF 5µg) et celui utilisé pour la souche *K.pneumoniae* ATCC700603 est l'Augmentin (Amoxicilline + Acide clavulanique). Il est à noter que le choix des ATB a été fait après avoir réalisé un antibiogramme, pour les deux souches bactériennes.

### B. Test antifongique :

#### ➤ Origine de la souche fongique :

Une souche fongique est utilisée, il s'agit d'*A.niger*. Elle a été fournie par le laboratoire commun de microbiologie de la faculté des sciences biologiques et agronomiques. Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou.

*A.niger* est un champignon filamenteux ascomycète, mésophile, il se développe sur la matière organique en conditions aérobies (JOHNSON *et al.*, 1998). Cette espèce est un contaminant commun sur les divers substrats (SAMSON *et al.*, 2004). Il a été trouvé dans le sol, dans le compost et sur la matière végétale en décomposition.

Bien qu'il soit considéré comme un contaminant omniprésent et inoffensif, l'*A.niger* peut, dans des circonstances spéciales et rares, causer des maladies humaines opportunistes. La figure 8 représente l'aspect microscopique de ce mycète et le tableau VII résume ses principales caractéristiques.



**Figure 9** : Aspect microscopique d'*A.niger* (FIEDLER *et al.*, 2001).

Tableau VI : Principales caractéristiques d'*A.niger* (DELARRAS, 2014).

| Famille      | Genre et espèce          | Morphologie   | Habitat                                   | Pouvoir pathogène  | Importance économique   |
|--------------|--------------------------|---|---|--|---|
| Trichomaceae | <i>Aspergillus niger</i> | Champignon filamenteux de type moisissure de couleur noire à reproduction asexuée via les conidies (spores asexuées). | Sol, plantes, aliments, matériaux divers. | Provoque des mycoses pulmonaires chez l'homme et les oiseaux ; Provoque l'aspergillose du conduit auditif externe chez les sujets présentant une lésion ou une malformation anatomique du conduit auditif. | utilisée en fermentation industrielle pour produire de l'acide citrique et gluconique ou des enzymes. Elle possède des toxines à propriétés insecticide actives sur les moustiques responsables de la fièvre jaune. |

➤ **Préparation de l'inoculum :** (Selon le protocole donné par le laboratoire) :

✓ **Préparation des pré-cultures :** étant donné que la souche fongique utilisée était pure, une pré-culture de celle-ci est directement réalisée. Pour cela 15 ml de la gélose Sabouraud est versé dans deux boîtes de Pétri, après solidification à T° ambiante, l'ensemencement des boîtes est fait suivant deux méthodes différentes :

- L'ensemencement de la 1<sup>ère</sup> boîte est réalisé en effectuant des stries serrées à l'aide d'une anse de platine bouclée.
- A l'aide d'un embouillestérile on a découpé un disque de gélose de la boîte qui contient la souche *A.niger*. Le disque est ensuite déposé à la surface de la gélose Sabouraud.

Les deux boîtes sont mises à incuber à 22 C° pendant 5 à 7 jours.

✓ **Préparation de la suspension fongique** : à partir d'une culture jeune de sept jours, on a prélevé à l'aide d'une anse quelques spores qu'on a ensuite déposées dans des tubes contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, suivis d'une agitation manuelle dans le but d'avoir une suspension bien homogène. La standardisation de la suspension fongique est ensuite effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 630nm afin de standardiser la suspension de spores à  $10^7$  spores/ml. On estime qu'une DO de 0,04 correspond à une concentration de  $10^7$  spores/ml.

➤ **Réalisation des tests antifongiques :**

Pour la réalisation des tests antifongiques on a adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé dont le principe est décrit précédemment. La seule différence réside dans l'utilisation de la gélose Sabouraud et des disques d'antifongique au lieu d'ATB.

Les tests antifongiques sont fait à raison de deux boites, dans chacune la gélose Sabouraud est coulée, une fois solidifiée, un volume de 100µl de l'inoculum standardisé est étalé à la surface de la gélose à l'aide d'un râteau.

Un disque de papier Wattman N°1 est ensuite imprégné de 20µl de l'extrait aqueux d'*I.viscosa*, est déposé sur la gélose Sabouraud. Un disque imprégné d'antifongique « Amphopéricine B » (20µl) qui sert de témoin positif et un disque imprégné d'ED stérile qui sert de témoin négatif, sont également déposés à la surface de la même gélose. Les boites de Pétri sont laissées à T° ambiante sur la paillasse pendant 15 min, afin de permettre la diffusion de l'extrait et de l'antifongique. Elles sont incubée, par la suite à 22 C° pendant 5 à 7 jours.

➤ **Lecture** : la lecture se fait par la mesure du DZI autour de chaque disque à l'aide d'une règle en mm.

La méthode de diffusion sur milieu gélosé est la technique utilisée pour déterminer l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de la plante *I.viscosa*. Le principe comme il a été déjà décrit consiste à ensemencer une boîte de Pétri contenant du milieu gélosé (MH) par un germe-test et de l'amener au contact de la substance à tester. Après la mise à l'étuve pendant 24 heures à 37°C, l'action de l'extrait est déterminée par la mesure du DZI qui apparaît claire dans le tapis bactérien opaque. Les résultats sont exprimés selon quatre niveaux d'activité (BOUHARB *et al.*, 2014).

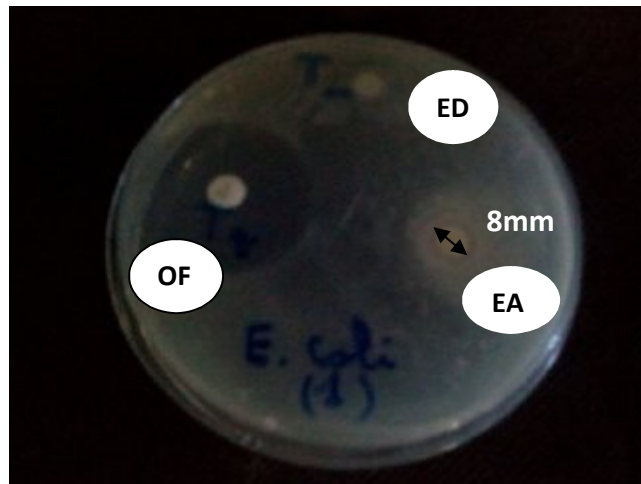
- (-) souche résistante ( $D \leq 8$  mm)
- (+) souche sensible ( $9 \text{ mm} \leq D \leq 14\text{mm}$ )
- (+ +) souche très sensible ( $15 \text{ mm} \leq D \leq 19\text{mm}$ )
- (+ + +) souche extrêmement sensible ( $D > 20$  mm)

### 1. Activités antibactériennes

Les résultats des tests antibactériens ont démontré que l'extrait aqueux d'*I.viscosaa* une activité antibactérienne sur les deux souches utilisées : *E.coli*ATCC25922et *K.pneumoniae*ATCC700603. Les résultats de ces tests sont représentés par le tableau VII et illustrés par la figure 8.

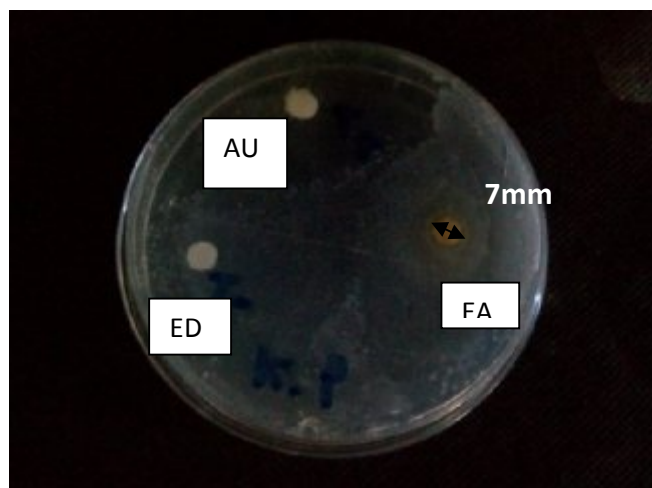
**Tableau VII :** Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux d'*I.viscosa*.

| Souches                        | Diamètre d'inhibition (mm) | Profil de sensibilité |
|--------------------------------|----------------------------|-----------------------|
| <i>E.coli</i> ATCC25922        | 8±0.7                      | Résistante            |
| <i>K.pneumoniae</i> ATCC700603 | 7±0.0                      | Résistante            |



*E.coli*ATCC25922

EA : extrait aqueux / ED : eau distillée /OF : Ofloxacine



*K.pneumoniae*ATCC700603

EA : extrait aqueux / ED : eau distillé / AU : Augmentin

**Figure 10** : Photos montrant l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux d'*I. viscosa* par la méthode de diffusion sur gélose (photos prises au laboratoire). T+ : témoin positif / T- : témoin négatif

Il apparaît que l'extrait aqueux des feuilles d'*I.viscosa* semble avoir une action inhibitrice légère (à la concentration de 400mg/ml) sur la croissance des souches (*E.coli* ATCC25922 et *K.pneumoniae*ATCC700603). Ces résultats concordent avec les travaux d'ALBAYRAK *et al*(2015), qui ont testé l'effet antibactérien de l'extrait aqueux d'*Inulahelenium* contre huit souches à Gram négatif, dont *E.coli* et *K.pneumoniae*, et huit souches à Gram positif.

Les résultats ont démontré que l'extrait aqueux d'*Inulahelenium* exerce une action inhibitrice sur la croissance de toutes les souches y compris *E.coli* (avec un diamètre de 7 mm) et *K.pneumoniae*, dont le diamètre d'inhibition est de 9 mm.

En revanche, les travaux de RAMLI (2013) affirment qu'*E.coli* ATCC25922 présente une résistance envers l'extrait hydro-alcoolique (méthanol-eau) lyophilisé d'*I.viscosa*.

De même, il rapporte qu'aucune zone d'inhibition n'a été observée, ce qui lui aurait permis de conclure qu'*E.coli* ATCC25922 est résistante aux molécules contenues dans l'extrait hydro-alcoolique d'*I.viscosa*.

D'après l'étude réalisée par SQUALLI *et al*(2007) au Maroc, l'extrait aqueux des feuilles de l'inule visqueuse possède une activité antibactérienne contre cinq mycobactéries. En effet cet extrait aqueux a provoqué une inhibition totale de la croissance de ces cinq mycobactéries.

Les travaux de LAGHRIFI *et al*(2013) montrent que l'extrait méthanolique et éthanolique d'*I.viscosa* ont un fort pouvoir antibactérien contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif dont *E.coli* et *K. pneumoniae*. Il s'est avéré ainsi que l'extrait méthanolique est le plus actif contre toutes les souches bactériennes testées. En outre, ils ont également constaté que l'extrait éthanolique s'est prononcé antibactérien plus que l'extrait aqueux.

De plus, les mêmes auteurs rapportent que l'extrait éthanolique des fleurs d'*I.viscosa* s'est révélé plus actif sur *K.pneumoniae* que l'extrait éthanolique des feuilles de la même plante.

Les travaux de LAMPRINI *et al* (2014) réalisés sur les parties aériennes d'*I.viscosa* en utilisant deux solvants (acétate d'éthyle et le méthanol) ont trouvé des activités efficaces contre de nombreuses bactéries à Gram négatif tel qu'*E.coli*.

BSSAIBIS *et al*(2009) rapportent que les extraits des feuilles et de fleurs d'*I.viscosa* ont des activités antibactériennes contre *E.coli* et deux autres bactéries à Gram positif. Les résultats obtenus montrent que les activités antibactériennes sont en relation avec l'origine de l'extrait (fleurs ou feuilles), la nature du solvant et la souche testée.

En effet, les extraits au méthanol sont les plus actifs, suivis par ceux à l'éthanol puis ceux à l'acétone. La souche *E.coli* a présenté la plus grande sensibilité aux différents extraits suivis par les deux souches à Gram positif.

MAOZ et NEEMAN (1998), ont testé les extraits aqueux de dix plantes médicinales, dont *I.viscosa*, contre trois souches bactériennes à Gram positif. Ils ont remarqué que l'extrait aqueux d'*I.viscosa* a présenté un effet inhibiteur maximal contre les trois bactéries testées.

Les mécanismes précis impliqués dans l'action antimicrobienne des extraits sont encore loin d'être totalement élucidés. Etant donné le grand nombre de composants présents dans un extrait, il est évident que l'activité antibactérienne ne peut être due à un seul mécanisme d'action spécifique mais plutôt à divers mécanismes (Burt, 2004).

L'étude phytochimique d'*I.viscosa*, réalisée par ULUBELEN et GOUN en 1986 et BENAYACHE *et al* en 1991 a abouti à l'isolement d'une série importante de flavonoïdes, plus d'une vingtaine de molécules sesquiterpéniques et des triterpènes. Ces dernières exercent une action antibactérienne contre les Gram positifs, les Gram négatifs et les mycobactéries.

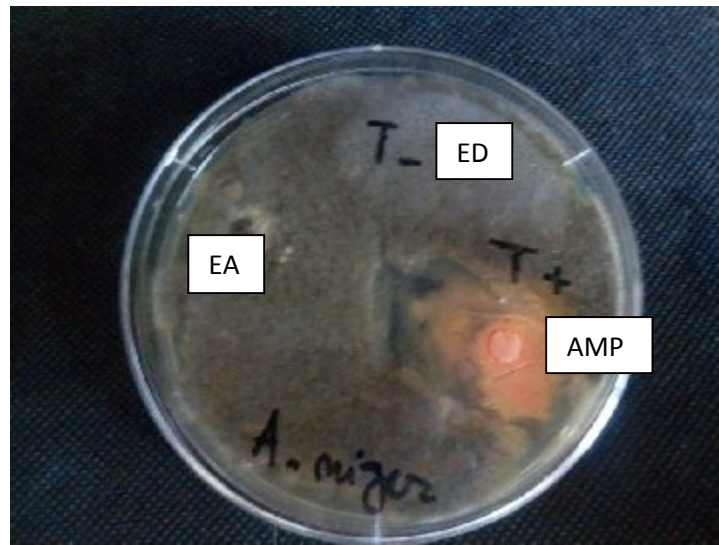
Les flavonoïdes d'*I.viscosa* ont montré leur efficacité comme substances antibactériennes. Cette propriété serait due à une inhibition des enzymes bactériennes, du fait de la réaction d'addition avec le groupement thiol ou amine (PARIS et MOYSE, 1965).

BEZZAZ (2014), a constaté dans ses travaux que les flavonoïdes peuvent provoquer une fuite d'ions de potassium au niveau de la membrane plasmique, ce qui engendre des lésions majeures entraînant ainsi leur mort.

### 2. Activités antifongiques :

Après incubation des boîtes à 22 C° pendant une semaine, une lecture a été faite dans le but de mettre en évidence un éventuel effet antifongique de l'extrait aqueux d'*I.viscosa* et ceci par la mesure du DZI .

Les résultats des tests antifongiques de l'extrait aqueux de l'inule visqueuse testé sur *A.niger* sont rapportés par la figure 9.



**Figure 11 :** Photo montrant l'activité antifongique de l'extrait aqueux d'*I.viscosa* sur *A.niger* T+ : témoin positif (Amphopéricine B) / T- : témoin négatif (ED :eau distillée) ; /EA : extrait aqueux. (Photo prise au laboratoire).

Il s'avère qu'autour des disques imprégnés d'extrait aqueux, aucune zone d'inhibition n'a été observée. Contrairement aux disques imprégnés d'antifongiques. L'extrait aqueux d'*I.viscosa* n'a eu donc aucune action inhibitrice (à la concentration 400mg/ml) sur la croissance d'*A.niger*.

Par ailleurs, les travaux de CHEBOUTI- MEZIOU (2016) rapportent que l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*I.viscosa* a une activité antifongique contre *A.niger*, avec un diamètre d'inhibition de 9 mm.

DEBAT *et al* (1979) rapportent que l'extrait d'éther diéthylique d'*I.viscosaa* une activité fongistatique vis-à-vis d'*A.niger*. Ils ont donc conclut que, contrairement aux extraits aqueux, l'extraction avec des solvants organiques a amélioré leurs propriétés antifongiques.

En effet, les extraits méthanoliques de la même plante se sont révélés être plus efficaces sur la croissance mycélienne.

Nos résultats se rapprochent de ceux de MOAZ et NEEMAN (1998), qui ont constaté que l'extrait aqueux des feuilles d'*I.viscosa* n'avait aucun effet inhibiteur sur la croissance de *Candida albicans*.

En revanche, TALIBI *et al* (2012) ont rapporté que l'extrait aqueux d'*I.viscosas*'est révélé être efficace contre *Penicillium italicum*.

D'autres études menées par TALIBI (2013), ont affirmé que l'extrait aqueux d'*I.viscosa* semble être efficace contre *Geotrichumcandidum*, avec un pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne supérieure à 80%. Tandis que les extraits chloroformiques et hexaniques de la même plante n'ont aucun effet inhibiteur sur la croissance mycélienne de *Geotrichumcandidum*.

ALI SHTAYEH et ABU GHEDEIB (1999) constatent que l'extrait aqueux des feuilles de l'inule visqueuse inhibent certains dermatophytes tels que *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophytonviolaceum* et *Microsporumcanis*.

Les travaux d'EL-MASRI *et al* (2015) rapportent quel'extrait aqueux d'*I.viscosa* a une activité antifongique contre *Botrytiscinerea*, champignon responsable de la pourriture grise. Ils se sont aperçus que l'extrait aqueux a réduit la croissance mycélienne et la germination des conidies de ce champignon. En effet, ils ont remarqué que la réduction de la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* est plus importante en augmentant la concentration de l'extrait aqueux de cette plante. En outre, ils ont conclu que l'extrait aqueux d'*I.viscosa* a le même effet inhibiteur que le fongicide Iprodione.

MAOZ *et al* (1999) ont pu isoler à partir de l'extrait d'éther de pétrole des feuilles d'*I.viscosa* des lactones sesquiterpéniques, ces derniers ont inhibé la croissance de *Microsporumcanis* et *Trichophyton rubrum*.

Les travaux de CAFARCHIA *et al* (2001), réalisé sur les fleurs fraîches d'*I.viscosa* ont abouti à l'isolement d'un autre sesquiterpène (Tomentosin), qui a été révélé actif sur *Microsporumcanis*, *Microsporungypseum* et *Trichophyton mentagrophytes*.

Il à noter que la différence entre les activités antimicrobiennes des extraits peut s'expliquer par la différence des composés actifs obtenus. Par conséquence, l'activité antimicrobienne est liée à la polarité des substances bioactive extraite (CHABOT *et al.*, 1992). Concernant notre expérimentation, nous avons testé l'effet antibactérien et antifongique de l'extrait aqueux des feuilles de l'inule visqueuse sur les germes cités . L'eau en tant que solvant polaire, cette caractéristique lui confère la propriété d'extraire une panoplie de composés chimiques hydrophiles comme les flavonoïdes hétérosides, les tanins, les alcaloïdes sels, les oses et les acides aminés.

Pour conclure, l'extrait aqueux d'*I.viscosa* contient de nombreux composés actifs pouvant inhiber la croissance de divers microorganismes, c'est la raison pour laquelle il peut être utilisé comme source alternative d'antibiotiques.

## Conclusion

---

L'inule visqueuse, objet de notre travail, fait partie de façon incontestable de plantes médicinales utilisées en Algérie.

Les principales vertus thérapeutiques d'*I.viscosa* sont nombreuses, la majorité d'entre elles ont été mises en évidence par les travaux respectifs des auteurs cités dans notre présent mémoire, à savoir : anti-inflammatoire, antiseptique, antimicrobienne et anti-oxydante.

L'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*I.viscosa* a été mise en évidence par la méthode de diffusion sur gélose, en présence de deux souches bactériennes pathogènes, qui sont *E.coli* ATCC 25922 et *K.pneumoniae* ATCC 700603, et une espèce fongique *A.niger*.

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux lyophilisé d'*I.viscosa* à la concentration de 400mg/ml, exerce une action inhibitrice légère sur les deux souches bactériennes utilisées. Quant à l'activité antifongique aucun effet inhibiteur n'a été constaté sur la croissance d'*A.niger*.

*I.viscosa* est un réservoir important de principes actifs, ayant des structures chimiques et des activités biologiques très diverses, qu'il y a lieu de préserver et d'exploiter dans notre pays. Dans ce cadre, nous proposons humblement quelques perspectives, à savoir :

- Il serait intéressant d'augmenter la concentration de l'extrait et de tester contre d'autres souches pathogènes.
- Encourager des études complémentaires sur les activités biologiques des plantes notamment *I.viscosa*, pour leurs pouvoirs antioxydants, antibactériens, antifongiques et anti-inflammatoire etc ...
- Identifier d'autres substances bioactives d'origine végétale ayant un pouvoir thérapeutique comme alternatives aux médicaments synthétiques
- Sensibiliser les industries pharmaceutiques à synthétiser d'avantage les médicaments à base de plantes et d'encourager leur commercialisation.

## Références bibliographiques

---

A/

- **AFNOR. (2000).** Huiles essentielles. Monographies relative aux huiles essentielles. AFNOR, 6<sup>ème</sup> édition, Tome 2, Paris.
- **AIT YOUSSEF M. (2006).** Plantes médicinales de Kabylie, édition ., Ibis Press, Paris :164.
- **AKROUM S. (2011).** Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de doctorat. Université Mentouri de Constantine. Algérie.
- **ALBAYRAK S., KORKMAZ-CINAR A.E., PAKSOY M.Y. & AKSOY A. (2015).** An investigation on antioxidant and antimicrobial activities of four *Inula helenium L.* *Iranian Journal of Science & Technology.* IJST, **39(4)** : 473-483.
- **AL-MASRI M.I., SHARAWI S.M. & BARAKAT R.M. (2015).**Effect of Clammy Inula (*Inula viscosa*) Plant Extract in Combination with a Low Dose of the Fungicide Iprodione on Botrytis cinerea in Vitro and in Vivo. *American Journal of Plant Sciences*, **6**: 1519-1526.
- **ALNAMER R., AIAOUI K., BOUIDIDA EI H., BENJAOUD A. & CHERRAH Y. (2012).** Toxicity and Psychotropic Activity of Essential Oils of *Rosmarinus officinalis* and *Lavandulaofficinalis* from Morocco. *J Biol Act Prod Nat*, **(4)**: 262 – 272.
- **ALI SHTAYEH M.S. & ABU GHEDEIB S.L. (1999).** Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Mycoses*, **42**: 665-672.
- **ALNAMER R., ALAOUI K., BOUIDIDA EI H., ALWASHLI A, BENJAOUD A. & ChERRAH Y. (2013).** Antispasmodic activity of Aqueous Extracts of *Lavandula officinalis*. *Int J Universal Pharm Bio Sci*, **2(5)**: 206-214.

## Références bibliographiques

---

### B/

- **BACHELOT C., BLAISE A., CORBEL T. & Le GERNIC A. (2006).** Les huiles essentielles. Mémoire de licence en biologie. Université catholique de l'Ouest Bretagne Nord. France.
  
- **BADIAGA M. (2001).** Etude Ethnobotanique. Phytochimique et activités biologiques de *NAUCLEA LATIFOLIA SMITH* une plante médicinale Africaine récoltée du Mali. Thèse de Doctorat. Université de BAMAKO.Mali.
  
- **BARRY A.L. & THORNSBERRY C. (1985).** Susceptibility test diffusion test procedure *American Journal of Clinical Pathology*, **19**: 492 - 500.
  
- **BASSENE E. & OLSCHWANG. (1987).** Plantes médicinales Africaines. Plantes médicinales et phytothérapie, Tome 21 :173-176.
  
- **BATOVSKA D., PARUSHEV S., STAMBOLIYSKA B., TSVETKOVA I., NINOVA M. & NAJDENSKI H. (2009).** Examination of growth inhibitory properties of synthetic chalcones for which antibacterial activity was predicted. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **44(5)**:2211-2218.
  
- **BAUER A.W., KIRBY W.M.M., SHERRIS T.C. & TRUCK M. (1966).** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *American Journal of Clinical Pathology*, **45**: 493 - 496.

## Références bibliographiques

---

- **BELLAKHDAR J. (1997)**. Pharmacopée traditionnelle marocaine, édition., Ibis Press, Paris.
- **BELLOUM Z. (2007)**. Etude phytochimique des plantes médicinales Algériennes, cas de l'espèce *Inula crithmoides* L. Thèse de doctorat. Université Mentouri de Constantine. Algérie.
- **BENAYACHE S., BENAYACHE F., DENDOUGHI H. & JAY M. (1991)**. Les flavonoïdes d'*Inula viscosa* L. *Plantes médicinales et phytothérapie*, **4** :170-176.
- **BENCHOHRA H.A., HAMEL L., BENDIMERED F.Z. & BENCHOHRA M. (2011)**.Composition chimique des huiles essentielles d'*Inula viscosa*. *Science Lib*, **1(3)** :1-7.
- **BENHAMOU N. (2009)**. La résistance chez les plantes. Principes de la stratégie défensive et applications agronomiques. Lavoisier, édition., TEC & DOC, Paris.
- **BENROKIA. & AOUAR K. (2015)**. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de *Pistacia lentiscus*. Mémoire de master. Université Djilali Bounaama Khemis Miliana. Algérie.
- **BENYAHIA A. (2014)**. Contribution à l'étude phytochimique et activité biologiques de deux plantes médicinales *Inula viscosa* et *Inula montana*. Mémoire de Master. Université ABOUBEKR BELKAID.Tlemcen, Algérie.
- **BETA T., NAM S., DEXTER J.E. & SPIRSTEIN H.D. (2005)**. Phenolics content and antioxidant activity of pearled wheat and Roller-Milled fractions. *Cereal chem*, **82**:390 -393.

## Références bibliographiques

---

- **BEZANGER BE., QUESNE L., PINKAS M., TORCK M. & TROTIN F. (1980).**Plantes médicinales des régions tempérées, édition., Maloine, Paris.
- **BEZZAZ N. (2014).** Détermination structurale des métabolites secondaires, et extraction des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia*.Mémoire de magister. Université de M'sila. Algérie.
- **BICHA S. (2003).** Etude de l'effet de la pollution du sol par les métaux lourds sur l'accumulation des métabolites secondaires de l'exsudat chloroforme d'*Inula viscosa* (Compositae). Thèse de magister. Université de Constantine. Algérie.
- **BONNAFOUS PH.D.C. (2013).** Traité scientifique. Aromathérapie .Aromatologie et Aromachologie, édition., Dangles, France :12.
- **BOTTA B., MENENDEZ P., ZAPPIA G., LIMA R.A.D., TORGE R. & MONACHE G.D.(2009).** Prenylated isoflavonoids: botanical distribution, structures, biological activities and biotechnological studies. *Current Medicinal Chemistry*,**16** :3414-3468.
- **BOUHARB H., EL BADAOUI K., ZAIR T., EL AMRI J., CHAKIR S. & ALAOU T. (2015).**Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Biosciences*, **78** :6685-6693.
- **BOUMAZA D. (2011).** Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales : *Inula viscosa*, *Rosmarinus officinalis* de la région d'Oran. Mémoire de magister. Université d'Oran. Algérie.

## Références bibliographiques

---

- **BOYLE W. (1995).** Spices and essential oils as preservatives. *American Perfumer Essential Oil Review*, **66**: 25-28.
- **BRONNER W.E. & BEECHER G. R. (1995).** Extraction and measurement of prominent flavonoids in orange and grape fruit juice concentrates. *Journal of chromatography A*, **705** :247-256.
- **BRUNETON J. (1999).** Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales . Lavoisier, 3<sup>ème</sup> édition., Tec& Doc, Paris : 125-130.
- **BRUNETON J. (2009).** Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. Lavoisier, 4<sup>ème</sup> édition . , TEC & DOC, Paris : 80.
- **BSSAIBIS F., GMIRA N. & MEZIANE M. (2009).** Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* W. Greuter. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* **3(1)**:44-45.
- **BURT S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology*, **94**:223-253.

C/

- **CAFARCHIA C., DE LAURENTIS N., MILILLO M.A. & LOSACCO V. (2001).** Fungistatic activity of a sesquiterpene lactone (Tomentosin) isolated from fresh *Inula viscosa* (Asteraceae) flowers from the Puglia region. *Parasitologia*, **43**: 117-121.
- **CAILLET S. & LACROIX M. (2007).** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Institut Armand-Frappier. Université de Laval .Québec.

## Références bibliographiques

---

- **CATIER O. & ROUX D. (2007).** Botanique. Pharmacognosie. Phytothérapie, édition., Wolters Kluwer, Paris.
- **CECCHINI T. & TICLI B. (2008).** Les plantes Médicinales, édition., De Vecchi, Paris : 13.
- **CHAOUCHE T.M. (2014).** Contribution à l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales. Thèse de doctorat. Université Abou- Bakr- Belkaid. Tlemcen.
- **CHARI Z. (1999).** Effets cicatrisants d'*Inula viscosa* sur les brûlures expérimentales chez le lapin. Thèse de magister. Université de Constantine. Algérie.
- **CHEBOUTI-MEZIOU N. (2016).** Contributions to study of the antimicrobial activity of *Inula Viscosa* Harvested in Boumerdes (Algeria). *Journal of Advances in Chemical Engg & Biological Sciences*, **3(1)** :160-161.
- **CHOUITAH O. (2012).** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*. Thèse de doctorat. Université Ahmed ben bella. Oran. Algérie.
- **CICCARELLI D., GARBARI F. & PAGNI A.M. (2007).** Glandular hairs of the ovary. *A helpful character for Asteroideae (Asteraceae) taxonomy*, **44**:1-7.
- **COUIC- MARINIER F. & LOBSTEIN A. (2013).** Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques*, **52(525)** :18-21.
- **COWAN M. M. (1999).** Plants products as anti-microbial agents. *Clinical Microbiology reviews*, **12(4)**:564-582.
- **COX S.D. & Mann C.M. (2000).** The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) *Journal of applied Microbiology*, **88(1)**:170-175.
- **CUSHNIE T.P.T., HAMILTON V.E.S., CHAPMAN D.G., TAYLOR P.W. & AGNEAU A.J. (2007).** Aggregation of *Staphylococcus aureus*

## Références bibliographiques

---

following treatment with the antibacterial flavonol galangin. *Journal of Applied Microbiology*, **103(5)**:1562-1567.

D/

- **DACOSTA Y. (2003)**. Les phytonutriments bioactifs, édition., Yves Dacosta, Paris :317.
- **DAGLIA M. (2012)**. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, **23 (2)**: 174-181.
- **DEBAT J., LEMOINE J. & LIER F.G. (1979)**. Neue Inhalts-stoffe aus *Inula visocsa* Ait. *Chemische Berichte*, **110** :1330-1334.
- **De DOMENICO I., WARD D.M., NEMETH E., VAUGHN M.B., MUSCI G., GANZ T. & KAPLAN J.(2005)**. The molecular basis of ferroportin-linked hemochromatosis. *Proc. Natl. Acad. Sci.USA*, **102**:8955–8960.
- **DELARRAS C. (2007)**. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Technique et documentation. Lavoisier, Paris.
- **DELARRAS C. (2014)**. Pratique en microbiologie de laboratoire. Recherche de bactéries et de levures-moisissures. Lavoisier, édition, Paris : 66.
- **DELAVEAU P. (1983)**. Histoire et renouveau des plantes médicinales, édition., Albein Michel,Paris : 300-303.
- **DELARRAS C. (2014)**. Pratique en microbiologie de laboratoire. Recherche de bactéries et de levures-moisissures, Ed., Lavoisier, Paris, 66.
- **DERWISH E., BENZIANE Z. & BOUKIR A. (2010)**. Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. *Aust. J. Basic & Appl. Sci*, **3 (4)**:3818-3824.

## Références bibliographiques

---

- **DJEDIOUI A. (2010).** Evaluation de l'activité hypoglycémiant et antihyperglycémiant de l'extrait aqueux d' *Inula viscosa* ; une plante de l'Est Algérien chez le rat avec un diabète induit. Mémoire de magister. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie.
- **DIXON R.A., XIE D.Y. & SHRMA S.B . (2005).** Proanthocyanidins-A final frontier in flavonoide research. *New Phytologist*, **165 (1)**: 9-28.

### E/

- **ENGELS C., SCHIEBER A. & GANZLE M.G. (2011).** Inhibitory spectra and modes of antimicrobial action of gallotanins from mango Kernels *Mangifera indica* L. *Applied and Environmental Microbiology*, **77 (7)**: 2215-2223.

### F/

- **FERGUSON L.R. (2001).** Role of plant polyphenols in genomic stability. *Mutation Research*, **475**:89-111.
- **FLEURENTIN J.E. (2007).** Les plantes qui nous soignent. Tradition et thérapeutique. Ouest-France.
- **FIEDLER K., SCHUTZ E. & GEH S. (2001).** Detection of microbial volatile organic compounds (MVOCs) produced by moulds on various materials. *Int J Hyg. Environ Health*. **204(3)**: 111-121.
- **FLEURIET A., JAY-ALLEMAND C. & MACHEIX J.J. (2005).** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique, édition., Presses polytechniques et universitaires romandes : 121-216.
- **FLORES N., JIMENEZ I.A., GIMENEZ A., RUIZ G., GUTIERREZ D., BOURDY G. & BAZZOCCHI I.L .(2009).** Antiparasitic activity of prenylated benzoic acid derivatives from *Piper* species. *Phytochemistry*, **70(5)**:621-627.

## Références bibliographiques

---

- **FOUCHE J.G., MARQUET A. & HAMBUCKERS A. (2000).** Les plantes médicinales, de la plante au médicament. « Observatoire du monde des plantes », édition., Sart-tilman, Liege.
- **FOURNIER P. (1947).** Livre des plantes médicinales et vénéreuses de France, édition., LECHEVALIER : 176-178.
- **FRIEDMAN M., HENIKA P.R., LEVIN C.E., MANDRELL R.E. & KOZUKUE N. (2006).** Antimicrobial activities of tea catechins and the aflavins and tea extracts against *Bacillus cereus*. *Journal of Food Protection*, **69(2)**:354-361.

### G/

- **GLORDANI R., KALOUSTIAN J. (2006).** Action anticandidosique des huiles essentielles: leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques. *Phytothérapie*, **3** : 121-124.
- **GORDON R.E., HAYNES W.C. & PANG C.H.N. (1973).** The genus *Bacillus*. *Agriculture Handbook*, **427**.
- **GRANDE M., TORRES P., PIERA F. & BELLIDO I.S. (1992).** Triterpenoids from *Dittrichia viscosa*. *Phytochem*, **31(5)**: 1826-1828.
- **GUIGNARD J.L. (1994).** Abrégé Botanique, 9<sup>ème</sup> édition: 204.

### H/

- **HABAUZIT V. & HORCAJADA M.N. (2008).** Phenolic phytochemicals and bone. *Phytochemistry Review*, **7**: 313-344.
- **HAMDI PACHA Y., BENTGHOUALA C. & MOULAHOU M. (1997).** Essais d'activités antifongiques et antibactériennes d'*Inula viscosa* L.

## Références bibliographiques

---

- **HAOUI I.E., DERRICHE R ., MADANI L. & OUKALI Z. (2011).** Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Arab. J. Chem.*, In Press.
- **HARBORN J.B. & HERBERT B. (1995).** Phytochemical dictionary. A Handbook of Bioactive Compounds from plants. Bristol, édition., Taylor & Francis.
- **HARBORNE J.B. & WILLIAMS C. A. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, **55**:481-504.
- **HAVSTEEN B. H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Therap*, **96** : 67-202.
- **HMAMOUCHI M. (2001).** Les plantes médicinales et aromatiques Marocaines, 2<sup>ème</sup> édition.

### I/

- **ISO. (1997).** Norme ISO 9235: Matières premières d'origine naturelle – Vocabulaire : 2.
- **ITO C., ITOIGAWA M ., ONODA S ., HOSOKAWA A ., RUABGRUNGI N., OKUDA T., TOKUDA H., NISHINO H. & FURUKAWA H. (2005).** Chemical constituents of *Murraya siamensis*: three coumarins and their anti- tumor promoting effect. *Phytochemistry*, **66(5)**:567-572.

### J/

- **JOHNSON M.A., LYLE G., HANLY M. & YEH K.A. (1998).** Aspergillus: a rare primary organism in soft-tissue infections. *Am Surg*, **64(2)**:122-126.

## Références bibliographiques

---

K/

- **KATARZYNA U., ANNA M., MARTA M., JOANNA J.B. & GRZEGORZ W. (2007).** Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*, **62** (2):132-135.
- **KATTOUF J., BELMOUKHTAR M., HARNAFI H., MEKHFI H., ZIYYAT A., AZIZ M., BNOUHAM M. & LEGSSYER A. (2009).** Effet antihypertenseur des feuilles d'*Inula viscosa*. *Springer-Verlag. Additional links. Journal phytothérapie*, **6(7)**: 309-312.
- **KHAN A.L ., HUSSAIN J., HAMAYUN M., GILANI S.A., AHMAD S., REHMAN G., KIM Y.H., KANG S.M. & LEE I.G. (2010).** Secondary metabolites from *Inula britannica* L and their biological activities. *Molecules*, **15**: 1562-1577.
- **KIM J.Y., LIM H.J ., LEE D.Y., KIM D.H., JEON R. & RYU J.H. (2009).** In vitro anti inflammatory activity of lignans isolated from *Magnolia fargesii*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **19(3)**:937-940.
- **KIM J.H., CAMPBELL B.C., MAHONEY N., CHAN K.L., MOLYNEUX R.J. & BALAJEE A. (2010).** Augmenting the activity of antifungal agents against aspergilla using structural analogues of benzoic acid as chemosensitizing agents. *Fungal Biology*, **114(10)**: 817-824.
- **KUBATA B.K., NAGAMUNE K., MURAKAMI N., MERKEL P., KABUTUTUA Z., MARTIN S.K., KALULUG T.M., MUSTAKUK H., HOSHIDA M., OHNISHI-KAMEYAMA M., KINOSHITA T., DUSZENKO M. & URADEA Y. (2005).** *Kola acuminata* proanthocyanidins: a class of anti-trypanosomal compounds effective against trypanosome brucei. *International Journal for Parasitology*, **35(1)**: 91-103.

## Références bibliographiques

---

### L/

- **LAGHRIFI K., EL IDRISSE M., MAKOUDI Y. & ALNAMER R. (2013).** In vitro antibacterial activity of the methanolic and ethanolic extract of *Inula viscosa* used in Moroccan traditional medicine. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, **2**:3963-3976.
- **LAMPRINI K., MANUEL C., ALEXIOS L.S., AIKATERINI A., ELMAR H., NEKTARIOS A., ANNETTE W. & AL-AHMAD A. (2014).** High-Level Antimicrobial Efficacy of Representative Mediterranean Natural Plant Extracts against Oral Microorganisms. *Biomedical Research International*, **14**:8.
- **LARDRY J.M. & HABERKOM V. (2007).** L'Aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev*, **61** : 7-14.
- **LUCCHEESI E.M. (2005).** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes : Conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat. Université de La Réunion. France.
- **LUICITA L.R. (2006).** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat. Institut national polytechnique de Toulouse. France.

### M/

- **MACHEIX J.J., FLEURIET A. & JAY-ALLEMAND C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques, 1<sup>ère</sup> édition., Press polytechnologiques et universitaires romandes : 4-5.
- **MAHMOUD B.S.M., YAMAZAKI K., MIYASHITA K., IL-SHIK S., DONG-SUK C. & SUZUKI T. (2004).** Bacterial microflora of carp (*Cyprinus*

## Références bibliographiques

---

- carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. *Food Microbiology*, **21**: 657-666.
- **MALECKY M. (2008)**. Métabolisme des terpénoïdes chez les carpins. Thèse de doctorat. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement. Paris.
  - **MAMOCI E., CAVOSKI I., SIMEONE V., MONDELLI D., AL-BITAR L. & CABONI P. (2011)**. Chemical composition and *In vitro* activity of plant extracts from *Ferula communis* and *Dittrichia viscosa* against *Postharvest Fungi*. *Molecules*, **16**: 2609-2625.
  - **MARFAK A. (2003)**. Radiolyse Gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de Limoges. France.
  - **MARTIN S. & ANDRIANTSITOHAINA R. (2002)**. Cellular mechanism of vasculo protection induced by polyphenols on the endothelium. *Annales de cardiologie et d'angiologie*, **51**:304-315.
  - **MASQUELIER J., DUMON M. & DUMAS J. (1979)**. Stabilisation des collagènes par des oligomères procyanidoliques. *Acta thérapeutique*, **1** :101-104.
  - **Mc CALLEY D.V. (2002)**. Analysis of the cinchona alkaloids by high performance liquid chromatography and other separation technics. *Review Journal of Chromatography*, **967**:1-19.
  - **MEKKIOU R. (2005)**. Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires du genre *Genista* (fabaceae). Université Constantine. Algérie.
  - **MAOZ M. & NEEMAN I. (1998)**. Antimicrobial effects of aqueous plant extracts on the fungi *Microsporium canis* and *Trichophyton rubrum* and on three bacterial species. *Letters in Applied Microbiology*, **26**:61-63.

## Références bibliographiques

---

- **MAOZ M., KASHMAN Y. & NEEMAN I. (1999).** Isolation and identification of a new antifungal sesquiterpene lactone from *Inula viscosa*. *Planta Med*, **65**: 281-282.
- **MAOZ M. & NEEMAN I. (2000).** Effect of *Inula viscosa* extract on chitin synthesis in dermatophytes and *Candida albicans*. *Journal of Ethnopharmacology*, **71** : 479-482.
- **MOROT-GAUDRY J.F. & PRAT R. (2012).** Biologie végétale. Croissance et développement, 2<sup>ème</sup> édition., DUNOD, Paris : 224-225.

N/

- **NADOUR M. (2010).** Mise en évidence de quelques propriétés anti oxydantes des polyphénols extraits de l'olive, variété Chamlal. Mémoire de magister. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. Algérie.
- **NAIT S.N. (2007).** Etude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes *Pituranthos chloranusthus* et *Marrubium vulgare*. Mémoire de magister. Université de Batna. Algérie.
- **NAJEFI R.B., GHOLAMREZA A. & ALI A. (2013).**Antimicrobial activities of phenolic and non-phenolic fractions of *Inula viscosa* (L) extract. *Journal of biologically active products from nature*, 1:325-331.
- **NGOBUM E., TAIWEG S. & MOTO F.C. (2009).** Anticonvulsant, anxiolytic and sedative properties of the root of *Nauclea latifolia Smith* in mice. *Epilepsy and Behavior*, **15**: 434-440.
- **NOGARET-EHRHART A.S. (2008).** La phytothérapie : se soigner par les plantes, 1<sup>ère</sup> édition. , Eyrolles, Paris.

## Références bibliographiques

---

### O/

- **OKAMURA H., MIMURA A., YAKOU Y., NIWANO M. & TAKAHARA Y. (1993).**Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*.*Phytochemistry*, **33(3)**:557-561.
- **OKSUZ. S. (1976).** Taraxasterol oacetate from *Inula viscosa*. *Planta medica*, **29**:343-345.
- **OUSSOU K.R., YOLOU S., BOTI J.B., GUESSENND K.N., KANKO C., AHIBO C. & CASANOVA J. (2008).** Etude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne.*European Journal of Scientific Research*, **24(1)**:94-103.
- **OVASKAINEN M.L., TORRONEN R., KOPONEN J.M., SINKKO H., HELLSTRO J., REINIVUO H. & MATTILA P. (2008).** Dietary intake and major food sources of polyphenols in Finnish adults. *The Journal of nutrition* : 562-566.

### P/

- **PARIS R.R. & MOYSE H. (1965).** Abrégé de matières médicales. Collection de pharmacie sous la direction de JAMOT, Tome 1, édition., Masson : 78-79-453.
- **PARIS M. & HURABIELLE M. (1980).** Abrégé de Matières Médicales. Pharmacognosie, Tome 1, Paris.
- **PONCE A.G., FRITZ R., DEL VALLE C. & ROURA S.I. (2003).**Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel- Wissenschaft and technologic*, **36**: 679-684.

## Références bibliographiques

---

### Q/

- **QUEZEL P. & SANTA S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Centre national de la recherche scientifique, Tome 2 :218-940.
- **QIN J.J., JIN H.Z., FU J.J., HU X.J., ZHU Y. & SHEN Y.H. (2008).** Anthranilic acid derivatives from *Inula japonica*. *Chin Chem Lett*, **19**: 556-558.

### R/

- **RAMLI B. (2013).** Extraction des flavonoïdes de la plante *Inula viscosa* de la région d'Oran et mise en évidence de l'activité microbienne. Mémoire de magister. Université d'Oran. Algérie.
- **RELOUZAT R. & THIOLLET J.P. (2002).** Combattre la douleur, 1<sup>ère</sup> édition. , Anagramma.
- **REMESY C., MANACH C., DEMIGNE C., TEXIER O. & REGERAT F. (1996).** Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Méd Nut*, **32** :17-27.
- **REZAIRE A. (2012).** Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa).Thèse de doctorat. Université des Antilles et de la Guyane. France.
- **ROULIER G. (1990).** Les huiles essentielles pour votre santé : traité pratique d'aromathérapie. Propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. , Dangles.

### S/

- **SALLE J.L. (1991).** Le Totum en phytothérapie, 1<sup>ère</sup> édition., Frisson-Roche, Paris:33.

## Références bibliographiques

---

- **SALVADOR M., VICTORIANO H., ROSA-MARIA G., JOSE-LUIS R. & MARIA CR. (2007).** Inhibition of pro *Inula viscosa* inflammatory enzymes by inuviscolide, a sesquiterpene lactone. *Fitoterapia*, **78**: 329–331.
- **SAMSON R.A., HOEKSTRA E.S. & FRISVAD J.C. (2004).** Introduction to food and airborne fungi. *Baarn, Centralalbureau voor Schimmellcultures*, **7**: 389 .
- **SARNI-MANCHADO P. & CHEYNIER V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire, 1<sup>ère</sup> édition., TEC et DOC, Paris :1.
- **SCALBERT A. (1999).** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, **30**: 3875–3883.
- **SEBAI M. & BOUDALIM M. (2012).** La phytothérapie entre la confiance et la méfiance. Mémoire professionnel. Institut de formation paramédical CHETTIA.
- **SMYTH T., RAMACHANDRAN V.N. & SMYTH W.F. (2009).** A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins. *International journal of antimicrobial agents*, **33(5)**: 421-426.
- **SQUALLI H., EL OUARTIA A., ENNABILI A., IBNSOUDA S., FARAH A., HAGGoud A., HOUARI A. & IRAQUI M. (2007).** Evaluation de l'effet antimycobactérien de plantes du Centre-Nord du Maroc. *Bull. Soc. Pharm*, **146** : 271-288.

T/

- **TALIBI I., ASKARNE L., BOUBAKER H., BOUDYACH E., MSANDA F., SAADI B. & AIT BEN AOUMAR A. (2012).** Antifungal activity of some Moroccan plants against *Geotrichum candidum*, the causal agent of postharvest citrus sour rot. *Crop Protection*, **35** :41-46.

## Références bibliographiques

---

- **TALIBI I. (2013).** Recherche de moyens alternatifs aux fongicides de synthèses pour le contrôle de la pourriture amère des agrumes. Thèse de doctorat. Université Ibn Zohr. Maroc.
- **THOPPIL R.J. & BISHAYEE A. (2011).** Terpenoids as potential chemopreventive and therapeutic agents in liver cancer. *World J Hepatol*, **3**: 228-249.

### U/

- **ULUBELEN A. & GOUN S. (1986).** Sesquiterpene acids from *Inula viscosa*. *Phytochemistry*, **26(4)**: 1223-1224.

### W/

- **WALTON N.J. & BROWN D.E. (1999).** Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products, édition., WORLD SCIENTIFIC:1-14.
- **WEGRZYN R. & LAMENDINTH H. (2005).** Huiles essentielles et aromathérapie. *Bucco- dentaire*, **1225**:62- 66.
- **WICHTL M. & ANTON R. (2009).** Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, édition ., LAVOISIR, Paris: 38-41.
- **WILKINSON J.M., AHMAD I., AQIL F. & OWAIS M. (2006).** Methods for testing the antimicrobial activity of extracts: 157-165; *In*“Modern Phytomedicine : Turning Medicinal Plants into Drugs”,édition., WILEY-VCH :405.

### Y/

- **YANIZ Z., DAFNIA A., FRIDMAN J. & PALVITCH D. (1987).** Plants used for the treatment of diabetes in Isreal.J. *Ethnopharmacol*, **2**:51-145.

## Références bibliographiques

---

### Z/

- **ZHANG H.B., WEN J.K., WANG Y.Y., ZHENG B. & HAN M. (2009).** Flavonoids from *Inula britannica* L. inhibit injury-induced neointimal formation by suppressing oxidative stressgeneration. *J Ethnopharmacol*, **126(1)**: 176-183.
- **ZHOU H.C., LIN Y.M., WEI S.D. & TAM NF-Y. (2011).** Structural diversity and antioxidant activity of condensed tannins fractionated from mangosteen pericarp. *Food Chemistry*, **129(4)**:1710-1720.

### Liens internet

(<http://lagunesgarrigue.canalblog.com/archives/2013/09/25/28083167.html>)

## Annexes

---

### ANNEXE 01 : Principe de la lyophilisation.

C'est un procédé de conservation des produits biologiques par dessiccation sous vide à basse température. Les substances sont tout d'abord congelées à basse température puis mises sous vide.

L'abaissement de la pression en dessous du point d'équilibre dit « point triple » entraîne une sublimation de la glace, c'est-à-dire son passage de l'état solide à l'état gazeux sans passer par la phase liquide. Un cycle de lyophilisation comporte deux phases : la congélation du produit et la déshydratation.

- Phase de congélation :

Deux paramètres importants parmi d'autres conditionnent sa mise en œuvre : le choix de la température de congélation et la vitesse d'abaissement à la température choisie.

Pour conserver dans les meilleures conditions les structures cellulaires, il convient de congeler à la température la plus basse (souvent  $-80^{\circ}\text{C}$ ) et d'y parvenir dans les délais les plus brefs afin de réduire au maximum l'action nocive due à la formation de gros cristaux.

- Phase de déshydratation :

Elle comprend elle-même deux stades : la sublimation qui élimine l'eau libre et la désorption qui extrait l'eau liée.

La sublimation est obtenue par un vide poussé et une température soigneusement contrôlée. La vapeur qui résulte de l'opération est captée par absorption sur des produits chimiques déshydratants ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{CaCl}_2$ ... etc).

Le procédé de lyophilisation est d'application courante en microbiologie pour conserver les souches microbiennes ou les virus dans des délais de temps les plus longs possibles et surtout sans altérer leurs propriétés essentielles : morphologie, physiologie, antigénicité et pathogénicité.



## Annexes

---

Image internet d'un lyophilisateur.

### ANNEXE 02 : Composition des principaux milieux de cultures utilisés

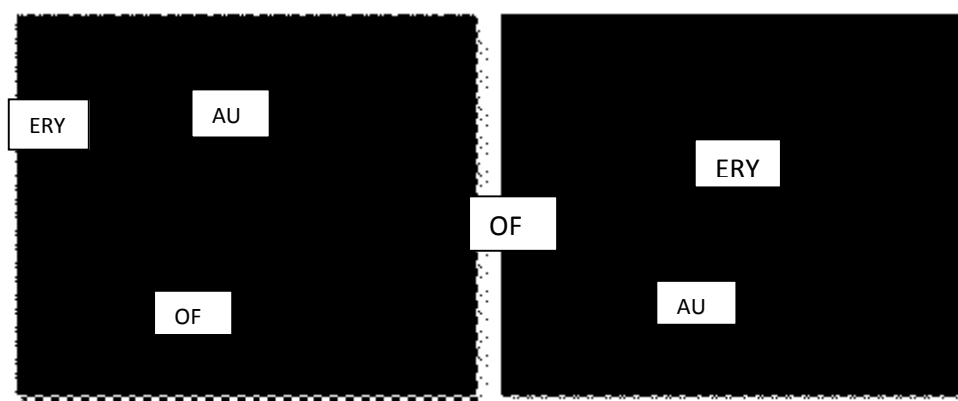
- Milieux liquides
- Eau physiologique stérile  
Composition en g/l  
Chlorure de sodium (NaCl) 9g ;  
Eau distillée 1000 ml ;  
pH= 7 ;  
Stérilisation à 121°C\ 15min.
  
- Bouillon BRAIN HEART INFUSION (BHIB)  
Composition en g/l  
Protéose- peptone 10g ;  
Infusion de cervelle de vœu 200g ;  
Infusion de cœur de beauf250 g ;  
Dextrose 2g ;  
Chlorure de sodium5g ;  
Phosphate disodique 2,5g ;  
Eau distillée1000 ml ;  
pH= 7,4 ;  
Stérilisation à 121°C\ 15min.
  
- Milieux solides
- Gélose Mueller Hinton (M.H)  
Composition en g/l  
Infusion de viande de bœuf 300 g ;  
Hydrolysate acide de caséine17,5 g;  
Amidon1,5 g;  
Gélose17 g;  
pH= 7,4;  
Stérilisation 121°C\ 15min.
  
- Gélose Nutritive (GN)  
Composition en g/l  
Peptone 10 g ;  
Extrait de viande 5g ;  
Gélose 15 g ;  
Eau distillée 1000 ml  
pH= 7,3 ;  
Stérilisation 121°C\ 15min.

## Annexes

---

- Gélose Sabouraud Dextrose Agar  
Composition en g/l  
Peptone mycologique 10g ;  
Dextrose 40g ;  
Agar 15g.

### ANNEXE 03 :



(1)

(2)

Photos des résultats de l'antibiogramme réalisé (1) *E.coli* ATCC25922, (2) *K.pneumoniae* ATCC700603

OF : Ofloxacin ; AU : Augmentin ; ERY : Erythromicine.

(*E.coli* ATCC25922 Ø= 27mm, *K.pneumoniae* ATCC700603 Ø = 37mm)

### ANNEXE 04 :

Tableau représentant les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les entérobactéries selon le Manuel de Standardisation (2011).

| Antibiotiques testés              | Charge des disques | Diamètres critiques (mm) |      |
|-----------------------------------|--------------------|--------------------------|------|
|                                   |                    | R                        | S    |
| Ofloxacin                         | 5 µg               | <22                      | ≥ 25 |
| Amoxicilline + Acide clavulanique | 20\ 10 µg          | ≤ 13                     | ≥ 18 |

## Annexes

---

### ANNEXE 05 :

#### Morphologie macroscopique et microscopiques des colonies *d'A.niger* :

##### ➤ Morphologie macroscopique

Les colonies sont à croissance rapide sur tous les milieux, elles se composent d'un feutre blanc ou jaune compact avec une couche dense de conidiophores de bruns à noirs. Le revers de la colonie est de crème à jaune. Les colonies sur gélose pomme de terre et dextrose (PDA) à 25 °C sont d'abord blanches, devenant rapidement noires au moment de la production de conidies. Le revers de la colonie est jaune pâle et se plisse de façon radiale au cours de la croissance.

##### ➤ Morphologie microscopique

Les hyphes sont septés et hyalins. Les têtes de conidies sont noires, de configuration globuleuse à radiale. Les conidies sont globuleuses à sous globuleuses, brunâtres et de texture verruqueuse. Les conidiophores sont longs à paroi lisse, devenant plus foncés à l'apex et se terminant en une vésicule globuleuse

## Résumé

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

L'objectif de notre travail est la mise en évidence de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*Inulaviscosa*, qui est une plante herbacée, aromatique, appartenant à la famille des Asteraceae, appelée communément « magraman ». Elle est vivace et visqueuse, largement utilisée en Afrique du nord, particulièrement en Algérie. Une extraction aqueuse des feuilles sèches de la plante a été effectuée en utilisant la méthode de macération. Ainsi, la mise en évidence de l'effet antibactérien et antifongique de l'extrait aqueux lyophilisé de la plante a été déterminée *in vitro*, par la méthode des disques, en présence de deux souches bactériennes pathogènes à Gram négatif: *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, et une souche fongique: *Aspergillus niger*. Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux de l'inule visqueuse aux concentrations utilisées a une légère inhibition sur la croissance des deux souches bactériennes (*E. coli* et *K. pneumoniae*) alors qu'aucun effet inhibiteur n'a été remarqué sur la souche fongique: *A. niger*.

**Mot clés :** Activité antibactérienne; Activité antifongique ; métabolites secondaires ; *Inula viscosa* ; extrait aqueux

## Abstract

For a long time, medicinal plants were the principal recourse for the manufacturing of natural remedies. They were used by various civilizations in traditional medicine.

The purpose of our study is to investigate the antimicrobial activity of *Inulaviscosa* aqueous extract. *Inulaviscosa* is an aromatic and herbaceous plant of Asteraceae family, commonly named "magraman". It is characterized by its viscose and perennial aspect, used within a large scale in North Africa, particularly in Algeria.

We have proceeded to an aqueous extraction of the dry leaves by referring to the soaking method. We have also highlight *in vitro*, the antibacterial and antifungal effect of the lyophilized aqueous extract through disks method, against two pathogenic and bacterial strains with negative gram: *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, as well as a fungal strain: *Aspergillus niger*. The obtained results show that the aqueous extract of *Inulaviscosa* with the used concentrations has a slight inhibition on the two bacterial strains (*E. coli* and *K. pneumoniae*), whereas no inhibitor effect against the fungal strain: *A. niger*.

**Key words:** Antibacterial activity; antifungal activity; secondary metabolite; *Inulaviscosa*, aqueous extract.