



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



Université Ziane Achour – Djelfa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Thème :

Evaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante des polyphénols du *Tamarix gallica* inoculées

Présenté par : TIFOUR Maghnia

TOABA Bochra

Devant le jury :

M. KACIMI M E

MAA Université de Djelfa

Président

Mme RACHEDI F Z

MAA Université de Djelfa

Examinatrice

Mme BENCHERIF K

MCA Université de Djelfa

Promotrice

Année universitaire : 2021-2022

REMERCIEMENT

Nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire. Nous disons Alhamdou li Allah pour tout.

Un grand merci à notre promotrice Mme **BENCHERIF Karima** pour le travail acharné qu'elle a fourni en supervisant le présent travail. Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans son aide.

J'aimerais remercier chaque membre de notre département, du plus petit au plus grand. De plus, un remerciement particulier à nos enseignants pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont fait preuve durant les cinq années de notre cursus. Et spécialement à mon binôme.

Mes remerciements s'adressent à Mr **KACIMI Mohamed**, et Mr **LAHRACHE TALAL**, Mme **AISSAOUI Regadia** et Mme **CHENOUF Nadia** pour leurs aides pratique. Et l'ingénieur de laboratoire de chimie au niveau du département des sciences de la matière pour les produits chimiques qu'elle nous a fourni.

Nos remerciements vont également à l'équipe du Laboratoire de microbiologie au niveaux de l'hôpital à Djelfa Mme **BENCHERIF Imane** et Mme **NOURA** pour l'accueil qu'elles m'ont réservé, le temps que chacun de ses membres m'a accordé et plus globalement, pour toutes les informations, les données, les documents... que chacune m'a apporté et qui ont enrichi ce travail.

Je remercie également l'équipe du laboratoire de la faculté SNV de l'université de Djelfa.

Je tiens à remercier spécialement mes amis solidaires : **AIT MIMOUNE Lina**, **SAILAA Maissa**, **GUESMIA Imane**, **KEZRANE Khadija**, **TOUMI Selma**, **CHENINI Isra** et son trinôme pour toute l'aide et son soutien moral et ses encouragements.

Je remercie aussi tous mes amis de la promotion de 2^{ème} année master spécialement les M2 Microbiologie appliquée.

TIFOUR Maghnia

REMERCIEMENT

Mon premier remerciement va tout d'abord à Dieu, le miséricordieux, Pour m'avoir

Donné la foi, le courage et la patience qui m'a permis de réaliser et de finir ce travail,

Merci de m'avoir appris ce que je ne sais pas.

Je remercie du fond du cœur mon frère **Dr. TOABA Omar**, pour ses conseils et son

Soutien.

Je tiens à remercier mon binôme que j'ai été heureuse avec sa compagnie tout au long de mes années universitaires, pour cela je suis reconnaissante.

Notre promotrice **Dr. Bencherif Karima**

Tous les mots ne seront pas suffisants pour exprimer nos profondes Reconnaissances et

Nos chaleureux remerciements à notre promotrice pour les connaissances qu'elle n'a cessé de nous prodiguer, de la Confiance qu'elle nous a témoignée et pour nous avoir guidé et orienté tout au long de notre projet.

TOABA Bochra

DEDICACE

Je tiens c'est avec grand plaisir que je dédie ce travail :

A la source de tendresse, celle qui ne m'a jamais laissé pleurer.
Celle Qui a couru à toute sa vitesse pour que j'atteigne mon but.

A l'unique meilleure mère sur cette planète : A toi **Mama**

A l'homme qui m'a dédié la vie, la sécurité et la paix.

A l'homme qui ne cesse de me gâter, Mon amour et mon respect
pour toi : Mon cher **Papa**.

A mon second père, mon très cher **frère Ilyas**

A mon frère : **Moustapha**

A mes sœurs : **Imane et Zineb**

A Mes chers parents qui m'ont toujours poussé et motivé dans
mes études pour tous les efforts et scarification, et à toute ma
famille qui sont toujours là pour moi.

Je dédie ce travail à mon cher oncle **TIFOUR IBRAHIM** que Dieu
vous accorde sa miséricorde et sa clémence.

TIFOUR Maghnia

DEDICACE

A la mémoire de ma chère Maman je ne saurais exprimer mon grand chagrin en ton absence. J'aurais aimé que tu sois à mes côtés ce jour.

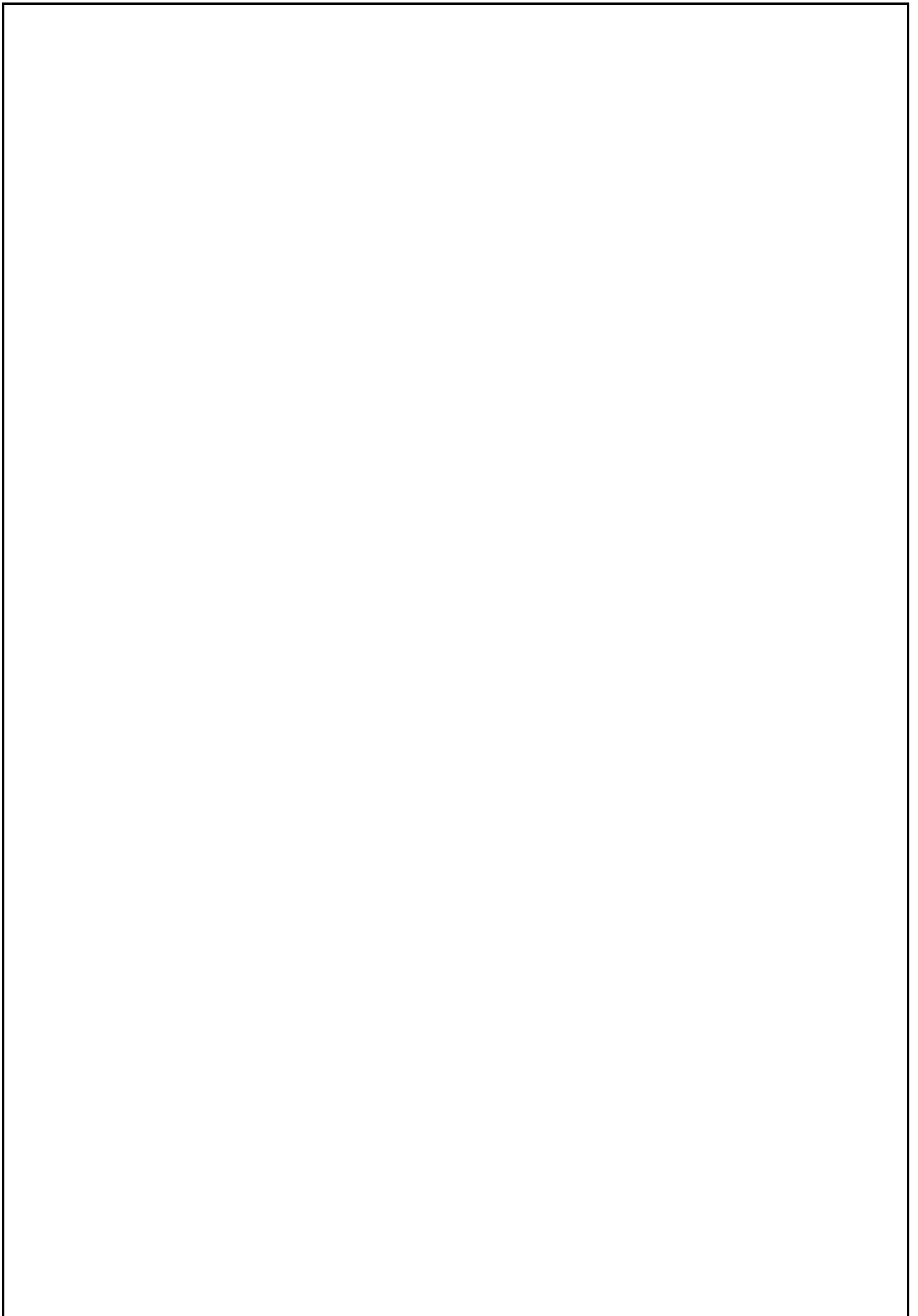
A ma très chère Tante, pour moi, tu es comme une deuxième mère, aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand respect, j'étais toujours le bon exemple de la femme forte et affectueuse pour moi, qui a œuvré pour ma réussite de son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour tout son assistance et sa présence dans ma vie. J'implore dieu le tout puissant de vous accorder bonne santé et longue vie.

A mon Père, que j'aime et que j'admire profondément. Pour votre soutien, votre patience, votre bonté et votre indulgence, merci infiniment.

A mon cher mari « **Mohamed** », qui n'as pas cessée de m'encourager malgré toutes les difficultés que j'ai rencontrées tout le long de mes études. Qui dieu le protège et lui offre le bonheur.

A mes chers frères « **Omar, Islam, Saif, Mohamed, Abderrahmane** » et mes chère sœurs « **Messouada, Sara, Soulef** », merci d'être à mes côtés. Ma vie ne serait pas aussi superbe sans votre présence et votre amour.

TOABA Bouchra



SOMMAIRES

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures.....	III
Liste des tableaux.....	IV
Introduction.....	01

Partie : Synthèse Bibliographique

Chapitre I : La plante *Tamarix gallica*

I. Généralités sur l'espèce <i>Tamarix gallica</i>	03
II. Classification.....	04
III. Description.....	06
IV. Distribution.....	07
V. Principaux constituants.....	08
VI. Propriétés thérapeutique.....	09
VII. Usages.....	10

Chapitre II : Les composés polyphénoliques

I. Généralité.....	12
II. Principales classes des composés phénoliques.....	12
II.1. Acides phénoliques.....	14
II.2. Flavonoïdes.....	16
II.3. Tanins.....	17
II.3.1. tanins hydrolysables.....	17
II.3.2. tanins condensés.....	17
II.3.3. phlorotanins.....	18
III. Lignines.....	18
IV. Stilbénes.....	18
V. Saponines.....	19
VI. Biodisponibilité des polyphénols.....	19
VII. Intérêt des composés phénoliques.....	20
VII.1. Rôles Physiologique.....	20
VII.2. Rôles Biologique.....	20
VII.3. Rôles Pharmaceutiques et Thérapeutiques.....	21

Chapitre III : Les souches nocives à l'homme

I.	<i>Escherichia coli</i>	25
	I.1. Classification.....	25
	I.2. Habitat.....	25
	I.3. Caractères bactériologiques.	26
	I.3.1. Caractères morphologiques.....	26
	I.3.2. Caractères biochimiques	26
	I.4. Pouvoir pathogène	27
II.	<i>Staphylococcus aureus</i>	28
	II.1. Classification.....	28
	II.2. Habitat.....	28
	II.3. Caractères bactériologiques.	29
	II.3.1. Caractères morphologiques.....	29
	II.3.2. Caractères biochimiques	29
	II.4. Pouvoir pathogène	30
III.	<i>Proteus mirabilis</i>	31
	III.1. Classification.....	31
	III.2. Habitat.....	31
	III.3. Caractères bactériologiques.	32
	III.3.1. Caractères morphologiques.....	32
	III.3.2. Caractères biochimiques	32
	III.4. Pouvoir pathogène	33
IV.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34
	IV.1. Classification.....	34
	IV.2. Habitat.....	34
	IV.3. Caractères bactériologiques.	35
	IV.3.1. Caractères morphologiques.....	35
	IV.3.2. Caractères biochimiques	35
	IV.4. Pouvoir pathogène	36
V.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	37
	V.1. Classification.....	37
	V.2. Habitat.....	37
	V.3. Caractères bactériologiques.	38
	V.3.1. Caractères morphologiques.....	38
	V.3.2. Caractères biochimiques	38
	V.4. Pouvoir pathogène	39
VI.	<i>Streptococcus spp</i>	40
	VI.1. Classification.....	40
	VI.2. Habitat.....	40
	VI.3. Caractères bactériologiques.	41
	VI.3.1. Caractères morphologiques.....	41
	VI.3.2. Caractères biochimiques	41
	VI.4. Pouvoir pathogène	42

Partie : Expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.	Première partie : Extraction	
I.1.	Préparation de l'extrait hydroalcoolique par macération	44
I.1.1.	Récolte et séchage de matériel végétal.....	44
I.1.2.	1 ^{er} Méthode d'extraction.....	44
I.1.3.	2 ^{ème} Méthode d'extraction.....	46
I.1.4.	3 ^{ème} Méthode d'extraction.....	46
I.2.	Tests Phytochimique.....	48
I.2.1.	Flavonoïdes.....	48
I.2.2.	Tanins.....	48
I.2.3.	Saponines.....	48
I.2.4.	Anthocyanes.....	48
I.2.5.	Caractérisation des phénols.....	49
II.	Deuxième partie : Evaluation activité antimicrobienne	
II.1.	Préparation des milieux de cultures.....	49
II.2.	Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits végétales.....	51
II.2.1.	Échantillonnage.....	51
II.2.2.	Isolement	52
II.2.3.	Purification.....	52
II.2.4.	Préparation du standard McFarland.....	55
II.2.5.	Préparation de la suspension bactérienne.....	56
II.2.6.	Préparation des disques.....	56
II.2.7.	Méthode de diffusion.....	56
II.2.8.	Méthode de puits.....	57
II.2.9.	Teste de la poudre.....	57
II.3.	Lecture.....	57
II.4.	Antibiogramme.....	58
III.	Troisième partie : Evaluation l'activité antioxydante.	
III.1.	Evaluation de la capacité antioxydante totale.....	59
III.2.	Capacité de piégeage des radicaux DPPH.....	60
III.3.	Quantification colorimétrique des phénols	
III.3.1.	Dosage polyphénols.....	61
III.3.2.	Dosage flavonoïdes.....	61
III.3.3.	Dosage total des tanins condensés.....	62

Chapitre II: Résultats et Discussion

I.	Résultats	
I.1.	Première partie : Extraction	
I.1.1.	Rendement d'extraction	63
I.1.2.	Tests phytochimique.....	64
I.1.2.1.	Flavonoïdes.....	64
I.1.2.2.	Tanins.....	64
I.1.2.3.	Saponines.....	65

I.1.2.4. Anthocyanes.....	65
I.1.2.5. Caractérisation de phénols.....	66
I.2. Deuxième partie : Evaluation l'activité antimicrobienne.	
I.2.1. Activité antimicrobienne des extraits bruts par la méthode des disques.....	67
I.2.2. Activité antimicrobienne des extraits bruts par la méthode des puits.....	69
I.2.3. Activité antimicrobienne des extraits bruts par la méthode de diffusion des disques et poudre	71
I.2.4. Résultats d'antibiogramme.....	73
I.3. Troisième partie : Evaluation l'activité antioxydantes	
I.3.1. Evaluation de la capacité antioxydantes totale.....	75
I.3.2. Capacité de piégeage des radicaux DPPH.....	77
I.3.3. Quantification colorimétriques des phénols	
I.3.3.1. Dosage polyphénols.....	78
I.3.3.2. Dosage flavonoïdes.....	79
I.3.3.3. Dosage total des tanins condensés.....	80
II. Discussion	81
Conclusion.....	85
Références bibliographiques.....	86
Annexes	
Résumés	

Liste des Abréviations

H₂SO₄ : Acide sulfurique

NaCO₃ : Carbonate de sodium NaCO₃

DPPH : 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle

HCl : Acide chlorhydrique

Nh₄OH : Ammoniaque

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

BaCl₂ : Chlorure de baryum

FeCl₃ : Chlorure ferrique

DMSO : Diméthylsulfoxyde

NaOH : L'hydroxyde de sodium

Mg²⁺ : Magnésium

NaNO₂ : Nitrite de sodium

IC50 : Concentration Inhibitrice 50%

R : Résistance

S : Sensible

I : Intermédiaire

M : Moyenne

N : Nulle

L : Limite

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute.

MH: Muller Hinton

GN: Gélose Nutritive

ADN: Acide désoxyribonucléique

VP: Voges-Proskauer

RM : Rouge de Méthyle

H₂S : Sulfure d'hydrogène

LPNS: List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature

UFC: Unité formant colonies

GAE: équivalent acide gallique

°C : Degré Celsius

EQ : équivalent Quercitine

PS : poids sec

µg : Microgramme.

µl : Microlitre.

% : Pourcentage

mg : Milligramme

ml : Millilitre

nm : Nanomètre

Liste des Figures

Figure 01: Position du clade des Caryophyllales dans les Angiospermes selon la classification angiospermes phylogénie groupe 2003.....	05
Figure 02: Position de la famille Tamaricacée dans le clade des Caryophyllales selon classification angiospermes phylogeny group 2003	06
Figure 03: Schéma du <i>Tamarix gallica</i>	07
Figure 04 : Distribution de l'espèce <i>Tamarix gallica</i> au monde.....	08
Figure 05 : Usage de l'espèce de <i>Tamarix gallica</i>	11
Figure 06 : Classes des composées phénoliques.....	13
Figure 07 : Structure générale des acides phénols dérivés de l'acide benzoïque.....	15
Figure 08 : Structure générale des acides phénols dérivés de l'acide cinnamique.....	16
Figure 09 : Structure générale des flavonoïdes.....	16
Figure 10 : Tanins condensés.....	18
Figure 11 : Stilbénes phénoliques.....	19
Figure 12 : <i>E. coli</i> sous microscope électronique(a) et après coloration de Gram(b).....	26
Figure 13 : <i>Staphylococcus aureus</i> sous microscope électronique(a) et après coloration de Gram(b).....	29
Figure 14 : <i>Proteus mirabilis</i> sous microscope électronique(a) et après coloration de Gram(b).....	32
Figure 15 : Observation de <i>P. aeruginosa</i> au microscope électronique.....	35
Figure 16 : <i>Klebsiella pneumoniae</i> sur Gélose Mac-Conkey.....	38

Figure 17 : schéma <i>Streptococcus spp</i>	41
Figure 18: <i>Tamarix gallica</i> partie aérienne.....	44
Figure 19 : Broyage.....	44
Figure 20 : Macération hydrométhanolique.....	45
Figure 21: Evaporation a l'aide rota vapeur.....	45
Figure 22 : Résidus sec 1 ^{er} méthode.....	45
Figure 23 : Macération avec Méthanol.....	46
Figure 24 : Filtration.....	46
Figure 25: Macération sur acétone, chloroforme et méthanol.....	47
Figure 26 : Filtration.....	47
Figure 27: Résidus secs 2 ^{eme} méthode.....	47
Figure 28: Résidus secs 3 ^{eme} méthode.....	47
Figure 29: Préparation de la gélose Mac-Conkey.....	50
Figure 30: Préparation Mueller Hinton.....	51
Figure 31: Ensemencement selon technique trois cadrans.....	53
Figure 32: Préparation du McFarland 0.5.....	55
Figure 33: Méthode des puits.....	57
Figure 34 : Antibiogramme.....	59
Figure 35: Détermination capacité DPPH.....	61
Figure 36: Préparation dosage Flavonoïdes.....	62
Figure 37: Rendement d'extraction <i>Tamarix gallica</i>	63
Figure 38: Réaction positive de Flavonoïdes.....	64
Figure 39: Réaction positive les tanins.....	65
Figure 40: Test mousse saponine.....	65
Figure 41: Test anthocyanes.....	66
Figure 42 : Test caractérisation phénols.....	67
Figure 43 : Résultats évaluation activité antimicrobien dilution de 10%.....	68
Figure 44: Résultats évaluation activité antimicrobien d'extrait	68
Figure 45: a. Courbe étalonnage de l'acide gallique. b. capacité antioxydante des deux extraits	76
Figure 46: Capacité de piégeage du radical DPPH	77

Figure 47: a. Courbe étalonnage d'acide gallique. b. concentration polyphénols dans des extraits testés.....	78
Figure 48: a. Courbe étalonnage de Quercétine. B. dose des flavonoïdes dans les extraits du <i>T. gallica</i> testés.....	79
Figure 49: a. Courbe étalonnage de Quercétine. b. concentration en Tanin des deux extraits testés.....	80

Liste des Tableaux

Tableau 01: Classification des <i>Tamarix Gallica</i> selon Cronquist (1988)	02
Tableau 02: Classification des <i>Tamarix gallica</i> selon APG 2003.....	02
Tableau 03 : Principales classes des composés phénoliques.....	14
Tableau 04: Classification de <i>Escherichia coli</i>	25
Tableau 05: Classification de <i>Staphylococcus aureus</i>	28
Tableau 06: Classification de <i>Proteus mirabilis</i>	31
Tableau 07: Classification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34
Tableau 08: Classification de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	37
Tableau 09: Classification de <i>Streptococcus spp.</i>	40
Tableau 10 : Isolement des souches bactériennes	52
Tableau 11 : Aspect des souches bactériennes dans milieux sélectif et ordinaire.....	53
Tableau 12: Résultats d'activité antimicrobienne de première méthode d'extraction.....	67
Tableau 13 : Résultats d'activité antimicrobienne d'extraits <i>T. gallica</i> par la méthode des puits.....	69
Tableau 14: Résultats d'activité antimicrobienne d'extraits par méthodes de diffusion des disques et poudre.....	71
Tableau 15: Valeur des zones d'inhibition pour Entérobactéries.....	73
Tableau 16 : Valeur des zones d'inhibition pour <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus spp</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	74
Tableau 17 : L'activité antioxydante de la plante <i>Tamarix gallica</i>	81

INTRODUCTION

Introduction :

De nos jours, un intérêt croissant est apporté à l'étude et à l'utilisation des plantes médicinales pour la recherche scientifique à des fins industrielles (diététiques, pharmaceutiques et cosmétiques). Ceci est principalement dû à leur forte activité biologique en plus de toutes les réactions biochimiques et enzymatiques qu'elles renferment.

Tamarix gallica est l'une des plantes de la médecine traditionnelle. Elle appartient à la famille des Tamaricacées. C'est une halophyte qui se présente sous forme d'arbustes avec un système racinaire profond. Originaires de la région méditerranéenne et du nord de la Chine (DRABU et al., 2012). Ces halophytes sont connues par leur capacité à résister à des conditions climatiques difficiles. De plus, plusieurs investigations phytochimiques sur l'espèce *T. gallica* ont permis de mettre l'accent sur une série de produits qui ont une importance sur plusieurs aspects. Parmi ces composés phytochimiques, nous pouvons citer : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins qui aident la plante à résister aux stress abiotiques et aux diverses conditions climatiques extrêmes (BAHRAMSOLTANI et al., 2019).

Les composés phénoliques ont gagné un intérêt dans le domaine pharmaceutique, celui de la chimie et en plus dans la médecine. Et ce grâce à leur propriété thérapeutique. Les composés phénoliques ou les polyphénols sont largement représentés dans le règne végétal se sont les métabolites secondaires les plus abondants dans les plantes. Ces métabolites comprennent de nombreuses classes allant des acides phénoliques, anthocyanes, flavonoïdes, saponines et les tanins condensés. Ils ont des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, activité anti-ulcéreuse, anti-cancérogène, et antimicrobiennes (NAWAZ et al., 2006).

Les antioxydantes sont les molécules qui peuvent interagir en toute sécurité avec les radicaux libres pour mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées et sont intimement impliquées dans la prévention des dommages du cancer, du vieillissement, en plus d'une grande variété de maladies (DRABU et al., 2012). Les composés phénoliques sont connus pour leur activité antioxydante attribuée aux radicaux libres hautement réactifs et aux métabolites secondaires bioactives.

La résistance aux antibiotiques pose de grands problèmes au niveau de la santé publique à l'échelle mondiale. De nouveaux mécanismes de résistance émergent et se répandent dans le monde entier, compromettant la capacité de traiter les maladies infectieuses courantes.

Actuellement, environ 25 000 personnes meurent chaque année d'infections résistantes aux médicaments dans l'Union européenne. En fait, les infections causées par des bactéries résistantes sont associées à une morbidité et une mortalité plus élevées que les maladies dans lesquelles les bactéries sont sensibles aux antibiotiques. (MUYLAERT et al., 2012).

Les scientifiques sont donc à la recherche de nouveaux produits antimicrobiens naturels chez les plantes médicinales qui présentent un grand potentiel et l'opportunité de découvrir de nouveaux antibiotiques. À l'aide de dépistage des composés phytochimiques dans les extraits de plantes plusieurs produits et formules antimicrobiennes sont découvertes.

Compte tenu du rôle important joué par *Tamarix gallica* dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité nous avons focalisé notre recherche sur l'évaluation des activités antimicrobiennes et antioxydantes des composées phénoliques du *T. gallica*. L'activité antimicrobienne a été évalué sur des souches pathogènes à l'homme pouvant conduire à des intoxications alimentaires aigues.

Partie :
Synthèse Bibliographique

CHAPITRE I

L'espèce végétale *Tamarix gallica*

I. Généralités sur l'espèce *Tamarix gallica* :

Tamarix gallica appartient au genre *Tamarix*. Il y a environ 50 à 60 espèces de plantes à fleurs dans la famille des Tamaricacées. Le nom générique provient du latin et est censé se référer à la rivière Tamaris en Espagne (DRABU et al., 2012). Les Tamaris sont des arbres ou arbustes fréquents dans les terrains salés, caractérisés par de petites feuilles écailleuses, souvent imbriquées. Grâce à leur élégance et à leur abondante floraison, les Tamaris se classent parmi les plus décoratives de nos plantes ligneuses (DERGISI et al., 1977).

Tamarix gallica L. est communément appelé « Jhau » en hindi, et Tamarisk en anglais. Désignés respectivement en arabe aux nom de "Thlaia" (plus "Ethel") et "Fersiga" (plus "The Aàrich") en algérie appelé "Tarfa" (ELAMINE, 2017).

Ces arbustes ou petits arbres feuillus, sont originaires d'Arabie saoudite et de la péninsule du Sinaï et sont très communs autour de la région méditerranéenne. Il existe dans de nombreuses autres régions en tant qu'espèce introduite envahissante, devenant souvent une mauvaise herbe vénéneuse (DRABU et al., 2012).

Cette espèce possède des branches ligneuses fragiles qui tombent à l'automne et de petites feuilles les recouvrent. La forme des feuilles s'adapte aux conditions extrêmement sèches au fil du temps. Les fleurs roses sont petites, hermaphrodites et poussent sur des épis plumeux étroits (DRABU et al., 2012).

Elles fleurissent généralement plus tôt que les feuilles, la première en mai et parfois la seconde en août. Il a été cultivé comme plante ornementale en raison de son grand nombre d'épis de fleurs roses voyantes. Cette plante se trouve principalement dans les régions salées et se trouve entre les zones inter-dunales du désert (DRABU et al., 2012).

II. Classification :

- **Classification classique des *Tamarix gallica* selon Cronquist 1988 :**

Selon Cronquist (1988) *Tamarix gallica* est un arbuste appartient au classe de *Dicotylédones*, il fait partie de la famille de *Tamaricaceae*, au genre de *Tamarix* (Tableau 01).

Tableau 01: Classification des *Tamarix Gallica* selon Cronquist (1988).

Règne :	<i>Plantae</i>
Sous règne :	<i>Tracheobionta</i>
Division :	<i>Magnoliophyta</i>
Classe :	<i>Dicotylédones</i>
Sous-classe :	<i>Dilleniidae</i>
Ordre :	<i>Violales</i>
Famille :	<i>Tamaricaceae</i>
Genre :	<i>Tamarix</i>
Espèce :	<i>Tamarix gallica</i>

- **Classification des *Tamarix gallica* selon APG 2003 :**

Classification des *Tamarix gallica* selon la classification phylogénétique APG 2003 (Angiosperm Phylogeny Group).

Tableau 02: Classification des *Tamarix gallica* selon APG 2003.

Clade :	<i>Angiospermes</i>
Clade :	<i>Dicotylédones vraies</i>
Clade :	<i>Noyau des Dicotylédones vraies</i>
Ordre :	<i>Caryophyllales</i>
Famille :	<i>Tamaricaceae</i>

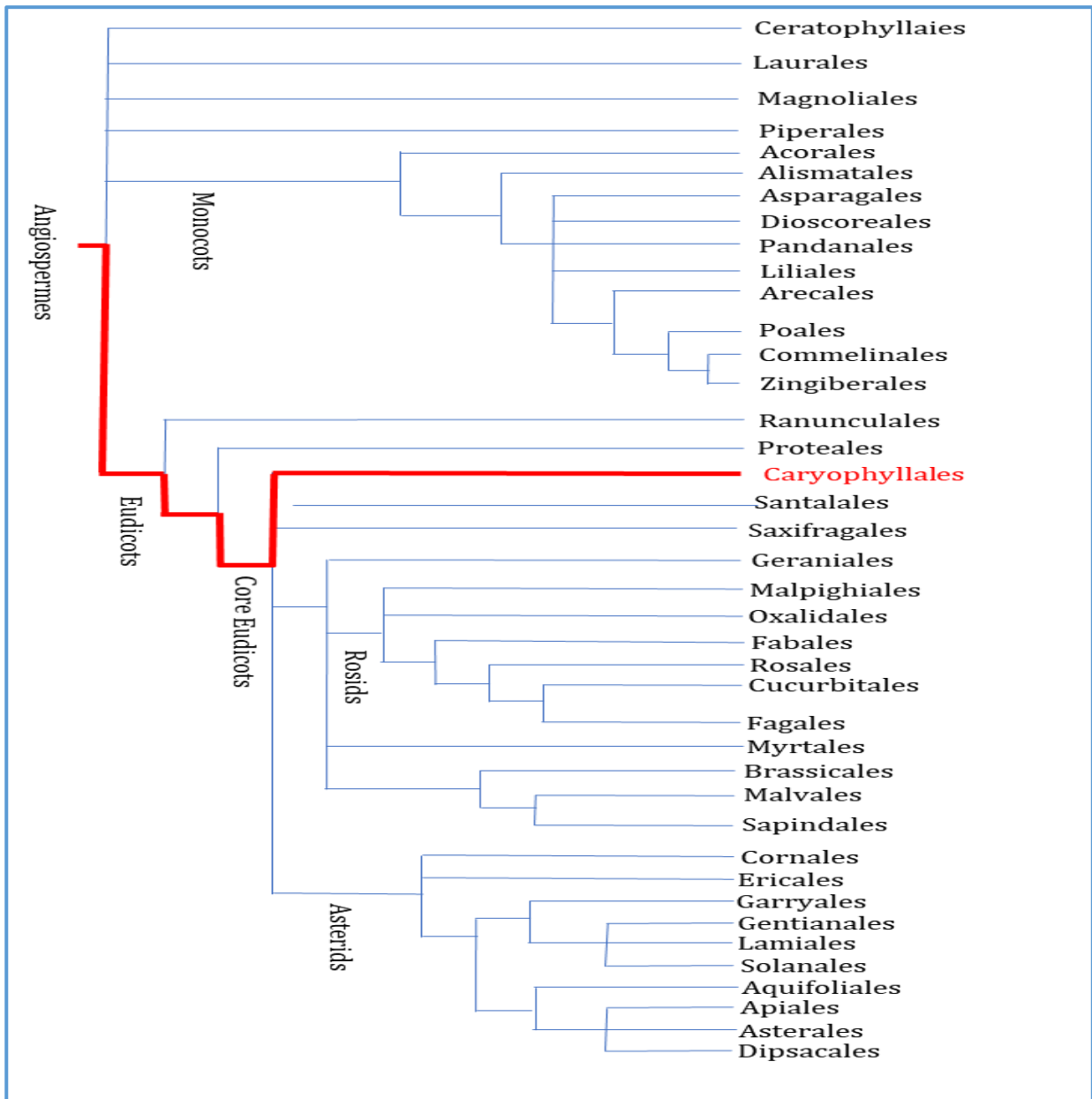


Figure 01: Position du clade des Caryophyllales dans les Angiospermes selon classification phylogénétique 2003(APG 2003)

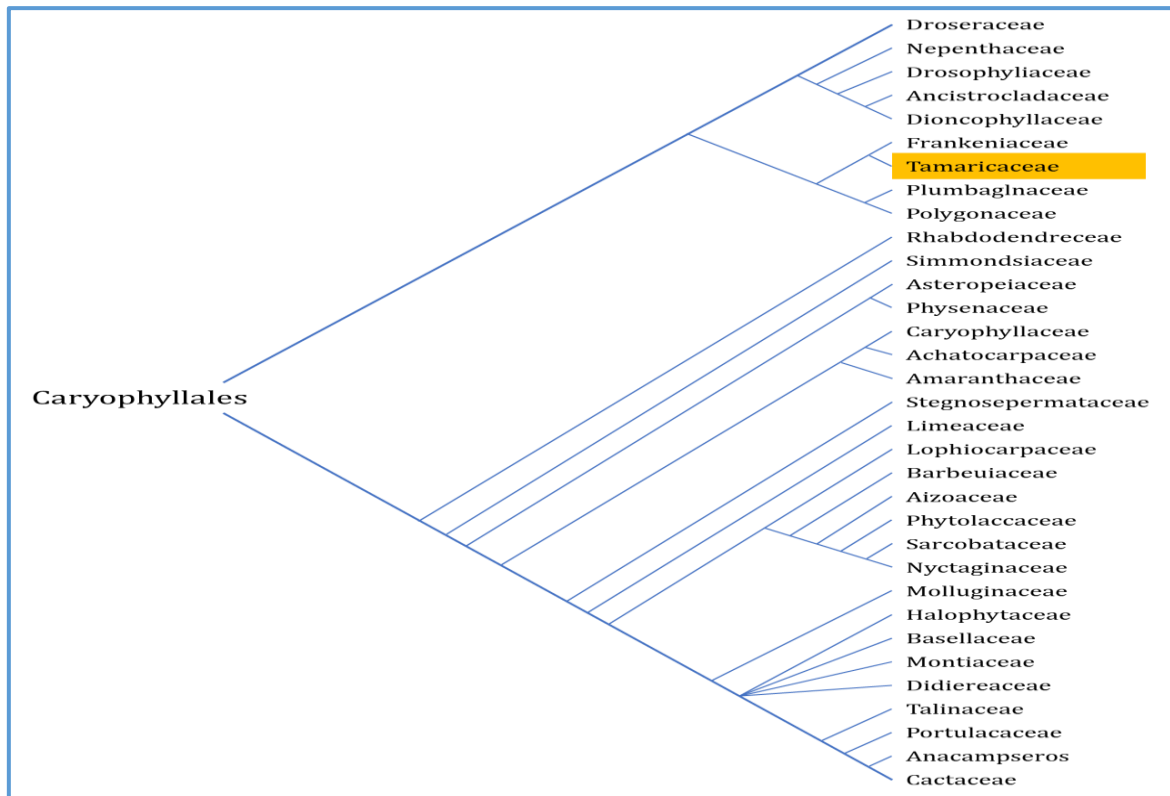


Figure 02: Position de la famille Tamaricacée dans le clade des Caryophyllales selon classification phylogénétique 2003 (APG 2003)

III. Description :

Tamarix gallica est un petit arbre de la famille des *Tamaricacée*, généralement de 2-3 mètre de haut. A rameaux grêles, effilés, rougeâtre. La couleur de l'écorce varie entre noir et violet foncé ou bien le brun, brun noirâtre. Leurs racines sont en général très développées et longues qui lui permettent d'intercepter les nappes d'eau profonde et d'exploiter les ressources naturelles en eau (DRABU et al., 2012).

Caractérisées par des petites feuilles sessiles plus longue que large de 1 à 2 mm, écailleuse de couleur vert. De forme ovale lancéolée, Ayant des glandes sécrétrices de sel (BATTANDIR et al., 1907).

La plupart des fleurs sont petites bisexuée, rarement unisexuelles, actinomorphe bractées, pentamères ou tétramère. Sont portées par un pédoncule très court (BENOIT et al., 2021).

Sépales et pétales imbriqués, sépale de 0.7 à 1.2 mm de long et pétales 1.5 à 2 mm de long, (ALLRED, 2019) avec les étamines saillantes à anthères apicales, les fruites sont des capsules anti-poux. Il fleurit au printemps (Mars-Avril) (BAUM, 1978).

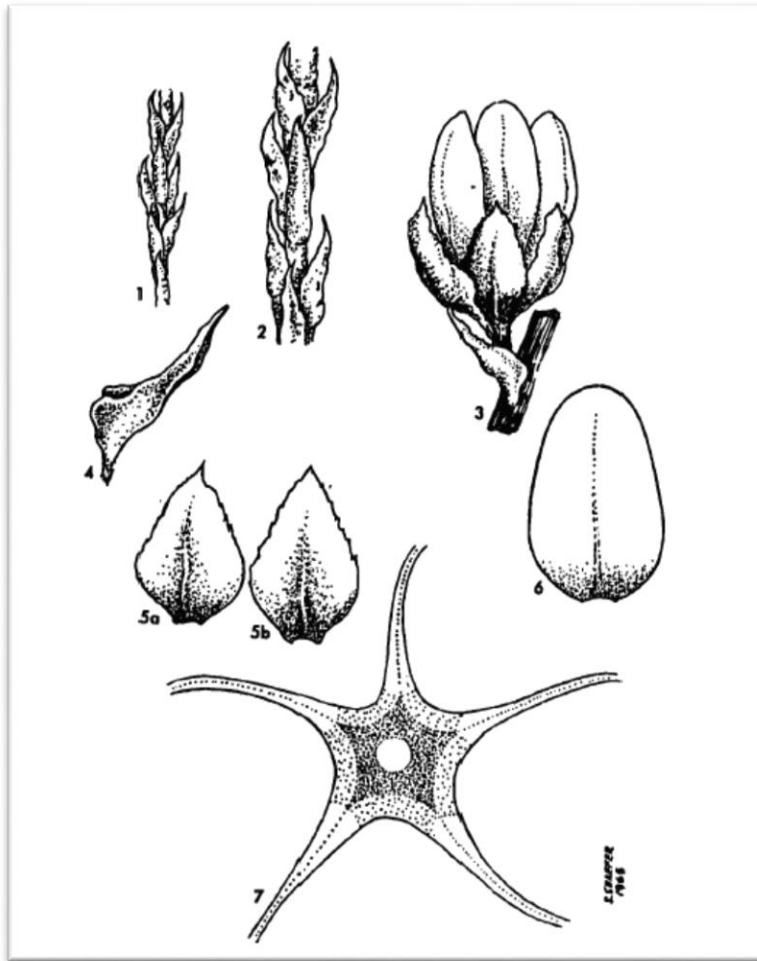


Figure 03: Schéma du *Tamarix gallica* (BAUM, 1978)

1.Rameau jeune (x5), **2.** Rameau adulte (x10), **3.** Fleur (x10), **4.** Feuille (x20), **5a.** Sépale externe, **5b.** Sépale interne, (x20), **6.** Pétale (x20), **7.** Androcecium (x30).

IV. Distribution :

Tamarix gallica est un arbuste halophyte des zones côtières et désertique. Il pousse généralement sur tous les types de sol (SAIDANA et al., 2007).

Le genre *Tamarix gallica* se trouve le long les côtes méditerranéennes ou il peut être spontané ou cultivé.

Environ 125 espèces distribuées dans les diverses régions du monde (Figure 04), notamment aux États-Unis, en Europe principalement en France, en Espagne, en Portugal et en Italie. En Afrique principalement l'Afrique du Nord (l'Algérie, Tunis, Maroc) (ZAAFOURI et al.,1999), et dans les forêts côtières du Bengale, au Pakistan, en Afghanistan, en Iran, en Turkménistan au Nord de la Chine, en Indien, dans Japon et l'Arabie Saoudite (MIRZA et al.,2016) (Il est considéré comme exotique en Australie (GASKIN et al.,2003))

C'est un arbuste qui présente une longue durée de vie qui tolère une large gamme de conditions environnementales, et qui résiste aux stress abiotiques tels que la salinité, les températures élevées et la sécheresse. Il se retrouve sur les flancs orientaux du Hoggar (Sahara central d'Algérie) (BEN AMMAR, 2019).



Figure 04 : Distribution de l'espèce *Tamarix gallica* au monde (Original, 2022)

V. Principaux constituants :

Tamarix gallica est une plante riche en composé polyphénoliques tel que :

- **Flavonoïde :**

Le terme flavonoïde rassemble de nombreux composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, la classe la plus importante des métabolites secondaires de plante, et sont distribuées dans toute la plante, localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, dans les cellules épidermiques des feuilles (BENCHAACHOUA, 2019).

- **Tanins :**

Tamarix gallica est composé de tanin (50%) par ex. l'acide ellagique et l'acide gallique. Sont des substances naturelles poly phénoliques, hydrosolubles, ayant en commun la propriété de tanner la peau. Ils se localisent dans divers organes: racine, feuilles, fleurs (BENCHAACHOUA, 2019).

On distingue 3 groupe de tanins :

- Tanins hydrolysables.
- Tanins condensés.
- Phlorotanins
- **Resveratrol :**

Est un polyphénol végétal antioxydante appartenant à la classe des stilbènes. Que l'on trouve dans de nombreuses espèces végétales telles que *Tamarix gallica* il est produit par la plante pour offrir une protection contre des organismes indésirables comme les champignons et les moisissures (NASSOR et al., 2020).

- **Anthocyanine :**

Les anthocyanes représentent une sous-classe des composés phénoliques. Ce sont des glycosides hydrosolubles. Dans les plantes, ils sont utilisés pour la pigmentation, la protection contre les espèces réactives d'oxygène ou la fixation de l'azote (ABRSALNER et al., 2019).

VI. Propriétés thérapeutique :

L'utilisation des plants médicinales comme médicaments est une nouvelle industrie pharmaceutique moderne à cause de ses avantages thérapeutique variés (ELAMIN., 2017).

Tamarix gallica fait partie de ces plantes médicinales à intérêt réservé aux populations locales, il est connu comme étant tonique pour le foie et la rate utilisé avec du vinaigre même avec de l'eau, le bois du *T. gallica* serait bénéfique aux patients atteints de maladies de la rate. Il était utilisé comme traitement de divers troubles hépatiques (BAHRAMSOLTANI et al., 2019).

Tamarix gallica est utilisé pour un large spectre de maladies infectieuses de la simple toux et du rhume aux infections dentaires et des infections graves comme la tuberculose, la variole. Il existe également des rapports de propriétés cicatrisantes et anti-diarrhéiques et anti-inflammatoires ainsi que cicatrisantes et anti-irritables anti-hémorroïdes, qui peuvent être attribuées à sa teneur élevée en composés phénoliques astringents. Diabète, problèmes de foie et de rate, rhumatismes et maladie maculaire (BAHRAMSOLTANI et al., 2019).

Tamarix gallica est considéré comme agent antiulcéreux pour les ulcères cutanés et gastro-intestinaux et comme agent antihémorragique pour différents types de saignements. Ses

branches et ses feuilles sont utilisées dans un bain de siège (bath sits) pour traiter la leucorrhée (BENAMMAR,2019).

Tamarix gallica a constitué un certain nombre de produits phytochimique, qui divulgue ses utilisations à diverses fins thérapeutiques.

Tamarix peut être utilisé pour le traitement de divers problèmes de santé, par exemple anti-hyperlipidémies, anti-nociceptifs, anti-diarrhéiques, antioxydantes, anti-cancéreux, antimicrobiens (LAVAIN et al.,2011).

VII. Usages :

L'application de *Tamarix gallica* dans le génie végétal concerne principalement la résistance à l'érosion éolienne. Il est utilisé comme brise-vent et fixateur de dunes au Maghreb et en Chine pour lutter contre la désertification (BENCHAACHOUA, 2019).

Il stabilise la plupart des sols sablonneux car ses racines aident à fixer le sol.

Dans l'industrie alimentaire, *T. gallica* est considérée comme plante mellifère et peut être utilisé comme substitut des sucres.

Pour la décoration, il est parfait pour les petits jardins car il a la même fonction qu'un arbre, mais il n'est pas trop grand. Il est souvent utilisé pour l'alignement des trottoirs. En effet, sa grande résistance au vent et à l'eau de mer lui permet de créer une superbe décoration dans ces lieux. Les tamaricacées sont régulièrement coupées pour fournir du bois de chauffage (BENCHAACHOUA, 2019).

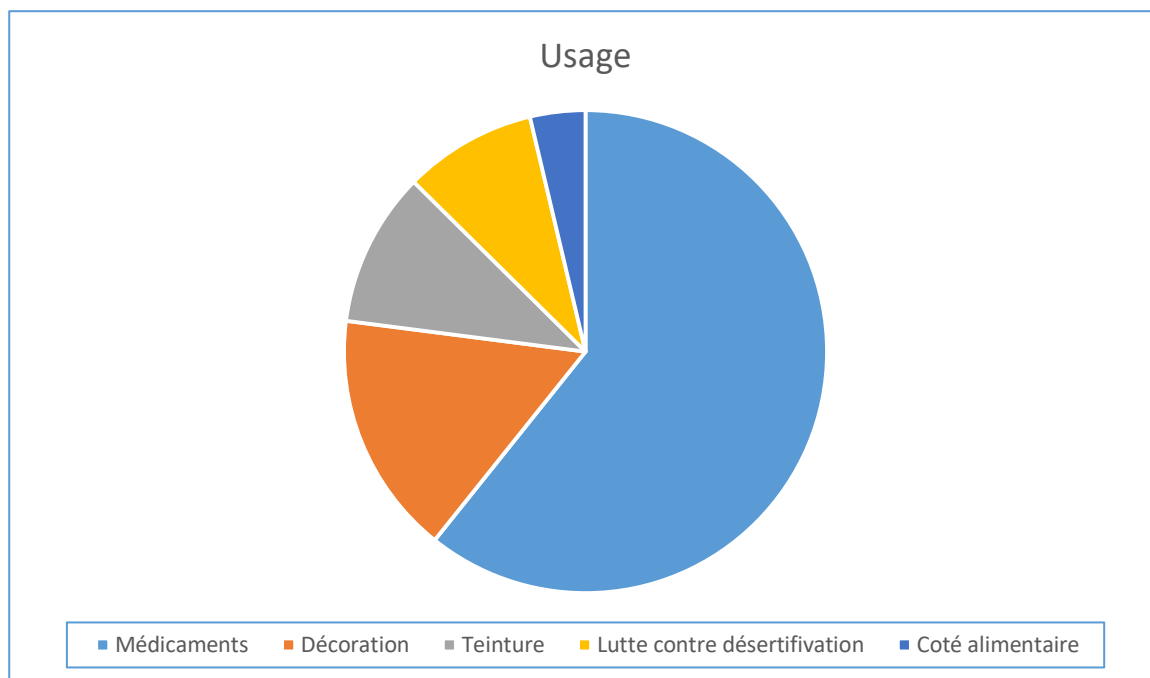


Figure 05 : Usage de l'espèce de *Tamarix gallica* (Original.2022)

Tamarix gallica appartient à la famille des Tamaricacée qui sont des petits arbres a petites fleurs distribuées dans les zones arides en particulier les déserts, récemment l'espèce *Tamarix gallica* a été présenté dans l'industrie pharmaceutique à cause de ses activités cytotoxiques, antimicrobiens, antioxydantes, anticancéreux, hepatoprotecteur, anti diarrhéiques, antipaludique, vermifuge, anti hémorroïdaire (ELAMIN, 2017).

L'utilisation de *Tamarix gallica* été beaucoup plus dans la médecine traditionnelle pour traiter un large groupe des maladies telles que les trouble de la rate et les maladies oculaires, les rhumatismes, leucoderme (BAHRAMSOLTANI et al., 2019).

CHAPITRE II

Les Composées Polyphénoliques

I. Généralités :

Les composés phénoliques sont des composés qui ont un ou plusieurs groupes hydroxyle attachés directement à un cycle aromatique généralement sous forme d'esters ou glycosides plutôt que sous forme de composés libres (VERMERRIS et al., 2008).

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires synthétisés par les végétaux, elles interviennent dans plusieurs fonctions vitales comme la défense contre les agents pathogènes, et ils ont des propriétés antioxydantes. Les polyphénols interviennent dans la croissance des végétaux et sont responsables de la coloration des certains fruits, fleurs et des feuilles des plantes (MANACH et al., 2005).

Les composés phénoliques sont responsables du tannage de la peau chez les êtres humains. Et chez les végétaux ils représentent un moyen de conservation des produits consommés. Ils sont à l'origine de la modification des propriétés organoleptiques et nutritionnelles des aliments, en particulier en raison des brunissements auxquels ils donnent naissance lors des processus de transformation (MACHIEX, 2013).

II. Principales classes des composés phénoliques :

Le terme phénolique couvre un groupe très vaste et diversifié de composés chimiques qui peuvent être classés de plusieurs façons. HARBORNE et SIMMONDS (1964) ont classé ces composés en groupes basé sur le nombre de carbones dans la molécule. Une classification alternative a été utilisée par SWAIN et BATE-SMITH (1962). Ils ont regroupé les phénols en "courants" et "moins courants" catégories. Par la suite, RIBEREAU-GAYON (1972) a regroupé les phénols en trois familles comme suit :

1. Phénols largement distribués - omniprésents dans toutes les plantes, ou qui représente une importance dans une plante spécifique.
2. Phénols moins répandus - nombre limité de composés connus.

3. Constituants phénoliques présents sous forme de polymères.

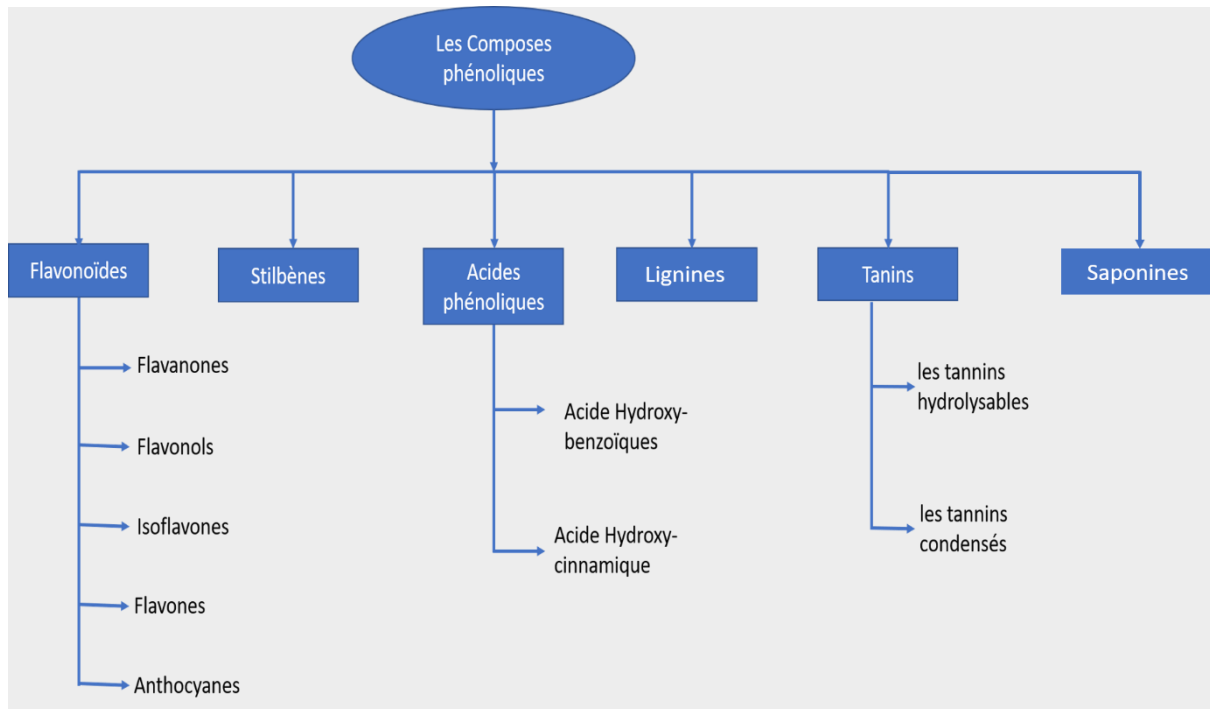


Figure 06 : Classes des composées phénoliques (Original.,2022)

Généralement les composés phénoliques ont un grand nombre de structures différentes en fonction du nombre et de la position des groupements hydroxyles. Les composés phénoliques sont classés suivant la complexité du squelette de base (noyau C_6), le degré de modification (oxydation, hydroxylation) et enfin suivant les molécules auxquelles ils sont associés (glucides, lipides, protéines, autres métabolites). Les formes les plus simples sont représentées par deux principaux groupes dont dérivent de nombreux composés : les acides hydroxy-cinnamiques et les flavonoïdes. Les formes complexes sont pour la plupart issues de la condensation de certaines formes simples et renferment, entre autres, les tannins et les lignines (ROCHOW et al., 1966).

Les flavonoïdes représentent le groupe le plus vaste des polyphénols et le plus largement distribué dans le règne végétal. Plus de 4000 flavonoïdes différents ont été identifiés. Ils sont répartis en différents groupes, définis en fonction de la structure de leur squelette carboné. ce sont les acides phénoliques (C_6-C_1 et C_6-C_3) et surtout les flavonoïdes ($C_6-C_3-C_6$) qui sont les plus fréquentes. Les lignines ($C_6-C_3-C_3-C_6$) sont les moins répandus. Le dernier groupe est celui des stilbènes ($C_6-C_2-C_6$); avec le groupe des resveratrol qui sont les plus connus avec leur présence dans la peau des raisins. Plusieurs classes de flavonoïdes sont retrouvées dans notre alimentation. Elles diffèrent par le degré d'oxydation du noyau hétérocyclique oxygéné.

Tableau 03 : Principales classes des composés phénoliques (MACHIEX., 2013)

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine
C ₆	Phénols simples	Catéchol	
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	p-hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acide caféique, férulique	Pomme de terre, pomme
C ₆ -C ₄	Coumarines	Scopolétine	Citrus
C ₆ -C ₁ -C ₆	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C ₆ -C ₂ -C ₆	Xanthones	Mangiférine	
	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> ● Flavonols ● Anthocyanes ● Flavanols ● Flavanones 	Kaempférol, quercétine, Cyanidine, pélargonidine, Catéchine, épicatechine, Naringénine	Fruit, légumes, Fleurs, fruits rouges, Pomme, raisin Citrus
	Isoflavonoïdes	Daidzéine	Soja, pois
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	Biflavonoïdes	Amentoflavone	Fruits, légumes
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines		Bois, noyaux des fruits
(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Tanins condensés		Raisin rouge, kaki

II.1 acides phénoliques :

Les acides phénoliques ou phénolcarboxyliques (un type de phytochimique appelé polyphénol) sont l'une des principales classes de composés phénoliques des végétaux. Ce terme décrit généralement les composés phénoliques ayant un groupe "acide carboxylique". Ils représentent les formes les plus simples des composées phénoliques. Ils possèdent au moins une fonction hydroxyle et une fonction carboxyle. Ce sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque (C₆-C₁) ou de l'acide cinnamique (C₆-C₃).

Ils sont présents en forte concentration dans la variété des aliments à base de plantes, à savoir : les graines, les peaux de fruits et les feuilles de légumes. En règle générale, ils sont présents sous forme liée tels que les amides, les esters ou les glycosides et rarement sous forme libre (PEREIRA, 2009).

Les acides phénoliques sont principalement divisés en deux sous-groupes : les acides hydroxybenzoïque et hydroxycinnamique.

- Les Acides hydroxycinnamiques, dérivés de l'acide cinnamique, présents dans les plantes souvent sous forme d'esters simples avec de l'acide quinique ou du glucose. L'acide hydroxycinnamique lié soluble le plus abondant est l'acide chlorogénique (une forme combinée d'acides caféique et quinique). Les quatre acides hydroxycinnamiques les plus courants sont les acides féruliques, caféique, p-coumarique et sinapique.
- D'autre part, les acides hydroxybenzoïques possèdent une structure commune en C₆-C₁ et dérivent de l'acide benzoïque. Ils se trouvent sous forme soluble (conjugués avec des sucres ou des acides organiques) et liés à des fractions de paroi cellulaire sous forme de lignine. Par rapport aux acides hydroxycinnamiques, les acides hydroxybenzoïques se trouvent généralement en faible concentration dans les fruits rouges, les oignons et le radis noir, etc. Les quatre acides hydroxybenzoïques couramment trouvés sont les acides p-hydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique et syringique (SHAHIDI et al., 1995).

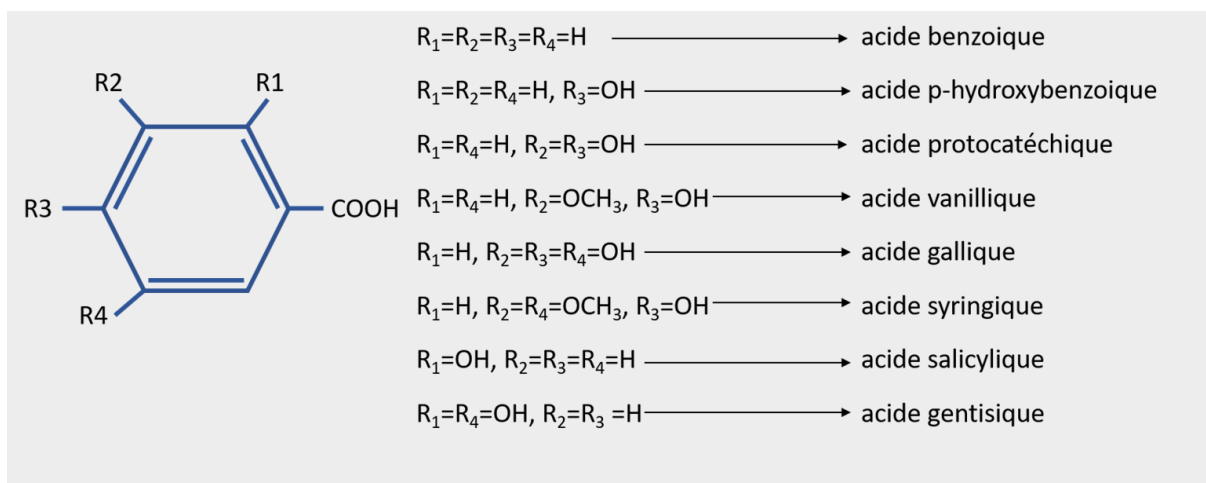


Figure 07: Structure générale des acides phénols dérivés de l'acide benzoïque phénoliques (MACHIEX, 2013)

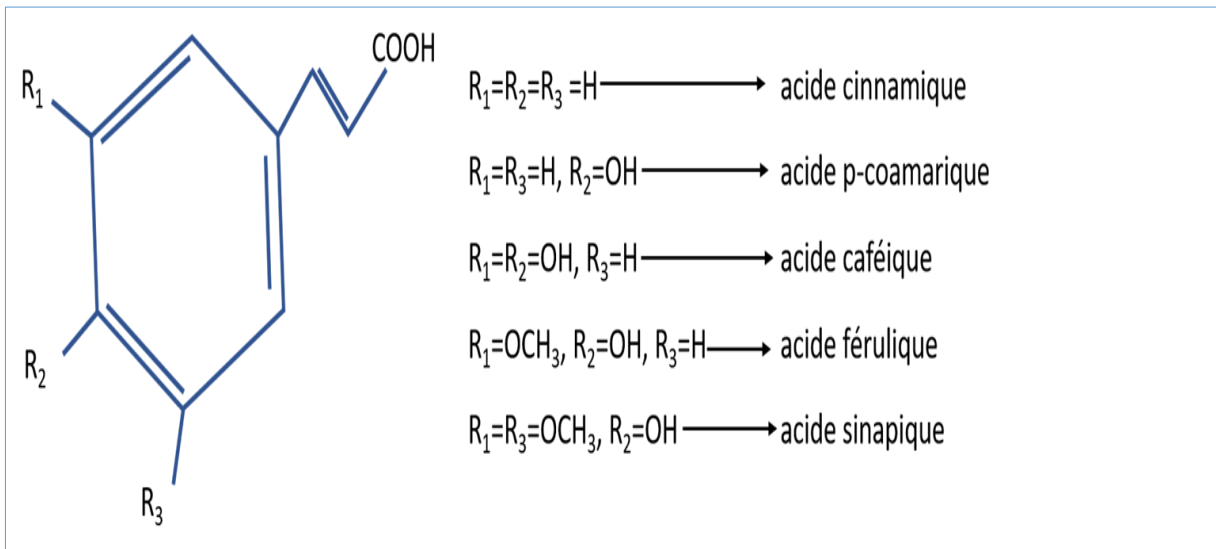


Figure 08 : Structure générale des acides phénols dérivés de l'acide cinnamique (MACHIEX, 2013)

II.2 Flavonoïdes :

Comme les acides phénoliques, les flavonoïdes sont des métabolites secondaires à structure polyphénoliques. Ils sont synthétisés par phénylpropanoïdes, le composant de départ est la molécule de phénylalanine. Les effets biologiques de ces composés varient. Tous les flavonoïdes ont le squelette structural de base C₆-C₃-C₆, composé de deux cycles aromatiques en C₆ et un cycle hétérocyclique qui contient un atome d'oxygène. Ils ont été classés en six sous-groupes :

1. Flavones (luteonin, apigenin, tangeritin).
2. Flavonols (quercétine, kaempférol, myricétine, isorhamnétine, pachypodol).
3. Flavanones (hespéridine, naringénine, ériodictyol).
4. Flavan-3-ols: catéchines and épicatechines.
5. Isoflavones (génistéine, daidzéine, glycitéine).
6. Composés d'anthocyanidines (cyanidine, delphinidine, malvidine, pélagonidine, péonidine, pétunidine).

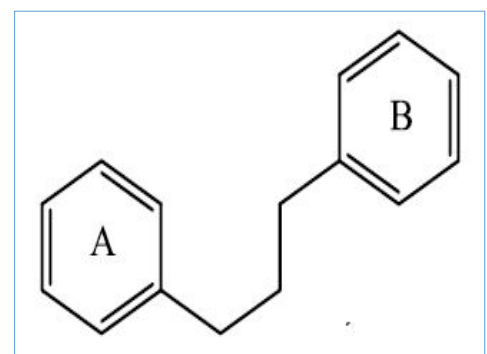


Figure 09: Structure générale des flavonoïdes (GHASEMZADEH et al., 2011)

Les flavonoïdes sont responsables de la coloration des plantes (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaïnes), même si leur présence est parfois masquée par leur

présence sous forme "leuco", ce qui explique leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire (GHASEMZADEH et al., 2011).

II.3 Tanins :

Les tanins comprennent un groupe de composés avec une grande diversité de structures qui partagent leur capacité à se lier et à précipiter les protéines. Dans le cadre de la médecine naturelle japonaise et chinoise les tanins ont été utilisés comme composés anti-inflammatoires et antiseptiques. Ils ont également été utilisés pour traiter un large éventail de maladies, y compris diarrhée et tumeurs de l'estomac ou du duodénum. (ALKURD, 2008).

Les tanins sont abondants dans de nombreuses espèces végétales différentes, en particulier le chêne (*Quercus* spp.), châtaignier (*Castanea* spp.), vinaigrier (*Rhus typhina*), et bonnets à franges (*Tellima grandiflora*). Des tanins peuvent être présents dans les feuilles, l'écorce et les fruits. Ils protègent la plante contre les infections et herbivore.

Les tanins peuvent être classés en trois groupes : les tanins condensés, tanins hydrolysables et tanins complexes. Ces groupes peuvent ensuite être subdivisés (ALKURD, 2008).

II.3.1 tanins hydrolysables :

Les tanins hydrolysables sont des métabolites végétaux secondaires, qui sont également des composés phénoliques. Selon leur structure, les tanins hydrolysables sont classés en trois sous-classes : dérivés simples de l'acide gallique, Gallotanins (GT) et Ellagitanins (ET).

Les tanins hydrolysables sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique soit un dimère de ce même acide. (CONARD et al., 1998).

La teneur en Ellagitanins de plusieurs produits végétaux est élevée. Plusieurs espèces végétales contiennent d'importantes quantités d'ellagitanins, tel que : les noix de cajou, les pistaches, les mangues, les noisettes, les kakis, les châtaignes, les noix, les goyaves, les clous de girofle, les piments, les grenades, les prunes, abricots, pêches, les fruits rouges et les thés (CONARD et al., 1998).

II.3.2 tanins condensés :

Les tanins condensés sont également appelés proanthocyanidines. Ce sont des flavonoïdes (oligomères ou polymères) constitués de flavan-3-ol (catéchine) unités. L'hydrolyse des tanins dans des conditions difficiles telles que le chauffage en milieu acide donne anthocyanidines.

Les tannins condensés sont très abondants dans certains organes aériens des végétaux, tel que les fruits et les feuilles (DYKES, 2006).

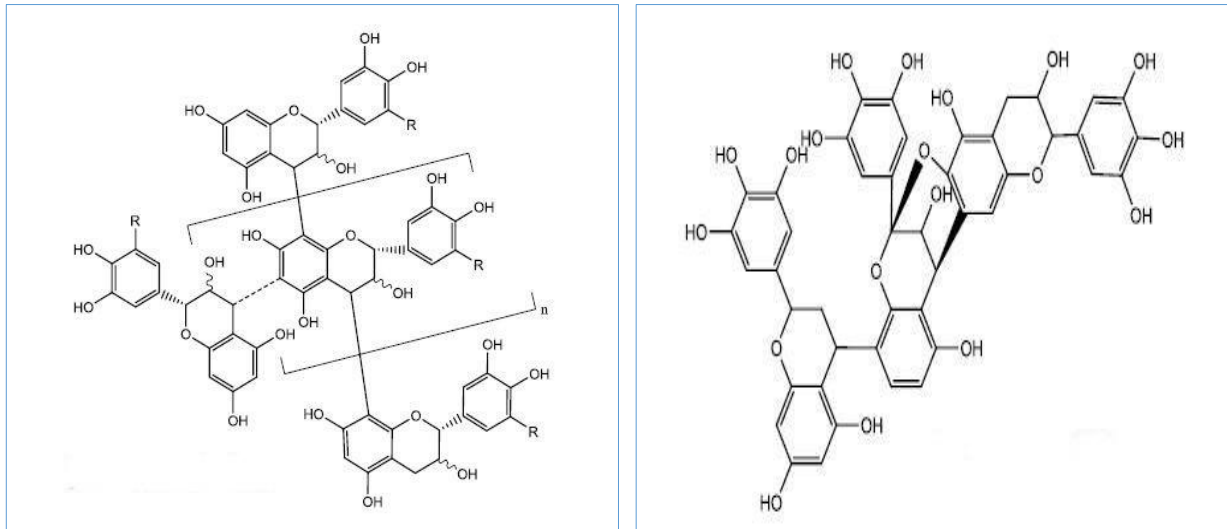


Figure 10 : Tanins condensés (DYKES, 2006)

II.3.3 Phlorotanins :

Les phlorotanins sont des composés polyphénoliques formés par la polymérisation d'unités de phloroglucinol. Ils peuvent être classés en quatre sous-classes (VERMERRIS et al., 2008), à savoir :

- Phlorotanins avec une liaison éther (liaison aryl-éther comme dans les phloréthols),
- Un phényle liaison (liaisons aryl-aryle),
- Une liaison éther ainsi qu'une liaison phényle(fucophloréthols)
- Une liaison dibenzodioxine.

II.4 Lignines :

Les lignines sont des polymères phénoliques. Ce sont les deuxièmes biopolymères les plus abondants sur terre (après la cellulose), et jouent un rôle important dans le maintien de la

structure cellulaire des végétaux. En effet, leur hydrophobicité facilite également le transport de l'eau à travers le tissu vasculaire. Enfin, la complexité chimique et le manque apparent de régularité dans leur structure rend les lignines extrêmement appropriées comme une barrière physique contre les attaques d'insectes et de champignons (JUTIVIBOONSUK, 2005).

II.5 Stilbènes :

Les stilbènes sont une petite famille de métabolites secondaires végétaux dérivés de la voie des phénylpropanoïdes, et produit dans un certain nombre d'espèces végétales non apparentées. Ces composés ont de nombreuses implications dans la résistance des plantes aux maladies. Un grand nombre de preuves indiquent que les stilbènes participent à la fois à la défense constitutive et inductible mécanismes chez les plantes (CHONG, 2009).

Les stilbènes se trouvent en petites quantités dans l'alimentation humaine, parmi ces composés on trouve le resvératrol qui est un anticancéreux présent dans certaines plantes médicinales, l'exemple le trans-resvératrol.

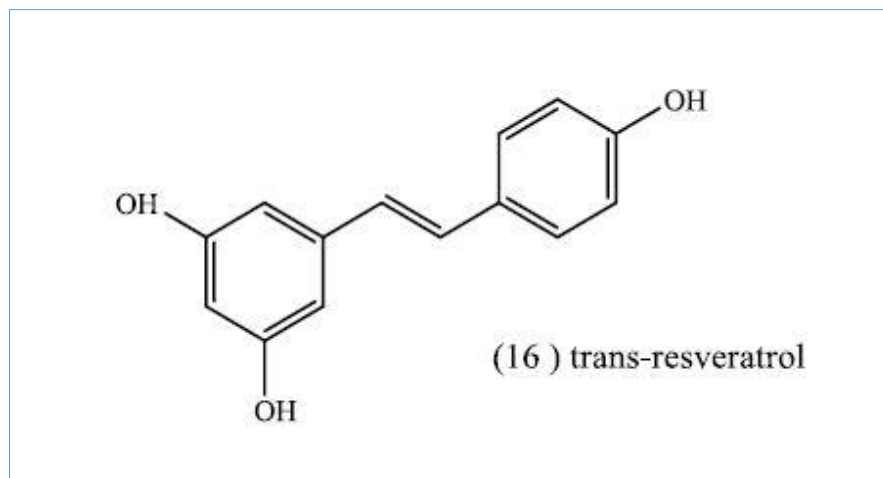


Figure 11 : Stilbènes phénoliques (CHONG, 2009)

II.6 Saponines :

Les saponines ou saponosides sont une classe spécifique de métabolites secondaires, sont généralement connues comme des composés non-volatils, tensio-actifs qui sont produits naturels abondamment retrouvés dans le règne végétal.

Structuralement parlant, les saponines sont constituées d'un squelette stéroïdique ou triterpénique porteur d'une (monodesmoside) ou de plusieurs (bidesmoside, tridesmoside)

sections sucres. En effet, les molécules de saponines dans l'eau forment une solution moussante. C'est d'ailleurs sur leur tensio-activité qu'est fondée l'utilisation multiséculaire de certaines plantes qui renferment : la saponaire (CHAIEB, 2008).

III. Biodisponibilité des polyphénols :

Il est important de réaliser que les polyphénols sont les plus communs dans l'alimentation humaine ne sont pas nécessairement les plus actifs dans l'organisme, soit parce qu'ils ont une activité intrinsèque plus faible ou parce qu'ils sont mal absorbés par l'intestin, fortement métabolisé ou rapidement éliminé. De plus, les métabolites qui se trouvent dans le sang et les organes cibles et qui entraînent de l'activité digestive ou hépatique peut différer de l'indigène en termes d'activité biologique. Une connaissance approfondie de la biodisponibilité des polyphénols est donc essentielle pour identifier leurs effets sur la santé humaine (VERMERRIS et al., 2008).

Le métabolisme des polyphénols se produit via une voie commune. Les aglycones peuvent être absorbés par l'intestin grêle. Cependant, la plupart des polyphénols sont présents dans les aliments sous forme d'esters, glycosides ou polymères qui ne peuvent pas être absorbés dans leur forme native, ils doivent être hydrolysés (VERMERRIS et al., 2008).

VI. Intérêt des composés phénoliques :

Les principaux rôles établis des composés phénoliques végétaux sont écologiques, certains ayant des fonctions doubles, voire multiples. Plusieurs études ont indiqué un degré élevé de compartimentation des composés phénoliques et des enzymes impliquées dans leur biosynthèse qui se produit par diverses voies. (XIAO et al., 2019)

Les composés phénoliques sont largement distribués dans la plante. Ils s'accumulent généralement dans les vacuoles centrales des cellules de garde et des cellules épidermiques et des cellules sous-épidermiques des feuilles et des pousses. Ils sont généralement produits au cours de deux phases :

1. Les composés phénoliques préformés synthétisés au cours du développement normal des tissus végétaux.
2. Les composés phénoliques induits synthétisés par les plantes en réponse à un stress abiotique (XIAO et al., 2019).

VI.1 Rôle physiologique :

La majorité des phénols sont responsables de la croissance de la plante en aidant à la formation de la paroi cellulaire. Les acides hydroxycinnamiques, en particulier l'acide p-coumarique et l'acide férulique sont présents dans la fraction insoluble ou de la paroi cellulaire sous forme d'esters. Ils se lient aux parois végétales et sont responsables de la transduction de l'énergie lumineuse entraînant des changements dans la structure de la paroi cellulaire végétale, le flux d'eau, la pression de turgescence et la croissance. D'un autre côté, l'auxine (acide indole acétique), qui est une phytohormone qui joue un rôle majeur dans la régulation de la croissance de la plante (SUN et al., 2002).

VI.2 Rôle Biologique :

Les composés phénoliques sont responsables de nombreuses fonctions biologiques chez la plante, leur structure et propriétés chimiques leur permettent de performer plusieurs fonctions.

- **La sécheresse :**

L'accumulation des composées phénolique est très importante pour limiter les impacts négatifs de la sécheresse chez les plantes. Des études transcriptomiques et métabolomiques réalisées sur des plantes *Arabidopsis* ont confirmé qu'une accumulation accrue de flavonoïdes sous stress hydrique est très utile pour fournir une résistance. La biosynthèse et l'accumulation des flavonols ont également été stimulées chez les plantes en conditions de déficit hydrique accompagné d'une résistance accrue contre ce stress abiotique. Le stress hydrique peut également réguler les voies de biosynthèse des acides phénoliques et des flavonoïdes, conduisant à une accumulation accrue de ces derniers composés qui agissent comme antioxydantes et entraînent une diminution des effets néfastes du stress hydrique (HERNANDEZ et al, 2008).

- **Le stress Salin :**

Le stress salin entraîne la génération des espèces réactives de l'oxygène (ROS) comme les anions superoxydes, le peroxyde d'hydrogène et l'hydroxyle ions nécessitent l'activation du système antioxydante des plantes pour contraster la propagation des ROS. Les composés phénoliques ont de puissantes propriétés antioxydantes et aider à piéger les effets nocifs chez les plantes soumises à un stress salin. De plus, en réponse à stress salin, la biosynthèse des phénylpropanoïdes est stimulée et entraîne la production de diverses voies composées phénoliques à fort potentiel antioxydante (BARS, 1995).

- **Les rayonnements ultraviolets :**

L'exposition des plantes aux rayonnements ultraviolet-B endommage leur structure protéique, provoque des mutations de l'ADN et génère des ROS nocifs. Pour contrer les effets négatifs de l'exposition aux ultraviolet-B, les composés phénoliques endogènes s'accumulent dans les cellules végétales et protègent les composants cellulaires en créant un bouclier sous la couche épidermique. Ils réduisent les dommages à l'ADN en empêchant la dimérisation de la thymine ainsi que la réduction des photo-dommages d'enzymes importantes comme le NAD/NADP. En outre, les flavonoïdes agissent également comme des écrans lumineux en raison de leur capacité à absorber à la fois le visible (anthocyanes) et des rayonnements ultraviolet (anthocyanes et flavonoïdes incolores), protégeant ainsi les plantes de ces rayonnements nocifs (BERLI et FANZONE, 2011).

V.3 Rôle Pharmacologique et Thérapeutique :

- **Effet antioxydante et piègeur de radicaux libres :**

Une production excessive de radicaux libres peut provoquer de profonds dégâts tissulaires (au niveau du matériel génétique et des acides gras insaturés des membranes) et engendrer des maladies. Parmi celles-ci, on pourra citer l'inflammation chronique, les complications diabétiques, l'athérosclérose, le cancer. Aux côtés de l'acide ascorbique, de la vitamine E, du β -carotène ou du sélénium, les flavonoïdes peuvent agir comme de puissants antioxydants (BARS, 1995).

Quercétin, gossypétine, les anthocyanosides et les procyanidines présents dans de nombreux fruits et fleurs sont les flavonoïdes naturels les plus actifs. Les propriétés antioxydantes des tannins ont également été rapportées (OKUDA, 1991).

- **Activité Antivirale :**

L'évaluation de l'activité antivirale est réalisée par la mesure de la réduction d'ineffectivité virale sur cultures de cellules par l'étude du mécanisme d'action au niveau des différentes étapes du cycle viral (fixation du virus sur la cellule hôte, pénétration du virus dans la cellule hôte, réplication des constituants viraux, assemblage et sortie du virus de la cellule hôte) (NOUMAN et al., 2011).

- **Activités antitumorale et chimio-préventive potentielles :**

Les aminoflavones en se sont révélées de bons inhibiteurs de protéine kinase tyrosine (PKT) ainsi qu'un dérivé flavonique. Ce dernier compose a présenté des effets antitumoraux significatifs in vitro et in vivo prometteurs en vue d'études clinique ultérieures (SEDLACEK et al, 1991).

L'action des flavonoïdes à ces différents stades a été l'objet de nombreuses controverses. Plus d'une centaine de tests in vitro et in vivo permettent de déterminer l'action antimutagène d'une substance, le plus connu étant le test de Ames. Une cinquantaine de flavonoïdes ont présenté une action antimutagène principalement in vitro dont les plus actifs sont myricétine et quercétine. Il semble que la présence d'un groupement 5,7 dihydroxy soit nécessaire à l'activité. En revanche, d'autres auteurs ont montré l'effet mutagène des flavonoïdes (SHAMAN, 1994).

CHAPITRE III

Les souches nocives à l'homme

Les bactéries sont des microorganismes procaryotes, de taille microscopique variable.

Il s'agit des bactéries pathogènes causent la majorité des maladies et des infections survenues à l'homme notamment les angines, fièvre, diarrhée, abcès, les infections urinaires et respiratoires aussi des tracts digestifs... (KUMAR, 2012, MARIS, 2016)

Leur pathogénicité est la résultante de la sécrétion des substances nocives, toxiques au corps humain. Déposer sur les surfaces faciles à contaminé par l'air tel que ; les mains, les substances alimentaires ... (BIDET et al., 2016)

Elles sont beaucoup plus présentes dans certains endroits tels que les hôpitaux.

Dans ce chapitre nous allons présenter quelques souches nocives à l'homme que nous avons utilisées dans notre présente étude : *Escherichia coli*, *Streptococcus spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, et *Klebsiella pneumoniae*.

I. Escherichia coli

Escherichia coli est une bactérie appartenant à l'embranchement des *Proteobacteria* à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle a été décrite pour la première fois en 1885 par le pédiatre allemand Theodor Escherich dans les selles de nourrissons. Dénommée « *Bacterium coli commune* » « *Bacillus coli* » ou encore « *Bacterium coli* ». Le nom *Escherichia coli* fut proposé par Castellani et Chalmers en 1919. Cette dénomination fut officiellement adoptée en 1958 (GRIMONT, 1987).

1- Classification :

Selon le *Bergey's Manual 2007* *Escherichia coli* appartient à la famille des Entérobactéries.

Tableau 04: Classification de *Escherichia coli*.

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

2- Habitat :

Escherichia coli domine dans la microflore de l'appareil digestif de l'homme et des animaux, vue qu'elle est commensale de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux) elle colonise de manière asymptomatique le tube digestif peu après la naissance (MATTHEW et al., 2018).

La niche écologique d'*E. coli* se trouve dans la couche de mucus sécrétée par l'épithélium du côlon où elle assure, avec les autres composants de la microflore, une barrière de

protection de la muqueuse. La concentration en *E. coli* par grammes de selles varie d'un individu à un autre de 10^6 à 10^9 unités formant des colonies (UFC) (BRIDT et al., 2016). Elle est plus faible chez les autres mammifères. Son acquisition se fait à partir du microbiote maternel chez le nouveau-né, puis par voie orale, à partir de l'alimentation. C'est une bactérie pathogène qui commence par coloniser une muqueuse puis elle se multiplie causant des dommages à l'hôte en essayant de s'échapper au point d'entraîner des diarrhées et diverses affections extra-intestinales (MARIS, 2016).

Sa présence dans l'eau est un indice de contamination fécale (CLAVED et al., 2015).

3- Caractère bactériologiques :

3.1. Caractère morphologiques :

Escherichia coli est un bacille à Gram négatif, en forme bâtonnet droit et à extrémités arrondies, mesurant de 2 à 4 μm de longueur sur 0.4 à 0.6 μm de largeur, mobile grâce à une ciliature péritriche, non sporulée mais parfois capsulée (BIDET et al., 2016).

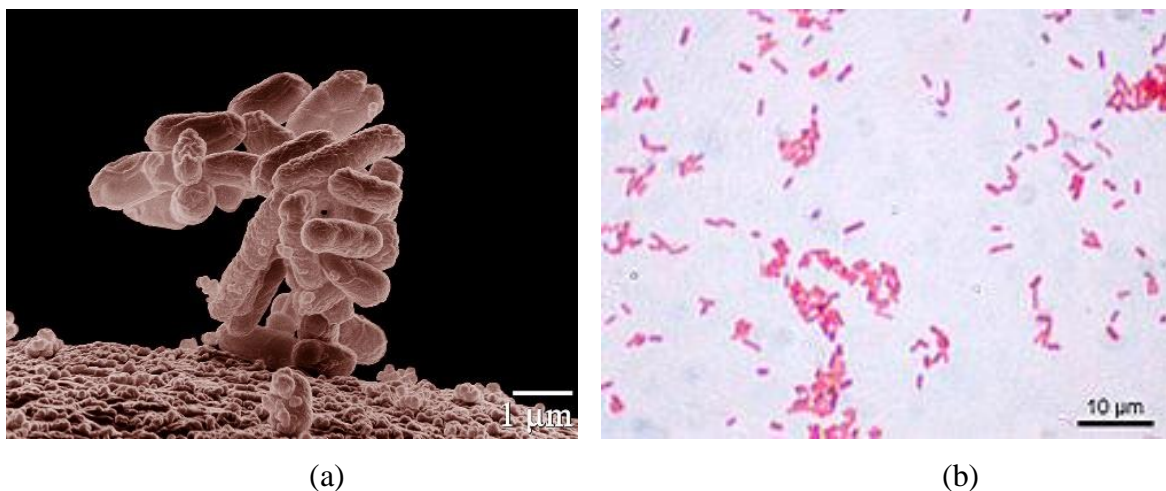


Figure 12: *E. coli* sous microscope électronique(a) et après coloration de Gram(b)
(ROBERT.D, 2013)

3.2. Caractère biochimique :

Les entérobactéries possèdent à la fois un métabolisme respiratoire aérobie-anaérobie facultatif et fermentatif. Elles fermentent le glucose, le lactose et le mannitol et sont catalase positive, oxydase négative et réduisent les nitrates en nitrites (PANTEL, 2015).

Elle est capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole. Elle ne fermente pas l'acétoïne (VP) et H₂S et ne possède pas d'uréase mais possède une β-galactosidase, une Lysine décarboxylase. Elle se multiplie très rapidement : dans les conditions optimales, une population peut doubler toutes les 20 minutes sur les milieux ordinaires à 37 °C et à pH 7, 5 sur gélose nutritive, Hektoan, Mac Conkey et gélose au sang forment des colonies de 1 à 4 mm de diamètre, rondes, lisses et plus ou moins brillantes (ESCHERICH., 1885).

4- Pouvoir pathogène :

Escherichia coli est une bactérie qui a un indicateur de contamination fécale bien connue des hygiénistes. Elle est responsable des diarrhées pouvant causer un syndrome hémolytique et urémique (SHU) avec atteinte des systèmes sanguins et rénaux (destruction des globules rouges et lésions rénales) ou d'autres infections (urinaires, septicémiques) (GRIMONT, 1987).

Des infections communautaires et nosocomiales à tous les âges de la vie. *E. coli* est de loin le premier germe responsable des infections urinaires retrouvé dans environ 80% des cas d'infections communautaires et 35% des cas d'infections nosocomiales (BIDET et al., 2016).

II. Staphylococcus aureus

Les *Staphylocoques* ont été observés pour la première fois dans des lésions pyogènes humaines par Von Recklinghausen en 1871. Pasteur (1880) a obtenu des cultures liquides des cocci à partir de pus et produit des abcès en les inoculant aux lapins. C'est sir Alexander Ogston, chirurgien écossais, qui a établi de façon concluante le rôle causal du coccus dans les abcès et autres lésions suppuratives (1881). Il lui a aussi donné le nom de *Staphylocoque* (*Staphyle*, en grec, signifiant "grappe de raisin"; *kokkos*, signifiant une baie) en raison de l'occurrence typique des cocci "dans grappes de raisin comme" dans le pus et dans les cultures. Ogston a remarqué que les staphylocoques non virulents étaient aussi souvent présents sur les surfaces cutanées (KUMAR, 2012).

1- Classification :

Selon Rosenbach 1884 *Staphylococcus aureus* appartient à la famille des Staphylocoques

Tableau 05: Classification de *Staphylococcus aureus*

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Bacillales</i>
Famille	<i>Staphylococcaceae</i>
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>

2- Habitat :

L'habitat naturel de *Staphylococcus aureus* est le corps humain aussi bien que plusieurs espèces animales chez l'homme on peut trouver au niveau de la peau, le nez, les aisselles, système gastro-intestinal et le nasopharynx. Il peut causer une grande variété d'infections touchant la peau et les tissus mous, les sites endovasculaires et les organes internes. *Staphylococcus aureus* continue d'être un agent pathogène important dans la communauté et dans les hôpitaux, causant une morbidité et une mortalité élevées. C'est un agent de contamination des surfaces, de l'air et des eaux (FOSTER, 2002).

3- Caractère bactériologiques :

3.1. Caractère morphologiques :

Les *Staphylococcus aureus* ce sont des Cocci sphériques à gram positive, d'environ 0.8 à 1 µm de diamètre, est arrondies, bombées, dorées disposé de façon en grappes ou amas. On peut aussi les trouver individuellement, par paires et dans de courtes chaînes de trois ou quatre cellules. Ils sont non sporulés, immobiles et généralement non capsulés à l'exception des souches rares. Ils colorent facilement et sont uniformément gram-positifs (KUMAR, 2012).

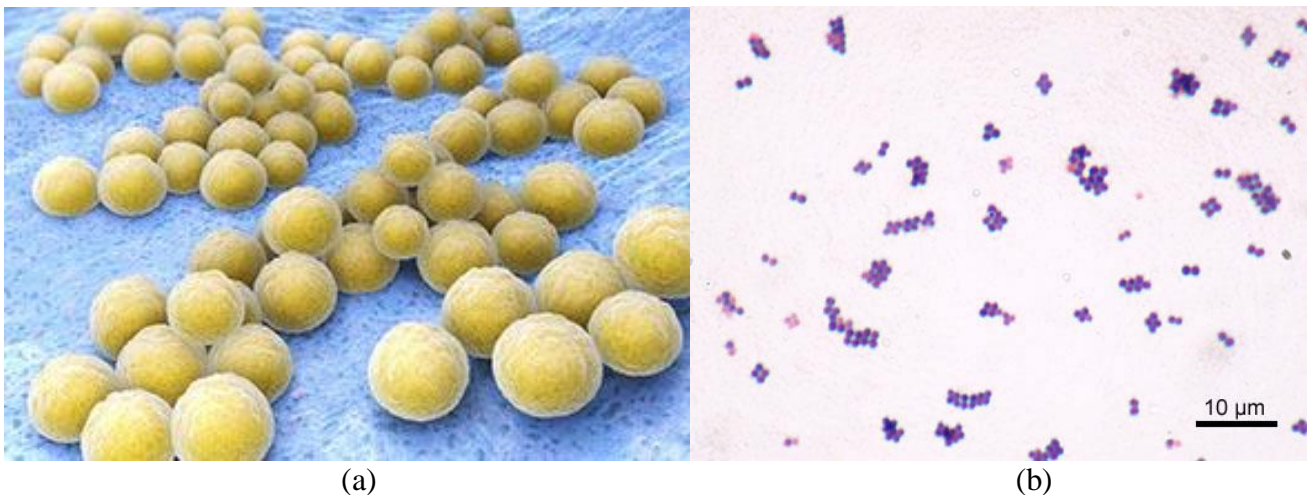


Figure 13 : *Staphylococcus aureus* sous microscope électronique(a) et après coloration de Gram(b) (ROBERT, 2013)

3.2. Caractère biochimique :

S. aureus est une bactérie aéro-anaérobies facultatives, fermente une gamme de sucre (glucose, maltose, lactose, saccharose, y compris le mannitol) produisant ainsi un l'acide mais pas de gaz. Il est capable de produit une catalase et coagulase. Elle est aussi oxydase négative. Réduisent les nitrates en nitrites et possèdent l'uréase. Indole négative, il forme l'acétoïne (VP) (KUMAR, 2012).

Sa croissance est rapide et aisée sur plusieurs types de milieux Gélose Nutritive, Gélose Chapman, Baird Parker et Gélose au sang. Sa température optimale de croissance est de 37°C ou légèrement inférieure à 37°C donnent des colonies lisses, convexes avec des diamètres de 1~3 mm, de couleur jaune doré due à la fermentation du mannitol (PAUL, 1993)

4- Pouvoir pathogène :

Le *Staphylocoque doré* est une bactérie commensale et opportuniste qui colonise différentes parties du corps, comme la peau, les narines, les aisselles et les régions inguinales. Provoque généralement des infections cutanées et parfois une pneumonie, une endocardite et une ostéomyélite. Cela conduit souvent à la formation d'abcès. Certaines souches produisent des toxines qui causent la gastro-entérite, le syndrome des cellules squameuses et le syndrome de choc toxique (RACHEED et al., 2021).

Certains groupes de personnes présentent un risque plus élevé de colonisation de *S. aureus* (jusqu'à 80 %), notamment les employés de la santé, les diabétiques, les patients sous traitement intraveineux, les personnes ayant une faible immunité, les patients ayant de longs séjours à l'hôpital, les bénéficiaires d'opérations chirurgicales, utilisateurs de cathéters à demeure, patients en dialyse. Les symptômes d'une intoxication par *Staphylococcus aureus* peuvent se manifester très rapidement les plus communs sont la diarrhée et les vomissements. Les souches à coagulase positive sont celles qui généralement sont reconnues comme pathogènes (PAUL, 1993).

III. Proteus mirabilis

L'espèce pathogène *Proteus mirabilis* a été découverte pour la première fois en 1885 par Gustav Hauser. Le nom de *Proteus* vient du poème Odyssée d'Homère par leur caractère changeant de forme parce que le *Proteus* a la capacité de changer leur cellule végétative en forme de tige dans une cellule allongée et fortement flagellée qui a essaimage motilité (ZAFAR et al., 2019).

1- Classification :

Le tableau 06 représente classification de *Proteus mirabilis* selon Bergey's ,1998 qu'est apparait à la famille les entérobactéries.

Tableau 06: Classification de *Proteus mirabilis*

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriale</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Proteus</i>
Espèce	<i>Proteus mirabilis</i>

2- Habitat :

Proteus mirabilis peut être trouvé dans une grande variété d'environnements, y compris le sol, les sources d'eau, et les eaux usées, mais il est principalement un commensal des tractus gastro-intestinaux des humains et des animaux. Elles sont pour la plupart des habitants de voies urinaires de l'homme où elle est censée causer des infections des voies urinaires (ARMBRUSTER et al., 2018).

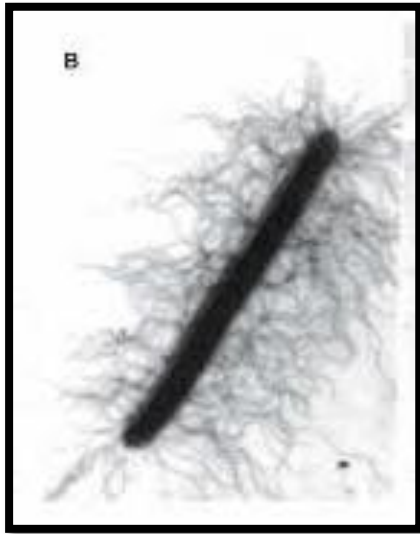
Les *Proteus* sont également retrouvés fréquemment dans les septicémies, surtout chez les personnes âgées (PANEZAI et al., 2014).

3- Caractère bactériologiques :

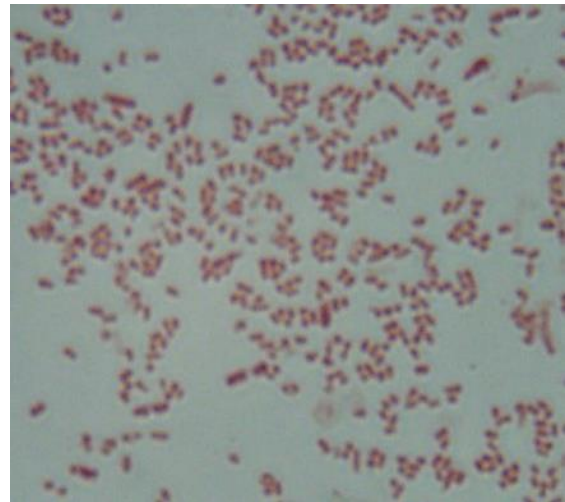
3.1. Caractère morphologiques :

Proteus mirabilis a une morphologie des petits bacilles à Gram négatif de famille *Entérobacteriaceae* en forme de bâtonnet, polymorphes, mesurant de 0.4 à 1 µm de diamètre sur 1 µm à 80 µm de longueur, très mobile a 6 - 10 flagelles, non sporulés, non capsulés.

Génère un grand nombre de cellules allongées couvertes de flagelles qui agissent en synergie pour produire une motilité accrue sur un milieu solide (DJOMBER, 2018).



(a)



(b)

Figure 14 : *Proteus mirabilis* sous microscope électronique(a) et après coloration de Gram(b) (DJOMBER, 2018)

3.2. Caractère biochimique :

C'est une bactérie aéro-anaérobie facultative, fermentant le glucose avec production de gaz, H₂S+, oxydase négative, catalase positive, possède une nitrate-réductase, Rouge de méthyle positif (RM) et Voges-Proskauer négative (VP) (peut être à la fois RM et VP positif) Elle peut vivre dans des environnements hautement alcalins (HAMDOUCHE et al., 2016).

L'espèce *P. mirabilis* se cultive facilement sur milieux simples à 37°C sur gélose nutritive et gélose au sang et Mac Conkey.

Les colonies diffusent sur les milieux riches et donnent un aspect en nappe. Ces bactéries présentent une odeur désagréable très spécifique (DJOMBER, 2018).

4- Pouvoir Pathogène :

Proteus mirabilis dans des conditions appropriées à la possibilité de causer des infections des plaies, des voies urinaires infections, arthrite rhumatoïde et méningite chez les nourrissons. (ZAFAR et al., 2019).

Elle est surtout observée pour les infections des voies urinaires cathétérismes, connues sous le nom d'infections des voies urinaires associées aux cathéters (ARMBRUSTER at al., 2018).

La pathogénicité de *Proteus mirabilis* est facilitée par leurs facteurs de virulence unique et l'augmentation du séjour dans l'hôte humain (ZAFAR et al., 2019).

Bien que la bactérie soit capable de causer une variété d'infections humaines des infections des voies respiratoires, les yeux, les oreilles, le nez, la peau, la gorge, du tractus gastro-intestinal, les brûlures et les blessures et a été impliqué dans la méningoencéphalite, l'empyème et l'ostéomyélite néonatales (SCAFFER et al., 2013).

IV. Pseudomonas aeruginosa

L'espèce *Pseudomonas aeruginosa* a été décrite pour la première fois en 1882 par Carle Gessard au cours de la première guerre mondiale, des colorations bleues et vertes du pus laissé sur les bandages recouvrant les plaies des soldats (JEANNOT et al., 2014).

Sous le nom de « *bacille pyocyanique* ». Le nom de genre est composé du grec « *pseudo* » (imitation) et « *monas* » (unité), « *aeruginosa* » signifie vert-gris en latin et se réfère aux pigments que sécrète la bactérie (SALACHA, 2010).

1- Classification :

Selon la Liste des noms procaryotes avec position dans la nomenclature (LPSN) *Pseudomonas aeruginosa* appartient au:

Tableau 07: Classification de *Pseudomonas aeruginosa*

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

2- Habitat :

Pseudomonas aeruginosa est un micro-organisme ubiquitaire capable de survivre dans diverses conditions environnementales. Dans les milieux aquatiques riches en matières organiques (piscines, jacuzzi, égouts, lacs, estuaires, etc.). Les hôpitaux constituent une niche écologique (siphons, douches, toilettes, endoscopes, nébuliseurs, humidificateurs, respirateurs, etc.) qui favorisent leur développement. La contamination par les patients peut provenir directement des réservoirs environnementaux ou indirectement par l'équipement médical ou les mains des travailleurs de la santé. Encore plus rarement, cette bactérie se retrouve dans la flore digestive humaine et y demeure lorsqu'elle est perturbée (symbiose) par la prise d'antibiotiques (JEANNOT et al., 2014).

3- Caractère bactériologique :

3.1. Caractère morphologique :

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie de type bacilles à gram négative (Fig 15) en forme de bâtonnets droits ou légèrement courbés, non sporulés, non capsulés, mobiles grâce à leurs flagelles monotriche polaire produisant les pigments de fluorescéine et de pyocyanine. Mesure en moyenne 2 μm de long pour un diamètre de 0,6 μm (KUMAR,2012).

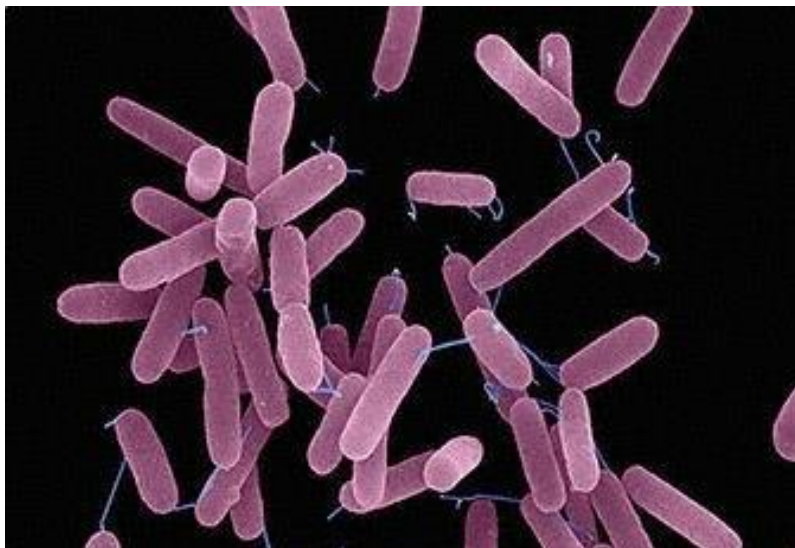


Figure 15 : Observation de *P. aeruginosa* au microscope électronique (BIQUAND, 2017)

3.2. Caractère biochimique :

Pseudomonas aeruginosa est une bacille aérobie strict, *P. aeruginosa* diffère des membres de l'*Enterobacteriaceae* en dérivant l'énergie des glucides par un métabolisme oxydatif plutôt que fermentatif. Elle est catalase positive, oxydase positive, réduisent les nitrates en nitrite méthyl rouge positive et Voges-Proskauer (VP) positive. Indole, H₂S aussi négative.

Il se développe facilement sur des milieux normaux ou sélectifs (Gélose nutritive, Mac-Conkey, Hektoen...). Cela produit des colonies plates aux bords irréguliers qui prennent un aspect métallique irisé avec le temps. Un pigment vert brillant diffusible est caractéristique de cette espèce : il est dû à une combinaison de properdine (un pigment vert-jaune fluorescent commun aux espèces du groupe Fluorescences) et de *Pseudomonas aeruginosa* (un pigment bleu propre à *Pseudomonas aeruginosa*). À souvent un arôme de type seringa (KUMAR, 2012).

4- Pouvoir Pathogène :

Pseudomonas aeruginosa peut infecter presque n'importe quel site ou organe externe. La plupart des infections communautaires sont bénignes et superficielles, mais chez les patients hospitalisés, les infections sont plus fréquentes, plus graves et plus variées.

Les personnes les plus à risque sont celles dont les défenses immunitaires sont affaiblies. Une antibiothérapie antérieure qui élimine la flore normale peut également fournir à *P. aeruginosa* un accès accru aux tissus colonisateurs (KUMAR, 2012).

P. aeruginosa est régulièrement une cause de pneumonie nosocomiale, d'infections nosocomiales des voies urinaires, d'infections du site chirurgical, d'infections de brûlures graves et d'infections de patients subissant une chimiothérapie pour des maladies néoplasiques ou une antibiothérapie (KUMAR, 2012).

V. *Klebsiella pneumoniae*

Le genre *Klebsiella* a été nommé par Trevisan en 1887 pour honorer Klebs Edwin, un microbiologiste Allemand (NOURI et al., 2015). Elle a été isolée pour la première fois par Carl Friedlander en 1882 comme une bactérie isolée des poumons des patients décédés d'une pneumonie. Elle a été connue sous le nom pneumobacille de Friedlander « *Bacillus mucosus capsulatus* » (REBAKAH et al., 2018)

1- Classification :

Selon la Liste des noms procaryotes avec position dans la nomenclature (LPNS) *Klebsiella pneumoniae* appartient à la famille des entérobactéries qu'est représenté dans le tableau suivant : (FAUCHERE et al., 2002)

Tableau 08: Classification de *Klebsiella pneumoniae*.

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Klebsiella</i>
Espèce	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

2- Habitat :

On les retrouve dans les eaux de surface, les eaux usées, les eaux usées industrielles (papeteries, scieries, minoteries), les sols, les végétaux, les aliments (KONE, 2010).

Chez l'homme, cette espèce se développe sur la peau, les muqueuses, les voies respiratoires supérieures, et est isolée des fèces chez 30% des individus.

La colonisation a augmenté de manière significative chez les patients hospitalisés (NOURI et al., 2015).

3- Caractère bactériologique

3.1. Caractère morphologique :

Klebsiella pneumoniae sont des entérobactéries bacille, à gram négative, de forme régulier courtes mesurent 1-2 μm longueur et 0.5-0.8 μm large. Immobile, très souvent capsulé, non sporulés (KUMAR, 2012).

3.2. Caractère biochimique :

K. pneumoniae une bactérie aéro-anaérobie facultative qui fermentent des sucres avec productions de gaz (Glucose, Mannitol, lactose, Saccharose). Elle est Catalase positive, ne possède pas d'Oxydase (KUMAR, 2012).

Possède une nitrate réductase (réduisent les nitrates en nitrites), Citrate, Urée et fermentant l'acétoïne (Voges-Proskauer (VP) positive). Indole négative, H₂S aussi négative.

Klebsiella pneumoniae pousse bien sur les milieux ordinaires à températures comprises entre optimale 37 °C en 18 à 24 heures. Sur une gélose Mac-Conkey, les colonies apparaissent généralement grandes, bombées, brillante et de couleur rouge-rose (Fig 16).

La nature mucoïde des colonies est due au matériel capsulaire produit par l'organisme. Cependant, certaines souches ne sont pas mucoïdes. Capsuler matériel est produit en plus grandes quantités sur le milieu riche en glucides (KUMAR, 2012).



Figure 16 : *Klebsiella pneumoniae* sur Gélose Mac-Conkey (Originale., 2022)

4- Pouvoir pathogène :

Klebsiella pneumoniae peut causer la pneumonie acquise de la communauté primaire, infections nosocomiales, infections des voies urinaires, infections des plaies, bactériémie et méningite, et rarement la diarrhée.

Dans certains hôpitaux, *K. pneumoniae* a remplacé *E. coli* comme principal isolat d'hémoculture. Comme la plupart des souches sont résistantes aux antibiotiques, le traitement pose de graves problèmes (KUMAR, 2012).

VI. Streptococcus spp

Les *Streptococcus* ont d'abord été décrits par Billroth en 1874 dans des exsudats d'érysipèle et d'infections de plaies, Elle fut appelés streptocoques (*Streptos*, c'est-à-dire tordus ou enroulés; *Coccus*, grain ou baie). Pasteur, 1879 a trouvé des organismes similaires dans le sang d'un patient atteint de septicémie puerpérale (PAUL, 1993).

En 1881 Ogston a isolés dans des abcès aigus, les a distingués des staphylocoques et par inoculation animale a établi leur pathogénicité (KUMAR, 2012).

1- Classification:

Selon Rosenbach,1884 *Streptococcus spp* appartient au la famille des streptocoques représentant dans le tableau N09 :

Tableau 09: Classification de *Streptococcus spp*.

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Lactobacillales</i>
Famille	<i>Streptococcaceae</i>
Genre	<i>Streptococcus</i>

2- Habitat :

L'habitat naturel de *Streptococcus* est la peau et les muqueuses, en particulier la cavité nasale. La plupart des streptocoques appartiennent à la flore commensale des cavités naturelles du corps humain : nasopharynx, cavité buccale, tube digestif, appareil reproducteur. Ces micro-organismes se fixent sur les cellules épithéliales de l'hôte et colonisent ainsi les muqueuses et la peau (KUMAR, 2012).

3- Caractères bactériologiques :

3.1. Caractères morphologiques :

Le genre *Streptococcus* comprend un grand groupe biologiquement diversifié de Cocci, à Gram positifs qui se développe en paires ou en chaînes (Fig 17). Ils ont un aspect ovoïde ou sphérique de 2µm de diamètre. Les *Streptococcus* sphériques restent attachés après la division, et par conséquent, croître en chaînes. Immobile, non sporulés (KUMAR,2012).

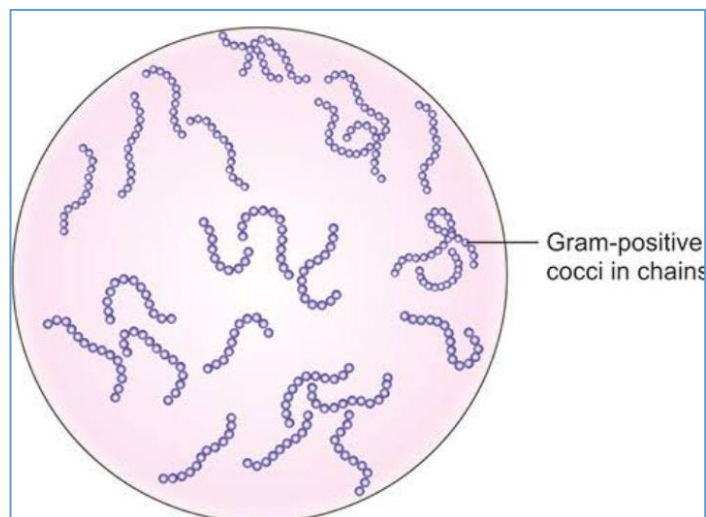


Figure 17: schéma *Streptococcus spp* (KUMAR, 2012)

3.2. Caractères biochimiques :

Streptococcus spp sont des microorganismes aéro-anaérobies facultatifs, ils se développent aussi bien en absence d'oxygène qu'avec sa présence. Fermants les Glucose sans production de gaz. Ils sont catalase négative (KUMAR, 2012).

Ils sont multiples dans les milieux enrichis en nutriments car ce sont des germes exigeants (Gélose nutritive, Gélose sang cuit, Gélose sang frais...) a température optimal à 37 °C en 18 à 24 heures (KUMAR, 2012).

4- Pouvoir Pathogène :

Ils habitent divers sites, notamment les voies respiratoires supérieures, et vivent sans danger comme commensaux. Un certain nombre d'espèces du genre causent d'importantes maladies humaines comme l'infection aiguë, nasopharyngé, la scarlatine. Environ de 45% des angines rouges causée par les *Streptococcus spp* (KUMAR, 2012).

Le plus important d'entre eux est *Streptococcus pyogènes* causant des infections pyogènes, avec une tendance caractéristique à se propager, par opposition au staphylocoque (KUMAR., 2012).

Partie :
Expérimentale

CHAPITRE I

Matériel et méthodes

Objectif de travail :

Au cours de ce chapitre nous présenterons les différents appareils et produits que nous avons utilisés pour réaliser le travail.

Notre principal objectif est d'évaluer le pouvoir antimicrobienne et antioxydant des extraits polyphénoliques de *Tamarix gallica* sur les activités antimicrobiennes et antioxydantes.

Le travail est divisé en trois principales parties :

- Extraction des polyphénols par macération.
- Evaluation l'effet des extraits polyphénoliques sur les micro-organismes pathogènes à l'homme.
- Evaluation l'activité antioxydante d'extrait polyphénoliques.

I. Première partie : Extraction

La plante utilisée dans ce travail est l'espèce *Tamarix gallica*.

I.1 Préparation de l'extrait hydroalcoolique par macération :

Cette étape consiste à extraire le maximum des substances actives contenues dans les parties aériennes de l'espèce végétale étudiée.

I.1.1. Récolte et séchage de matériel végétal :

Le matériel végétal constitué des parties aériennes de la plante a été collecté durant la période Mars-Avril 2022 d'une plantation de 2 ans sur un sol salin avec un inoculum mycorhizien arbusculaire.

Les parties aériennes de la plante ont été séchées dans un incubateur-agitateur Shaker à une température de 45°C pendant 3 jours, puis broyés dans un moulin électrique afin d'obtenir une poudre fine pour préserver l'intégrité des molécules.



Figure 18 : *Tamarix gallica* partie aérienne.
(Original, 2022)



Figure 19 : Broyage (Original, 2022)

I.1.2 1^{er} Méthode d'extraction :

En utilisant le méthanol comme solvant organique, selon **Bouchouka. (2016)** (Extrait 1).

- 10 g de plante sèche et finement broyée sont macérés dans 150ml d'un mélange Méthanol-eau (70/30) pendant 24h. L'eau est utilisée afin d'augmenter la polarité.
- Une agitation manuelle est réalisée de temps à autre.
- Les macérations hydrométhanoliques obtenues sont filtrées sur papier filtre.
- Le liquide collecté va subir une évaporation à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif à 65°C pendant 3h.

Une fois le temps d'évaporation écoulé l'extrait est récupéré et laissé sécher dans un incubateur à 30°C pendant 3 jour. Les résidus secs sont pesés puis repris dans une solution de diméthylsulfoxyde (DMSO) à 1% pour le test antibactérien.



Figure 20 : Macération hydrométhanolique (Original, 2022)

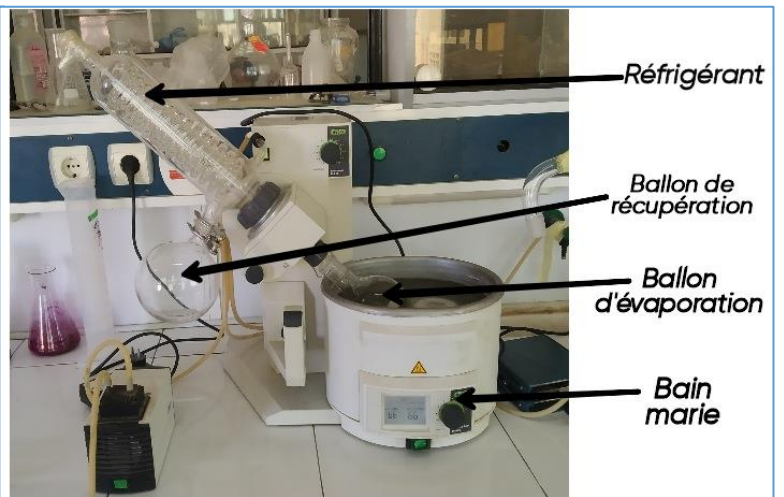


Figure 21 : Evaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif (Original, 2022)

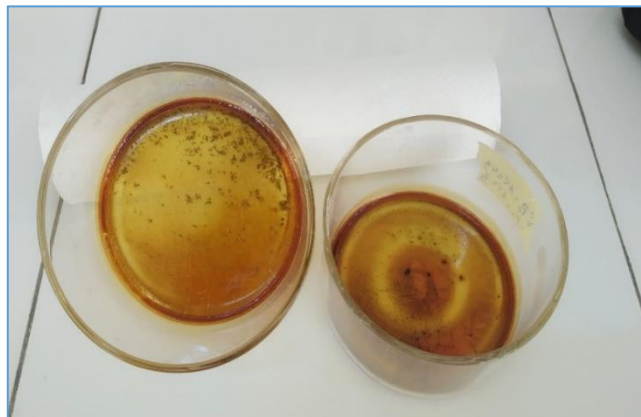


Figure 22 : Résidus secs 1^{ère} méthode (Original, 2022)

I.1.3 2^{ème} Méthode d'extraction :

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **Ksouri et al. (2009)**, (Extrait 2) extraction par macération dans une solution de Méthanol pure 98.9%.

- Mélanger 5g de poudre du végétal séchée avec 50ml de solution méthanol pure 98.9% dans un Erlenmeyer.
- Agiter magnétiquement pendant 30 min, ensuite conservé le mélange pendant 24h à 4°C.
- L'extrait est filtré sur papier Wattman N°4.
- La macération a été répétée trois fois avec le même dépôt de solide et renouvellement de solvant, l'opération est renouvelée de la même manière.

Les filtrats sont collectés, évaporés sous vide. Ensuite, stockés à 4°C jusqu'à l'analyse.

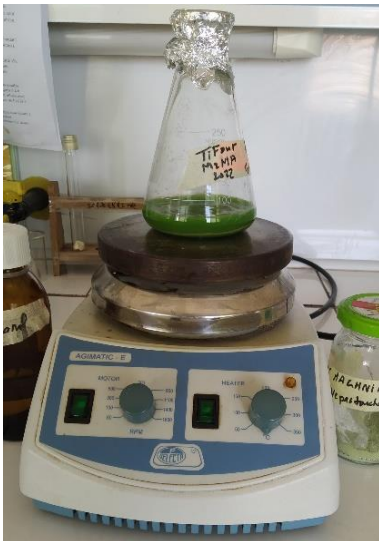


Figure 23 : Macération avec Méthanol (Original,2022)



Figure 24 : Filtration (Original,2022)

I.1.4 3^{ème} Méthode d'extraction :

Pour cette méthode nous avons choisi un mélange des solvants acétone/méthanol/chloroforme selon le protocole décrit par **Ksouri et al. (2008)** (Extrait 3) :

- 5g de matière végétale broyée est mélangée à un solvant composé de 20% d'eau et de 80% d'un mélange équivalent d'acétone + chloroforme + méthanol
- Agiter magnétiquement le mélange pendant 20min à 100°C.
- Laisser refroidir, puis garder à 4°C pendant 24h.

Cette opération de macération a été répétée trois fois avec le même dépôt de solide avec renouvellement de solvants de la même manière.

- Les filtrats sont collectés, et évaporés sous vide avant d'être conservés à 4°C jusqu'à utilisation.



Figure 25 : Macération sur acétone, chloroforme et méthanol (Original, 2022)

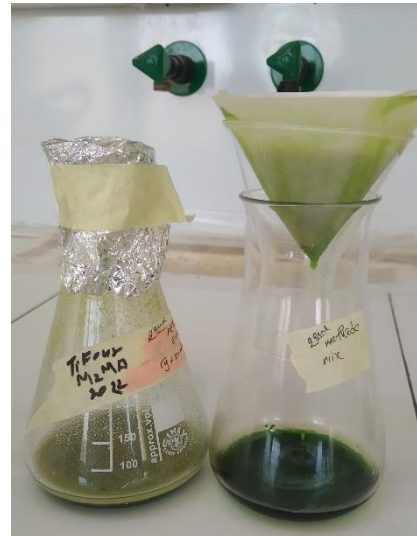


Figure 26 : Filtration (Original, 2022)



Figure 27 : Résidus secs 2^{ème} méthode (Original, 2022)

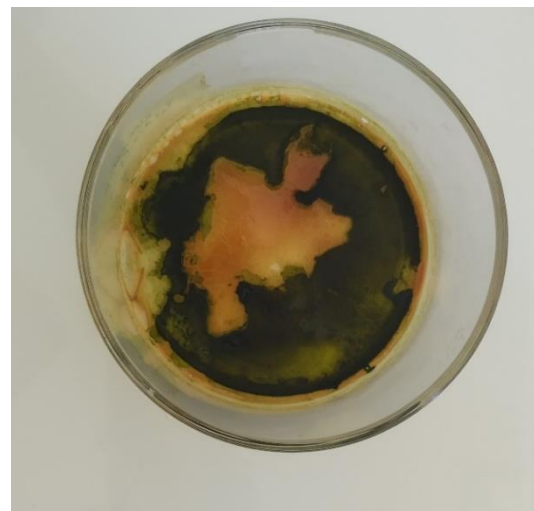


Figure 28: Résidus secs 3^{ème} méthode (Original, 2022)

I.2. Tests phytochimiques:

Les tests sont réalisés selon la méthode décrite par **Bouchouka. (2016)**.

I.2.1 Flavonoïdes :

- Macérer 2g de poudre séchée de matière végétale dans 40ml d'HCl dilué à 1% pendant 24h.
- Filtrer sur papier filtre N° 4.
- Prendre 10 ml de filtrat, le rendre basique par l'ajout d'une solution de NH₄OH.

L'apparition d'un couleur marron dans la partie supérieure du tube indique la présence des flavonoïdes.

I.2.2 Tanins :

Préparer l'infusion de la plante en poudre à 10% (1g de poudre sèche est recouvert de 10 ml d'eau très chaude ou bouillante), après 5 à 6 minutes, le mélange est remué légèrement avant d'être filtré.

Une portion du filtrat est diluée avec de l'eau distillée avec une proportion de 1 :4 avant d'ajouter trois gouttes de FeCl₃ à 10 %.

L'apparition d'une couleur bleu ou verte indique la présence de tanins.

I.2.3 Saponines :

Test de mousse:

2,5 ml du filtrat à 10% (voir Tanins) sont ajoutés à 10 ml d'eau distillée dans un tube à essai. Le tube est secoué vigoureusement pendant environ 30 secondes avant de le laisser reposer une demi-heure.

Une mousse persistante supérieure à 1 cm indique la présence des saponines.

I.2.4 Anthocyanes :

Ce test repose sur le changement de la couleur du filtrat à 10% avec le changement du pH.

- Quelques gouttes d'HCl sont ajoutés au filtrat provoquant un changement de couleur vers le jaune.
- Quelques gouttes de NH₄OH sont ajoutées au mélange précédant pour observer une couleur marron une deuxième fois, ce qui indique la présence des anthocyanes.

I.2.5 Test de Caractérisation des phénols :

Dans un tube contenant 5 ml d'éthanol avec de très petites quantités d'extrait nous avons projeté 0.5 g de tournure de magnésium en agitant avec précaution, en ajoutant quelques gouttes d'acides chlorhydrique concentré (HCl) à 37%. Juste après l'ajout de tournure de magnésium et l'acide, nous observons en premier temps que notre mélange commence à barboter ce qui indique l'établissement d'une réaction chimique entre le magnésium et l'acide chlorhydrique.

II. Deuxième partie : Test de l'activité antimicrobienne

Cette partie se divise en trois étapes :

- Préparation des milieux de culture pour les souches bactériennes que nous avons collectées à l'hôpital de Djelfa.
- Tests antibiotiques.
- Tester l'activité antimicrobienne.

II.1 Préparation des milieux de culture :

a. Gélose nutritive (GN) :

La Gélose Nutritive est un milieu ordinaire non sélectif a usage général pour la croissance des souches bactériennes.

Nous avons préparé une quantité de 1L mélangé sur agitateur magnétique avec 38g de poudre déshydraté de Gélose nutritive dans un Erlenmeyer (selon la fiche technique de la boite de gélose nutritive déshydratée) (annexe 02), le mélange obtenu est stérilisé dans l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes.

b. Gélose Chapman :

Gélose Chapman est un milieu de culture sélectif et différentiel pour les *Staphylococcus*.

c. Gélose Mac-Conkey :

Gélose Mac-Conkey est un milieu d'isolement ordinaire sélectif pour les Gram négatifs.

Nous avons préparé une quantité de 1L mélangé sur agitateur magnétique avec 50g de la poudre déshydratée de gélose Mac-Conkey dans un Erlenmeyer (selon la fiche technique du flacon gélose Mac-Conkey déshydratée) (annexe 02), Par la suite une stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes a été réalisée.



Figure 29: Préparation de la gélose Mac-Conkey (Original, 2022)

d. Mueller Hinton :

Gélose Mueller Hinton est un milieu standardisé recommandé par la National Commette for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries peu exigeantes.

Nous avons préparé la quantité de 1L mélangé avec 38g de poudre déshydratée de gélose Muller Hinton (selon la fiche technique de la boite gélose Muller Hinton déshydratée) (annexe 02), avant de pratiquer une stérilisation dans l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes.



Figure 30 : Préparation Mueller Hinton (Original, 2022)

II.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux:

Nous avons utilisé la technique de diffusion (méthode des disques) qui permet d'estimer l'activité antimicrobiens à l'aide de la zone d'inhibition.

II.2.1 Échantillonnage :

L'activité antimicrobienne de polyphénols a été évaluée en utilisant des souches récupérées après isolation du laboratoire de microbiologie de l'hôpital Mahad Abdelkader-Djelfa.

Les souches concernées sont :

- *Escherichia coli.*
- *Klebsiella pneumoniae.*
- *Pseudomonas aeruginosa.*
- *Proteus mirabilis.*
- *Staphylococcus aureus.*
- *Streptococcus spp.*

Le choix des souches a été basé sur les critères suivants :

- Pouvoir pathogène.
- La disponibilité.
- Sources d'infection pour l'homme.
-

II.2.2 Isolement :

Chaque souche a été isolée à partir de différents prélèvements (Tableau 10) puis incubée dans l'étuve pendant 24h à 37°C et identifier par galerie api (lab microbiologie de l'hôpital Mahad Abdelkader-Djelfa).

Tableau 10 : Isolement des souches bactériennes.

Numérotation	Souches	Prélèvements
171	<i>Staphylococcus aureus</i>	Fistule sternale
172	<i>Escherichia coli</i>	Pus
192	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Les urines
253	<i>Streptococcus spp</i>	Liquide plurale
264	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Collection intra péritonite
271	<i>Proteus mirabilis</i>	Hémoculture

II.2.3 Purification :

Les souches isolées sont purifiées par la méthode des trois Cadrons (FRANÇOIS., 2016) :

Les boites de Pétri doivent porter les mêmes références que celles du tube de prélèvement (la date, le numéro, les références de la souche, ...)

- Prélever à l'aide de pipette Pasteur boutonnée stérile une fraction des colonies.
- Ensemencer par des stries fines et serrées le premier demi-cercle de la boîte de Pétri.
- Flamber la pipette Pasteur ou bien l'anse de platine
- Retourner la boîte de Pétri et ensemencer le deuxième demi-cercle.
- Flamber la pipette /l'anse encore une fois et laisser refroidir.
- Retourner la boîte et ensemencer le dernier demi-cercle avant de fermer la boîte de Pétri.

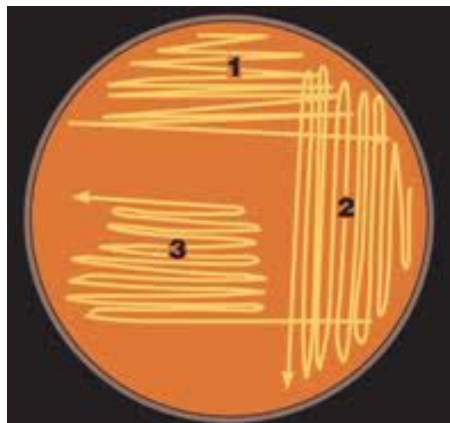






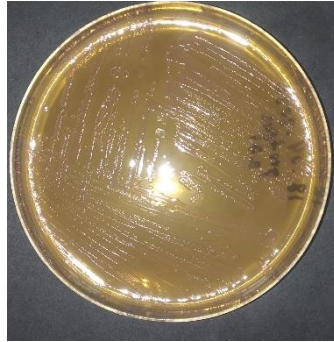


Figure 31 : Ensemencement selon technique trois cadrans (FRANÇOIS, 2016)

Tableau 11: Aspect des souches bactériennes dans milieux sélectifs et ordinaire (Original, 2022)

Les souches	Aspect dans milieu sélectif	Aspect dans milieu ordinaire
<i>Escherichia coli</i>		
	Gélose Mac-Conkey	Gélose Nutritive
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
	Gélose Mac-Conkey	Gélose Nutritive
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
	Gélose Mac-Conkey	Gélose Nutritive

Proteus mirabilis



Gélose Mac-Conkey



Gélose Nutritive

Staphylococcus aureus



Gélose Chapman



Gélose Nutritive

Streptococcus spp



Gélose Nutritive

- **Conservation :**

La conservation des isolats purifiés est réalisée par ensemencement par pique centrale sur gélose nutritive non inclinée. Après incubation à 37°C pendant 18-24 heures, les tubes sont conservés à + 4°C. Le renouvellement des cultures se fait tous les trois semaines.

II.2.4 Préparation du standard McFarland :

MaFarland est un standard de turbidité pour normaliser le nombre approximatif de bactéries dans une suspension liquide pour tester la sensibilité aux agents antimicrobiens.

Les réactifs utilisés pour préparer 100ml de tube McFarland 0.5 (annexe 02) :

- 99.5ml Acide sulfurique (H₂SO₄) 1%.
- 0.05 ml Chlorure de baryum (BaCl₂) 1%.

L'absorbance du mélange est testée par spectrophotométrie à 625nm, elle doit être entre [0.08-0.1] (BECTON et al.,2005).

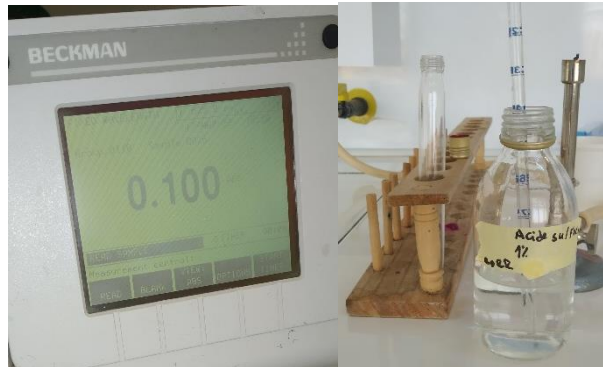


Figure 32 : Préparation du McFarland 0.5 (Original, 2022)

II.2.5 Préparation de la suspension bactérienne :

Après purification des souches, 3-4 colonies sont choisies et isolées à l'aide d'anse ou bien de pipette Pasteur boutonnée stérile et transférées dans un tube stérile contenant 9 ml d'eau physiologique stérile.

Une comparaison de la turbidité des colonies diluées dans l'eau physiologique avec celles contenues dans le milieu McFarland 0.5.

II.2.6 Préparation des disques :

Des disques de papier filtre Wattman de 5mm sont découpés, puis stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 20min. Ces disques trempés dans les extraits polyphénoliques avec une quantité approximative de 20 µl pour chaque disque.

II.2.7 Méthode de diffusion :

La méthode de diffusion est l'une des méthodes les plus anciennes pour déterminer la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques imprégnés des différents produits à tester. La méthode est recommandée par Clinical and Laboratory Standards Institutes (CLSI).

L'ensemencement et dépôts des disques :

- Tremper un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois interne du tube.
- Ensemencement par inondation frotter l'écouvillon sur toute la plaque de gélose MH, de haut en bas, avec des stries fines et serrées.
- Répéter cette opération trois fois par légère rotation de la boîte de 60°.
- Tourner l'écouvillon trois fois autour de la paroi interne de la boîte Pétri.
- Recharger l'écouvillon à chaque fois dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche.
- Déposer les disques Wattman qui sont imprégnés d'une petite quantité des extraits 20 µl pour chaque disque sur la surface de la gélose inoculée à l'aide de pince stérile.
- Des disques Wattman imprégnés d'éthanol ou DMSO sont utilisés comme témoin négatif.
- Déposer disque antibiotique servant de témoin positif.

Les boîtes de Pétri ont été incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C. Nous avons testé les trois extraits sur toutes les souches bactériennes.

II.2.8 Méthode de puits :

L'ensemencement a été fait de la même façon que la méthode de diffusion, la seule différence réside dans le fait qu'au lieu d'utiliser les disques nous avons réalisé des puits de 6 mm de diamètre sur la gélose Muller Hinton à l'aide d'un emporte-pièce, par la suite l'extrait est déposé dans chaque puit au centre à l'aide d'une pipette pasteur stérile. Après une pré-diffusion de 45 minutes à température de 4°C, les souches ont été incubées dans l'étuve pendant 18 à 24 heures à 37°C.

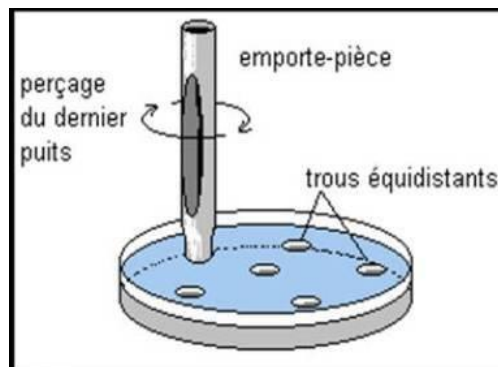


Figure 33 : Méthode des puits (BENZOHRA et al., 2019)

II.2.9 Test

On a testé l'activité antimicrobienne de la poudre de matière sèche par méthode de diffusion sur gélose les étapes sont réalisées également de la même façon que la méthode de diffusion d'extraits avec un seul changement les disques de papier filtre sont imprégnés dans l'éthanol puis la poudre de matière végétale sèche.

II.3 Lecture :

A la sortie de l'incubateur, l'absence de croissance microbienne se traduit par un halo d'inhibition du disque, relativement circulaire et dont le diamètre est mesuré et exprimé en centimètres ou en millimètres. Selon Durafour et al. (2006) :

Lorsque le diamètre est inférieur ou égal à 8 mm, la sensibilité des bactéries est nulle (N).

La sensibilité des bactéries est limitée (L) lorsque le diamètre est compris entre 8 et 14mm.

La sensibilité des bactéries est moyenne (M) lorsque le diamètre est compris entre 14-20mm.

Les bactéries sont très sensibles aux bactéries de diamètre supérieur ou égal à 20 mm (S).

II.4 Antibiogramme :

L'antibiogramme est une technique qui permet de mettre en évidence les effets des antibiotiques sur les souches bactériennes. Les différentes étapes de l'antibiogramme sont les mêmes que celles réalisées lors de la méthode de diffusion, la seule différence est qu'à la place des disques qui contiennent une quantité de notre extrait nous allons utiliser des disques antibiotiques.

Les antibiotiques :

Le mot antibiotique (du grec anti : « contre », et bios : « la vie ») se sont des substances d'origine naturelle, synthétique ou semi synthétique utilisée contre les infections d'origine bactérienne. Les antibiotiques possèdent la capacité de tuer les bactéries (effet bactéricide) ou d'inhiber leur multiplication (effet bactériostatique). Certains antibiotiques peuvent, en fonction de leur concentration, être bactéricides ou bactériostatiques. (MUYLATAERT et al.,2012)

Le choix des antibiotiques utilisée a été fait en fonction de:

- La disponibilité.
- List d'institut des normes cliniques et de laboratoire (CLSI 2018).
- Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques a l'échelle nationale.

Les antibiotiques utilisés :

- Amikacine (AK)
- Ampicilin (AM)
- Aztraonam (ATM)
- Colistine (Cl)
- Fosfomycine (FO)
- Gentamicin (HLG)
- Kanamycin (K)
- Ofloxacin (OF)
- Penicillin (P)
- Rifampicin (RIF)
- Ticarcillin (TIC)
- Tobramycin (TOB)



Figure 34 : Antibiotogramme (Original, 2022)

III. Troisième partie : Effet des extraits de *T. gallica* sur l'activité antioxydante :

Une activité antioxydante est attribuée à une molécule qui empêche l'oxydation en neutralisant des radicaux libres. Ces radicaux libres apparaissent aux cours de la respiration cellulaire et au cours de la production d'énergie. Ce sont des radicaux nocifs pour plusieurs constituantes cellulaires en particulier l'ADN, les radicaux libres peuvent générer la vieillesse et la mort cellulaire. Alors les molécules antioxydantes protègent les cellules contre ces radicaux libres.

III.1 Évaluation de la capacité antioxydante totale

Le test est basé sur la réduction de Mo(VI) en Mo(V) par l'extrait et la formation subséquente d'un complexe phosphate vert/Mo(V) à pH acide.

Selon **Ksouri et al. (2009)** Un aliquote (0.1 ml) de l'extrait végétal a été combinée avec 1 ml de la solution du réactif (acide sulfurique 0.6 M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4 mM).

Les tubes ont été incubés dans un bloc thermique à 95°C pendant 90min. Après que le mélange a été refroidi à température ambiante, l'absorbance de chaque solution a été mesurée à 695 nm, le blanc est composé de 1 ml de la solution du réactif sans l'extrait (acide sulfurique 0.6 M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4 mM).

La capacité antioxydante a été exprimée en mg d'équivalent en acide gallique (0.02g/20ml d'eau distillée) par gramme de poids sec (mg de GAE/g de poids sec), la courbe d'étalonnage se situant entre 0 et 500 µg/ml. Trois répétitions pour chaque test ont été réalisées.

III.2 Capacité de piégeage des radicaux DPPH :

La capacité de réduction du 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle (DPPH*) des extraits d'organes a été mesurée selon la méthode décrite par **Ksouri et al. (2009)**. Un millilitre de l'extrait à des concentrations connues [0-500 µg/ml] a été ajouté à 0.25 ml d'une solution de méthanol DPPH*(0.025g/1l). Le mélange a été agité vigoureusement et laissé à température ambiante pendant 30 minutes dans l'obscurité.

L'absorbance de la solution résultante a ensuite été mesurée à 517 nm par spectrophotométrie et correspondait à la capacité d'extraits pour réduire le radical stable DPPH à la 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazine de couleur jaune.

L'activité anti-radical a été exprimée en IC₅₀ (µg/ml), la dose d'extrait nécessaire pour provoquer une inhibition de 50 %. Une valeur inférieure de CI₅₀ correspond à une activité

antioxydante plus élevée de l'extrait végétal comparable au acide ascorbique. La capacité de récupération du radical DPPH a été calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{DPPH}^* \text{ effet de récupération (\%)} = [(A_0 - A_1 / A_0) * 100]$$

Où A_0 est l'absorbance de la commande à 30 min, et A_1 est l'absorbance de l'échantillon à 30 min. Tous les échantillons ont été analysés en trois exemplaires.

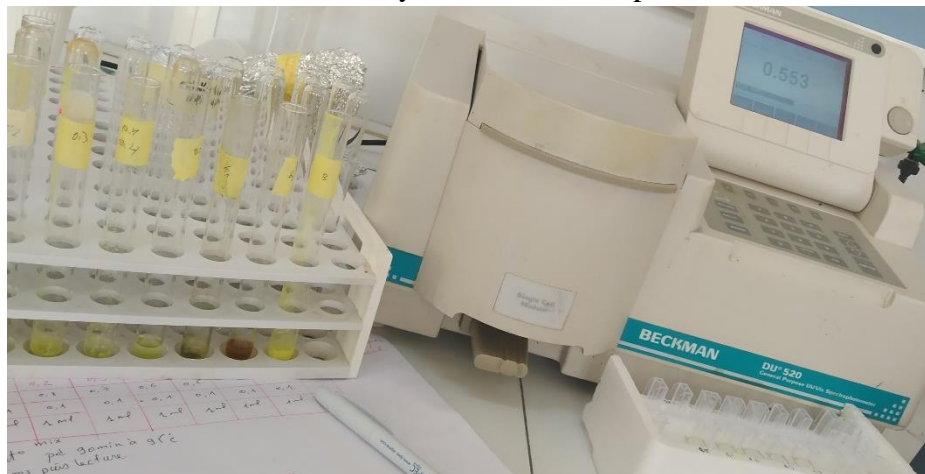


Figure 35 : Détermination capacité DPPH*(Original, 2022)

III.3 Quantification colorimétrique des phénols :

III.3.1. Dosage polyphénols

La quantification colorimétrique des polyphénols totaux a été déterminée par la méthode décrite par **Ksouri et al. (2009)**.

Une aliquote de 125 μl de l'extrait dilué a été ajoutée à 500 μl d'eau distillée et 125 μl du réactif Folin-Ciocalteu. Le mélange a été secoué, avant d'ajouter 1250 μl Na_2CO_3 (7%), en ajustant avec de l'eau distillée à un volume final de 3 ml, et mélanger soigneusement. Après incubation pendant 90 min à 23 °C dans l'obscurité, l'absorbance par rapport au blanc préparé a été mesurée à 760 nm par spectrophotométrie.

Une courbe standard d'acide gallique a été réalisée. La teneur phénolique totale des organes a été exprimée en mg d'équivalents en acide gallique par gramme de poids sec (mg GAE/g poids sec) reportée sur la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, allant de 0 à 400 $\mu\text{g/ml}$. Tous les échantillons ont été analysés en trois répétitions.

III.3.2 Dosage flavonoïdes :

Les flavonoïdes totaux ont été mesurés par un essai colorimétrique selon **Ksouri et al. (2009)**. Un aliquote de l'échantillon dilué ou solution-type de (+/-) Quercétine a été ajouté à

une solution de 75 μl de NaNO_2 (5 %), et mélangé pendant 6 min avant d'ajouter 0.15 ml d' AlCl_3 (10 %). Après 5 min, 0.5 ml de NaOH a été ajouté. Le volume final a été ajusté à 2.5 ml avec de l'eau distillée et bien mélangé. L'absorbance du mélange a été déterminé par spectrophotométrie à 510 nm par rapport au blanc (75 μl de NaNO_2 (5 %), 0.15 ml d' AlCl_3 (10 %)+0.5 ml de NaOH, le volume final a été ajusté à 2.5 ml avec de l'eau distillée)

La teneur totale en flavonoïdes a été exprimée en mg de Quercétine par gramme de poids sec (mg Quercétine/g de poids sec), en ayant recours à la courbe d'étalonnage de (+/-) Quercétine, allant de 0 à 400 $\mu\text{g/ml}$. Tous les échantillons ont été analysés en trois exemplaires.

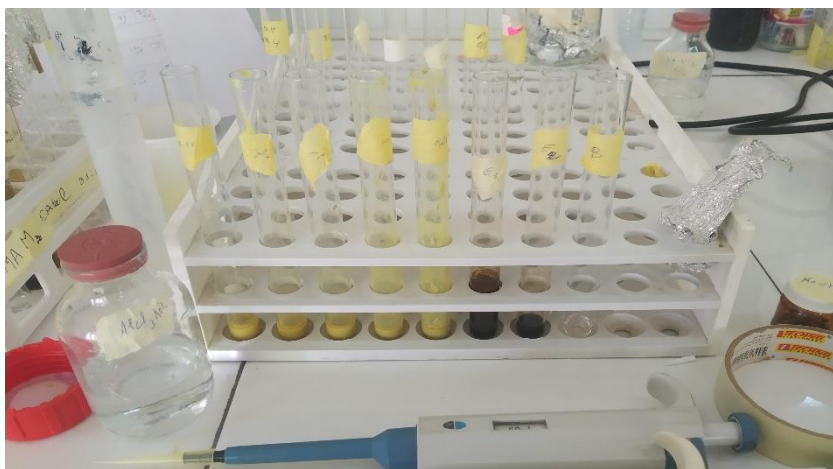


Figure 36 : Préparation dosage Flavonoïdes (Original, 2022)

III.3.2. Dosage total des tanins condensés :

L'analyse des tanins condensés (proanthocyanidines) a été effectuée selon la méthode de **Ksouri et al. (2009)**. Pour 50 μl de l'échantillon correctement dilué, 3 ml de solution de vanilline à 4 % diluée dans du méthanol et 1,5 ml d'acide chlorhydrique concentré ont été le mélangé. Ce mélange a été laissé à température ambiante pendant 15 minutes avant de mesurer l'absorbance à 500 nm en utilisant le méthanol comme un blanc. La quantité totale de tanins condensés est exprimée en mg (+/-) Quercétine/g de poids sec.

La plage de la courbe d'étalonnage de la Quercétine a été établie entre 0 et 400 $\mu\text{g/ml}$. Tous les échantillons ont été analysés en trois répétitions.

Chapitre II

Résultats et Discussion

Dans ce chapitre nous allons tout d'abord exposer les résultats obtenus en fonction des expérimentations réalisées, par la suite nous allons essayer de discuter ces résultats en les comparant avec des études similaires.

I. Résultats

I.1 Extraction :

I.1.1 Rendement d'extraction :

Le rendement de l'extraction se calcule par rapport à la masse de polyphénols extraits et la masse de la matière première végétale traitée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante:

$$RT (\%) = (P1 - P2/P3) \times 100 \text{ (HADDOUCHI et al.2016)}$$

P1: poids du ballon après évaporation

P2: poids du ballon avant évaporation (vide)

P3: poids de la matière végétale de départ ;

Avec trois méthodes d'extraction on a :

1^{er} méthode :

2^{eme} méthode :

3^{eme} méthode :

P1: 153.1g

P1: 152.9g

P1: 157.9g

P2: 150.4g

P2: 150.4g

P2: 156.5g

P3: 10g

P3: 5g

P3: 5g

Nous avons calculé le rendement de l'extraction, le résultat obtenu est représenté dans la Figure :

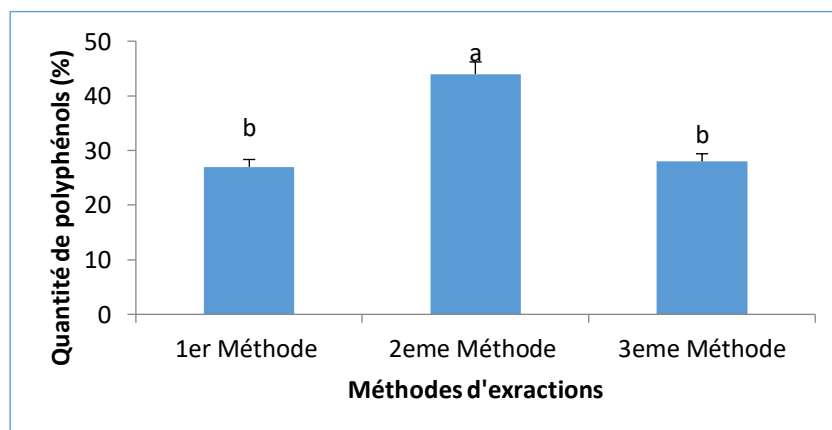


Figure 37 : Rendement d'extraction *Tamarix gallica*

D'après les résultats représentés dans l'histogramme de la figure N°37, la valeur du rendement de l'extraits de *Tamarix gallica* varie en fonction de la méthode d'extraction employée. C'est la deuxième méthode qui présente le rendement le plus important avec 44% tandis que la première et la troisième méthode présentent des résultats presque semblables (27 et 28%).

I- Tests phytochimiques :

Les tests phytochimiques consistent à évaluer la présence de certains métabolites secondaires dans les parties végétales de la plante étudiée.

I.2.1 Flavonoïdes :

L'ammoniaque NH_4OH est utilisée comme indicateur de présence de flavonoïdes, la réaction est considérée positive avec l'apparition de couleur marron dans la partie supérieure du tube indiquant la présence de flavonoïdes. (Figure 38)

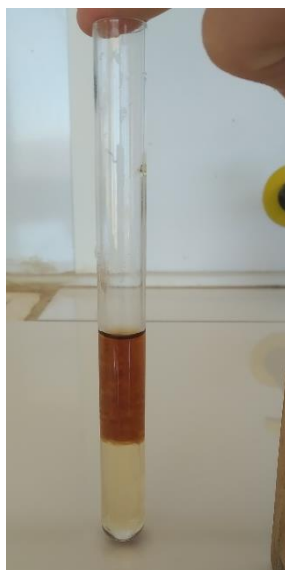


Figure 38 : Réaction positive de Flavonoïdes (Original,2022)

I.2.2 Tanins :

Les tanins sont des composés important utilisés en tant qu'anti-inflammatoire, digestif, diurétique et dans le traitement de l'hypertension artérielle. La teneur en tanin dans le végétal est évaluée par l'ajout du chlorure ferrique (FeCl_3). Cette réaction est positive avec

l'apparition de couleur bleu ou vert indiquant ainsi la présence de tanins dans les parties aériennes du *Tamarix gallica*.



Figure 39 : Réaction positive les tanins
(Original,2022)

I.2.3 Saponines :

Les saponines sont un groupe de molécules détergentes et émulsifiantes naturellement produit par des plantes. Leur présence est déterminée par le test de mousse, une mousse apparait à la partie supérieure du tube à 1 cm indique la présence des saponines (Figure N°40).



Figure 40 : Test mousse saponine (Original,2022)

I.2.4 Anthocyanes :

Ce sont des molécules qui existent chez certain nombre de plantes. Elles jouent un rôle important dans la pollinisation des fleurs et la dispersion des graines, ainsi que dans la protection des plantes contre les agressions du milieu (froid, lumière, ravageurs, etc.). Leur révélation ce fait par un test en deux étapes, en premier l'apparition de couleur jaune après ajout du HCl pure, et une apparition de couleur marron la deuxième fois après l'addition de quelques gouttes de NH_4OH .

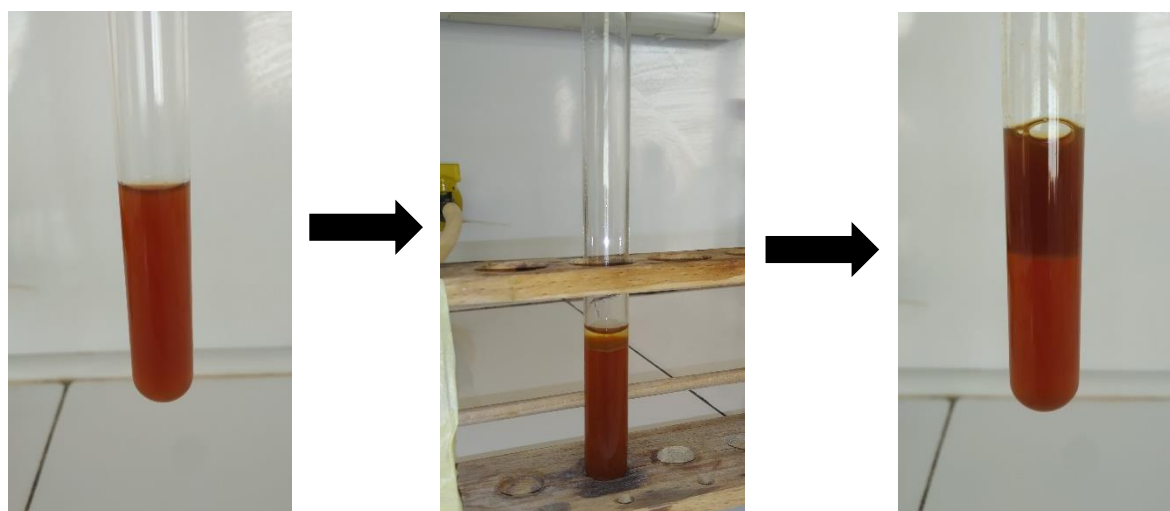


Figure 41 : Test anthocyanes (Original, 2022)

I.2.5 Test de caractérisation de phénols :

Ces tests donnent une couleur spécifique, appelée la réponse anthocyanique, qui montre que le Tamarix contient une certaine quantité de dérivés phénoliques. Lorsque notre extrait est mis en solution alcoolique, en présence du magnésium ionique, il y a selon la structure du phénol impliqué, il aura l'apparence d'une couleur spécifique. Le changement de couleur indique la formation de nouveaux complexes de phénate de magnésium qui suivent l'interaction entre les phénols contenus dans les végétaux et les ions Mg^{+} .

Nous observons en premier temps que notre mélange commence à barboter ce qui explique que le magnésium a réagi avec l'acide chlorhydrique. Avec une apparition d'une couleur rouge brique pour ce qui prouve la présence des flavonoïdes dans notre plante (la couleur rouge brique indique la présence des flavones ; sous famille de flavonoïdes).

Ce changement de couleur démontre que l'ion de Mg^{+2} forme un complexe avec les flavonoïdes contenus dans les extraits.

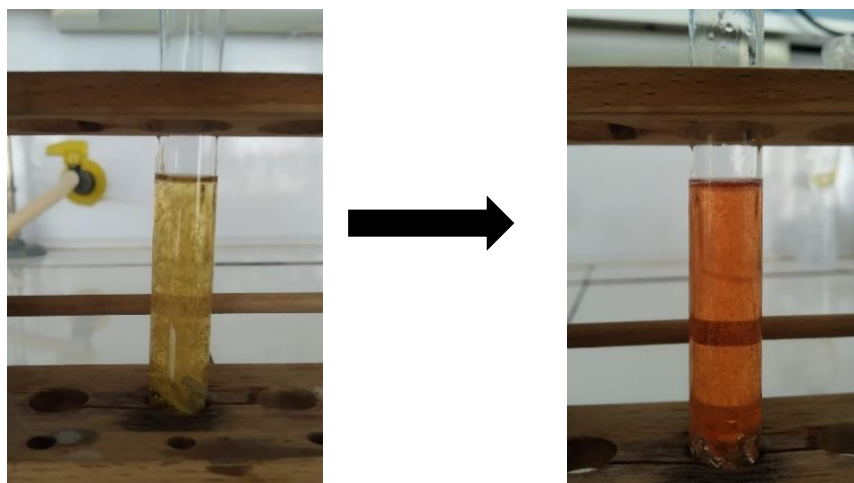


Figure 42 : Test caractérisation phénols (Original,2022)

I.3 Deuxième partie :

I. Evaluation l'activité antimicrobienne :

1- Activité antibactérienne des extraits bruts par la méthode des disques

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits bruts hydrométhanoliques de la plante étudiée sont révélés dans le tableau suivant :

- Première méthode d'extraction :

Tableau 12: Résultats d'activité antimicrobienne de première méthode d'extraction.

Souches	Dilution 1%	Dilution 10%	Extrait	DMSO
<i>Escherichia coli</i>	-	-	7mm (N)	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	9mm (L)	-
<i>Streptococcus spp</i>	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	9mm (L)	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-

*(diamètre des disques en papiers 5mm).

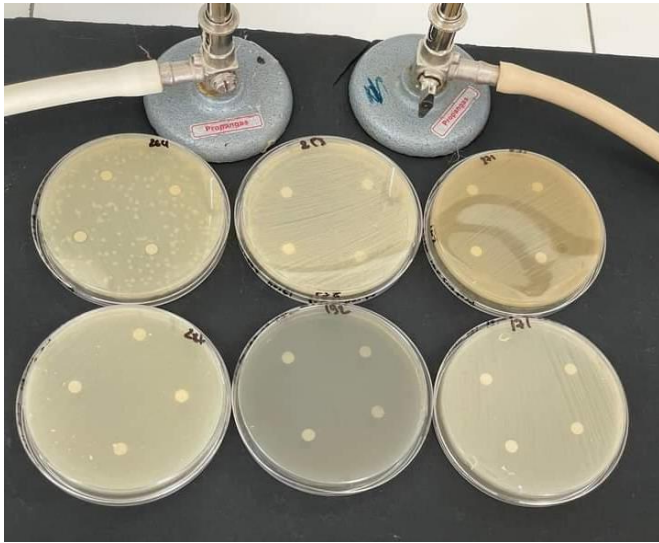


Figure 43 : Résultats évaluation activité antimicrobienne dilution de 10%

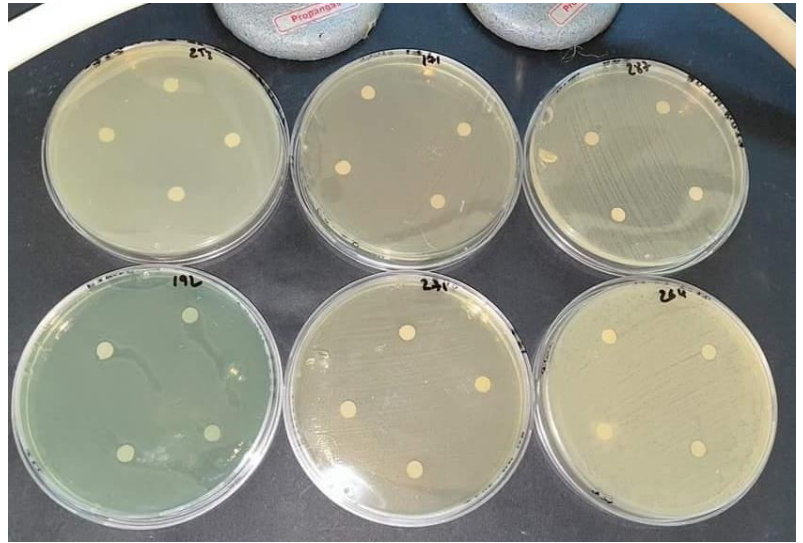


Figure 44 : Résultats évaluation activité antimicrobienne d'extrait

- Le Di-MéthylSulfOxyde (DMSO) a été utilisé comme témoin négative ce qui n'a aucune influence sur la réaction.
- Nous notons que l'extrait hydroalcoolique de *Tamarix gallica* est actif lorsqu'il est concentré, et cette activité diminue en augmentant la dilution indépendamment de la souche testée. Par conséquent, l'activité est inversement proportionnelle à la dilution.
- Les résultats révèlent que les plus hauts niveaux d'activités marqués ont été enregistrés sur *Pseudomonas aeruginosa*, et *Proteus mirabilis* avec un diamètre d'inhibition limite de 9 mm, suivi par des activités légèrement moins importantes à nulle pour *Escherichia coli*. Aucun effet n'a été enregistré sur les souches *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp*, *Klebsiella pneumoniae* testées.

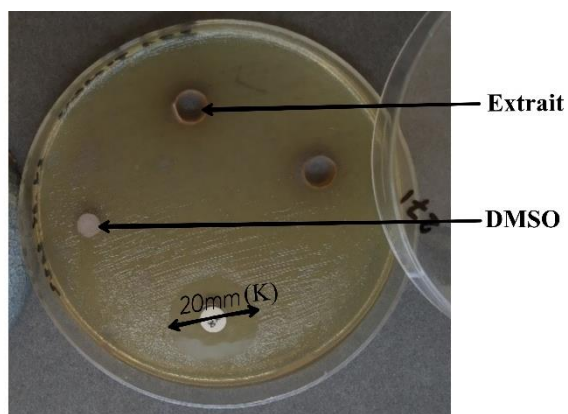
2- Activité antibactérienne des extraits bruts par la méthode de puits :

Les souches bactériennes se comportent différemment vis-à-vis de tous les extraits par des puits de 6mm de diamètre.

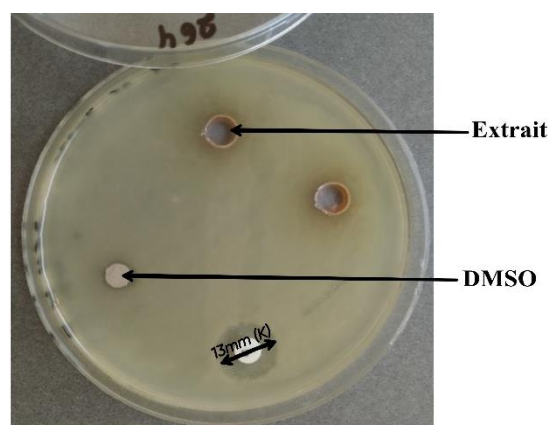
Tableau 13 : Résultats d'activité antimicrobienne d'extraits *T. gallica* par la méthode des puits.

Souches	Diamètre	Diamètre	DMSO	Antibiotique Kanamycin (K)
	d'inhibition Puits 1	d'inhibition Puits 2		
<i>Escherichia coli</i>	7 mm	7.5 mm	-	19 mm
<i>Proteus mirabilis</i>	8 mm	9 mm	-	20 mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	17 mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10 mm	9 mm	-	13 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7 mm	7mm	-	14 mm

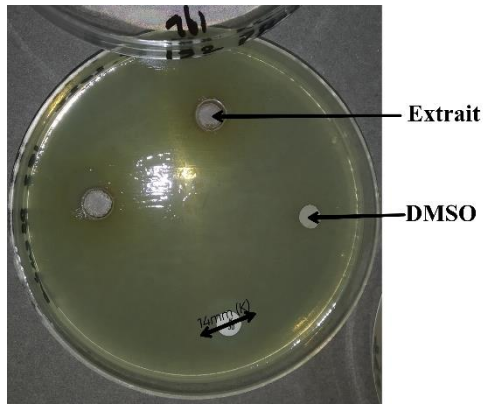
*(diamètre des disques en papiers 5mm).



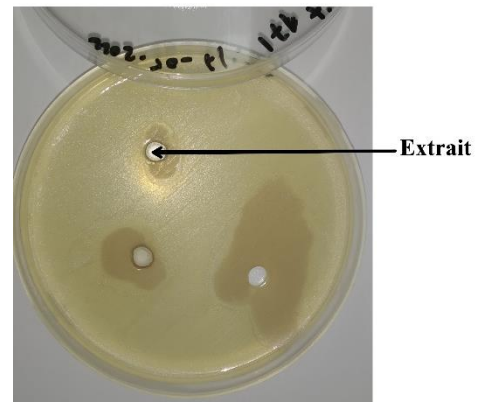
Proteus mirabilis



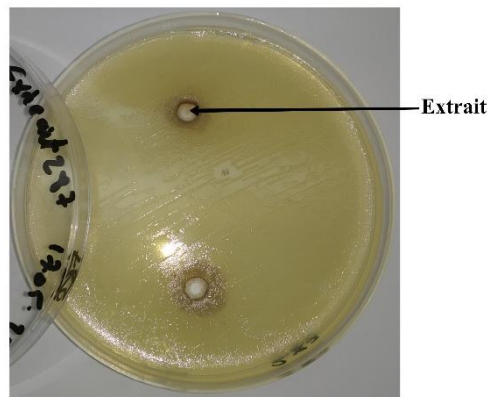
Klebsiella pneumoniae



Pseudomonas aeruginosa



Staphylococcus aureus



Escherichia coli

- Les résultats sont obtenus par contact direct des souches à tester avec l'extrait par des puits.
- Les résultats obtenus indiquent une réaction négative vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus* (-).
- Les souches *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* à un effet ou bien sensibilité, moins important avec un diamètre de $D = 7\text{mm} < 8$, les souches qui a une sensibilité limitée de diamètre variée entre 9 – 10 mm remarqué sur *Proteus mirabilis* et *Klebsiella pneumoniae*.

Concernant l'antibiotique Kanamycin a enregistré un effet sur toutes les souches testées.

3- Activité antibactérienne des extraits bruts par la méthode de diffusion des disque et poudre :

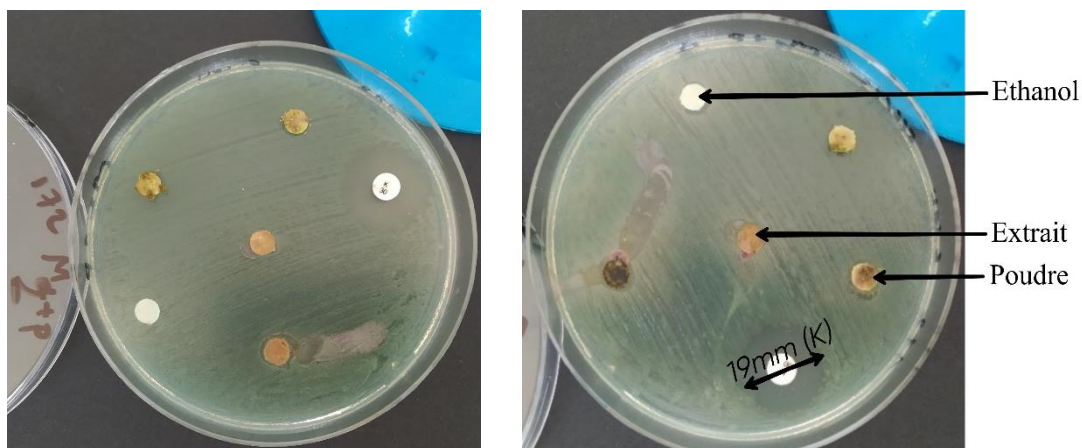
Nous avons utilisé la méthode de diffusion sur milieu Muller- Hinton en utilisant les disques du papier Wattman stérile N° 3 avec un diamètre 6 mm imprégné avec 20 µl de chaque extrait, et des disque imprégné d'éthanol et poudre de matière végétale sèche. Notre étude a porté sur 4 souches bactériennes et les résultats sont représentés sur le tableau N°14.

Tableau 14: Résultats d'activité antimicrobienne d'extraits par méthodes de diffusion des disques et poudre.

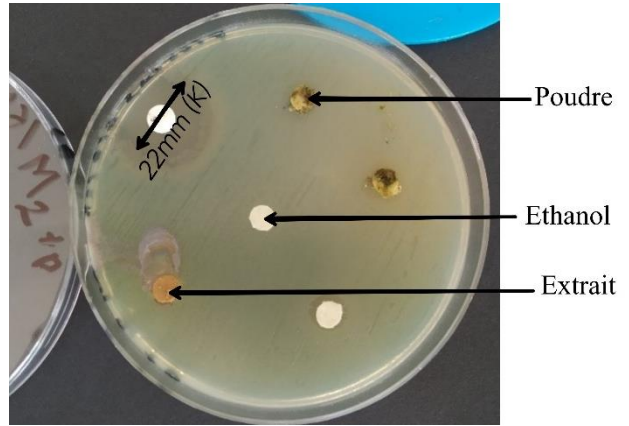
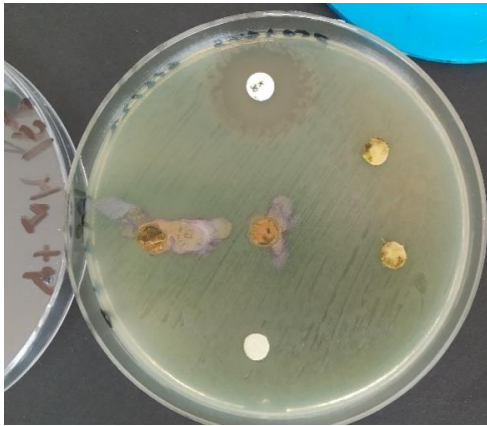
Souches	Diamètre d'inhibition de deuxième méthode	Diamètre d'inhibition de troisième méthode	Diamètre d'inhibition de la poudre	Témoin négative éthanol	Témoin positive Kanamycin
<i>Escherichia coli</i>	7 mm	7.5 mm	6.5 mm	-	19 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7 mm	8 mm	-	-	12 mm
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	-	22 mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	6 mm	-	-	13 mm

*(diamètre des disques en papiers 5mm).

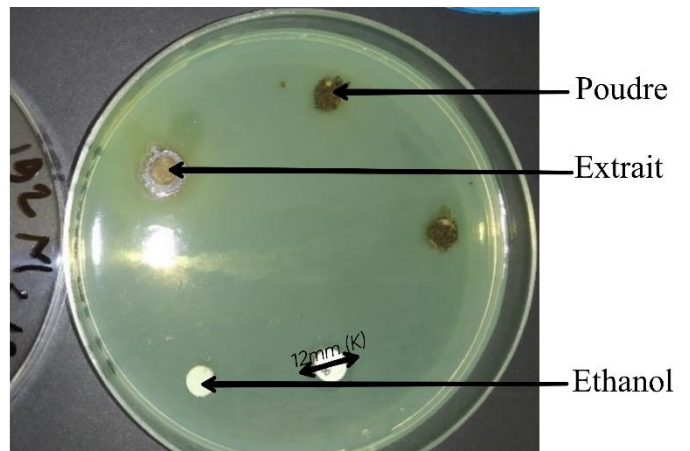
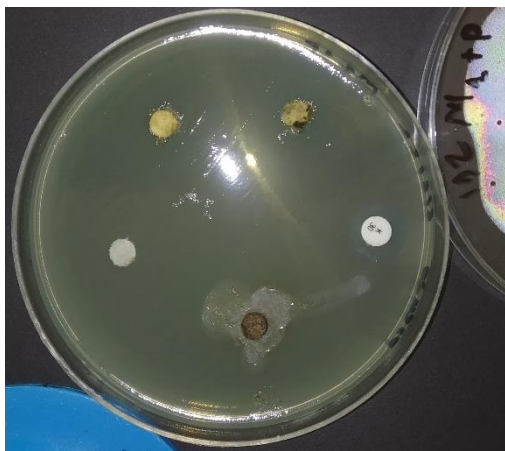
- Une sensibilité nulle a été observée pour les trois extraits sur la souches *E. coli*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* 7 mm, 8 mm, 6 mm de diamètre des zones d'inhibition, respectivement, et aucun effet observé sur *P. mirabilis*, par les trois méthodes utilisées. De plus aucun effet n'a été remarqué contre *Proteus mirabilis* (-).



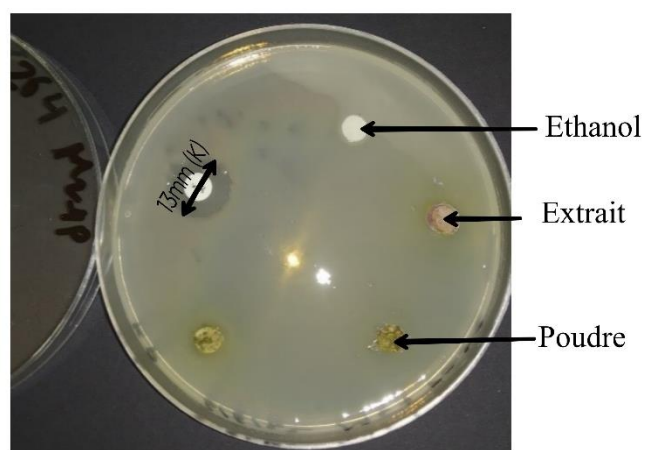
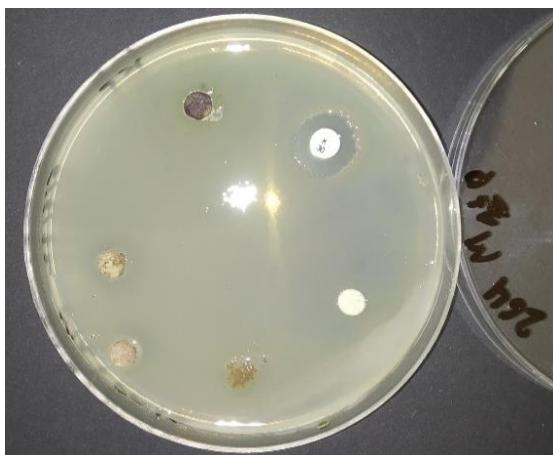
Escherichia coli



Proteus mirabilis



Pseudomonas aeruginosa



Klebsiella pneumoniae

4- Résultat d'antibiogramme :

Les résultats de l'antibiogramme obtenu ont été interprétée selon :

- Clinical and Laboratory Standards Institutes 2018 (CLSI2018)
- Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques a l'échelle nationale (7eme Edition)

Avec **R** : Résistance

S : Sensible

I : Intermédiaire

Tableau 15: Valeur des zones d'inhibition pour Entérobactéries.

Antibiotiques	Abréviation	Charge de disques	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
Amikacine	AK	30µg	21mm S	17mm S	19mm S
Ampicilline	AM	10 µg	7mm R	30mm S	6mm R
Aztraonam	ATM	30 µg	27mm S	6mm R	29mm S
Colistine	CI	25 µg	16mm S	15mm S	19mm S
Fosfomycin	FO	200 µg	36mm S	25mm S	33mm S
Gentamicin	CN	10 µg	19mm S	7mm R	19mm S
Kanamycin	K	30 µg	19mm S	13mm R	18mm S
Ofloxacin	OF	5 µg	31mm S	9mm R	30mm S
Ticarcillin	TIC	75 µg	10mm R	7mm R	6mm R
Tobramycin	TOB	10 µg	21mm S	9mm R	16mm S

Tableau 16 : Valeur des zones d'inhibition pour *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Souche	Antibiotiques	Abréviation	Charge de disques	Diamètre	Résultats
<i>Staphylococcus aureus</i>	Amikacine	AK	30 µg	18mm	S
	Gentamicin	CN	10 µg	17mm	S
	Kanamycin	K	30 µg	17mm	I
	Ofloxacin	OF	5 µg	28mm	S
	Penicillin	P	10 µg	6mm	R
	Rifampicine	RIF	5 µg	14mm	R
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Amikacine	AK	30 µg	25mm	S
	Aztraonam	ATM	30 µg	26mm	S
	Colistine	CI	25 µg	18mm	S
	Gentamicine	CN	10 µg	20mm	S
	Ofloxacine	OF	5 µg	31mm	S
	Tobramycine	TOB	10 µg	17mm	S
<i>Streptococcus spp</i>	Amikacine	AK	30 µg	23mm	S
	Ampicilline	AM	10 µg	6mm	R
	Gentamicine	CN	10 µg	18mm	S
	Ofloxacine	OF	5 µg	24mm	S
	Penicilline	P	10 µg	6mm	R
	Rifampicine	RIF	5 µg	12mm	R

- 10 antibiotiques sont testés sur les entérobactéries (Ampicilline, Amikacine, Aztraonam, Colistine, Fosfomycin, Gentamicin, Kanamycin, Ofloxacin, Ticarcillin, Tobramycin), les résultats sont les suivants :
 - *Escherichia coli* a montré une sensibilité pour tous les antibiotiques testés sauf dans le cas des Ticarcillin, Ampicilline qui été résistance.
 - *Klebsiella pneumoniae* a été multirésistante aux antibiotiques sauf pour les Amikacine, Ampicilline, Colistine, Fosfomycin.
 - *Proteus mirabilis* a prouvé une sensibilité pour Ampicilline, Ticarcillin, comme *Escherichia coli*.
- Pour les trois autres souches leurs résultats ont les suivants :
 - *Staphylococcus aureus* montre une sensibilité pour Amikacine, Gentamicin et Ofloxacin, et une résistance pour Rifampicine, Penicillin et été intermédiaire pour Kanamycin.
 - *Pseudomonas aeruginosa* montre une sensibilité forte pour tous les antibiotiques a tester (Amikacine, Colistine, Ofloxacin, Tobramycin et Aztraonam.
 - *Streptococcus spp* a montré une sensibilité pour Amikacine, Gentamicin et Ofloxacin, et une résistance pour Rifampicine, Penicillin et pour Kanamycin.

I.4 Troisième partie : Evaluation l'activité antioxydante

I.4.1 Évaluation de la capacité antioxydante totale :

La capacité antioxydante totale est une méthode quantitative pour déterminer la capacité d'une espèce donnée à dissiper les composés oxydatifs qui s'accumulent dans les différentes parties du végétale. Nous évaluons dans notre présente étude cette capacité chez *Tamarix gallica*. La capacité antioxydante a été formulée en nombre d'équivalents d'acide gallique.

Les résultats de la capacité antioxydante totale sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg GAE/g de poids sec) à partir d'une courbe d'étalonnage établie en utilisant l'acide gallique comme référence. La courbe d'étalonnage est exprimée par la fonction : $Y = 0.0016x + 0.0584$, et nous avons un coefficient de détermination équivalant à : $R^2=0.924$. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour la détermination de la capacité antioxydante totale est représentée dans la figure N°45 a le dosage de l'activité obtenu est de (444.125 mg de GAE/g de poids sec) et (451mg de GAE/g de poids sec) pour les deux méthodes d'extraction testée l'extrait N°2 et l'extrait N°3 la figure (b) montre une différence significative entre la concentration en acide gallique entre les deux extraits. Le deuxième extrait présente une valeur plus importante. **Ksouri et al. (2009)** (Extrait 2), **Ksouri et al. (2008)** (Extrait 3).

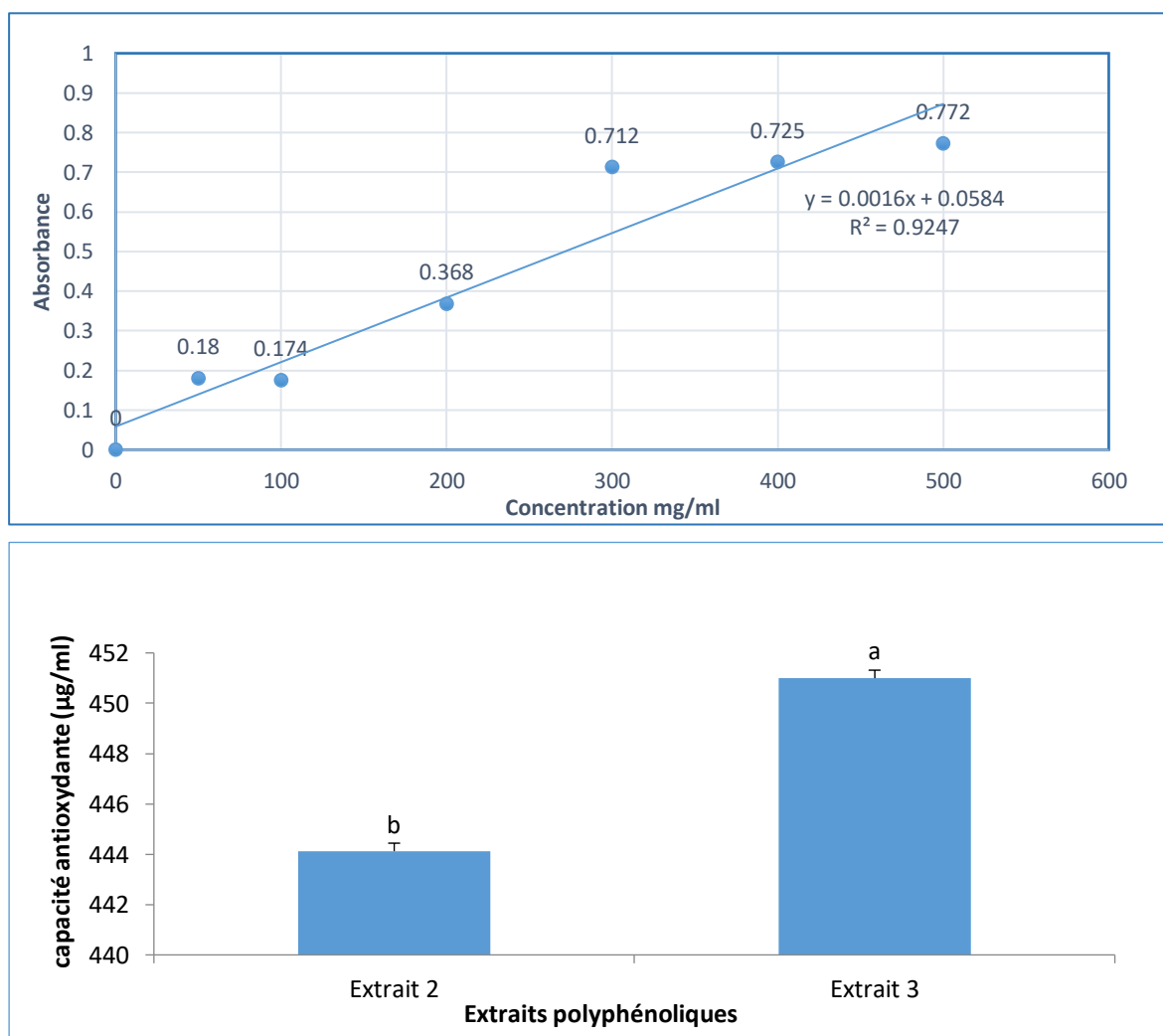


Figure 45 : a. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique. b. capacité antioxydante des deux extraits

I.4.2 Capacité de piégeage des radicaux DPPH :

La capacité de réduction du radical DPPH a été déterminée par la diminution de l'absorbance induite par les antioxydantes présents dans la matière végétale extrait du *T. gallica* testée dans cette étude. Nous avons utilisé l'acide ascorbique comme réactif en standard. Les résultats obtenus révèlent un effet plus fort de piégeage des radicaux libres que le témoin positif (AC. Ascorbique). Cet effet est observé par le changement de coloration du DPPH qui est initialement violet et se décolore indiquant la réaction positive.

La méthode d'extraction à base d'utilisées le méthanol concentré 98.9% décrit par **Ksouri et al. (2009)** extrait 1 est plus efficace avec in IC50 plus bas.

Le graphe de la figure (46). Indique que le coefficient de détermination R^2 est plus significatif avec l'extrait 2 qui a une courbe de tendance presque identique à celle de l'acide ascorbique, reflétant ainsi l'efficacité de l'extrait 2 et sa capacité antioxydante. L'extrait 3 a une capacité antioxydante inférieure à celle de l'extrait 1 et celle de l'acide ascorbique avec un coefficient de détermination $R^2 = 0.9404$.

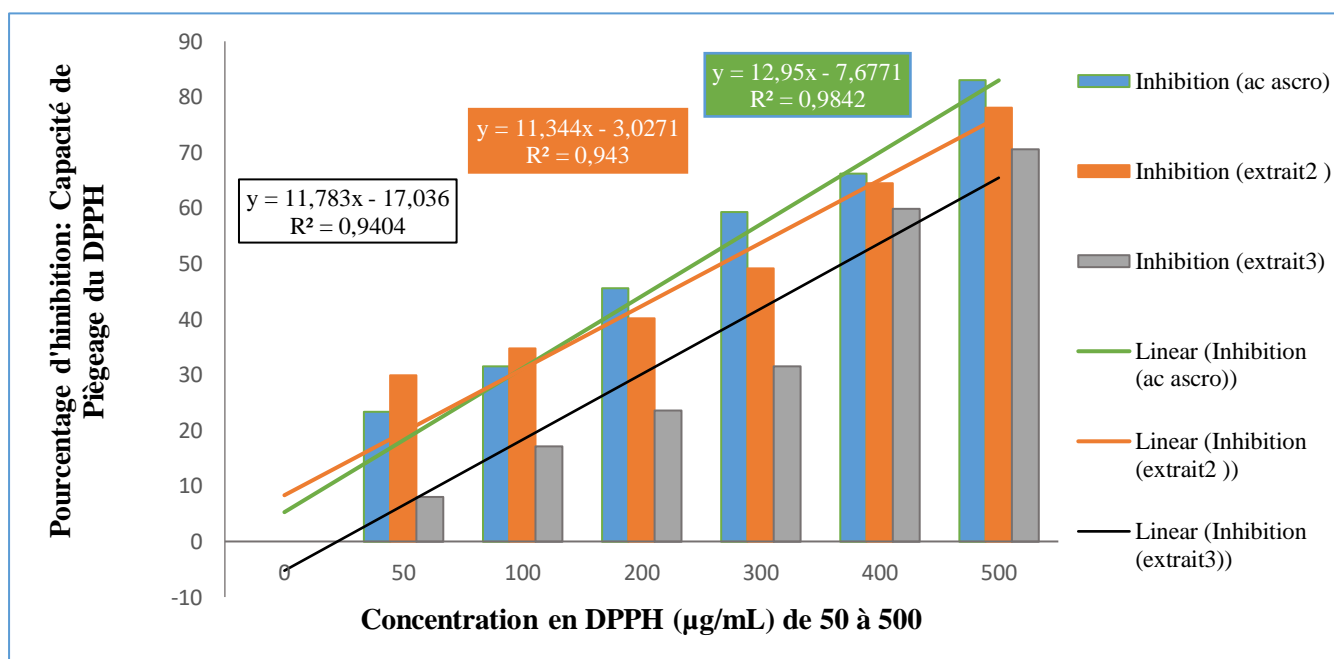


Figure 46 : Capacité de piégeage du radical DPPH

II.4.2 Quantification colorimétrique des phénols :

3.1. Dosage polyphénols :

Sur la base des valeurs d'absorbance après réaction avec le réactif Folin-Ciocalteu, nous avons déterminé la teneur en polyphénols dans nos extraits du *T. gallica*.

Les résultats obtenus montrent qu'avec l'extrait N° 2 nous avons obtenu 253.0833(mg GAE/g PS) et avec la deuxième méthode d'extraction nous avons observé 95.583(mg GAE/g PS). La courbe d'étalonnage établie en utilisant l'acide gallique comme référence ($Y = 0.0012x + 0.899$, avec un coefficient de détermination à $R^2=0.889$) est représentée sur la figure 47, Nos résultats nous ont permis d'enregistrer une teneur en polyphénols plus élevée avec la première méthode d'extraction.

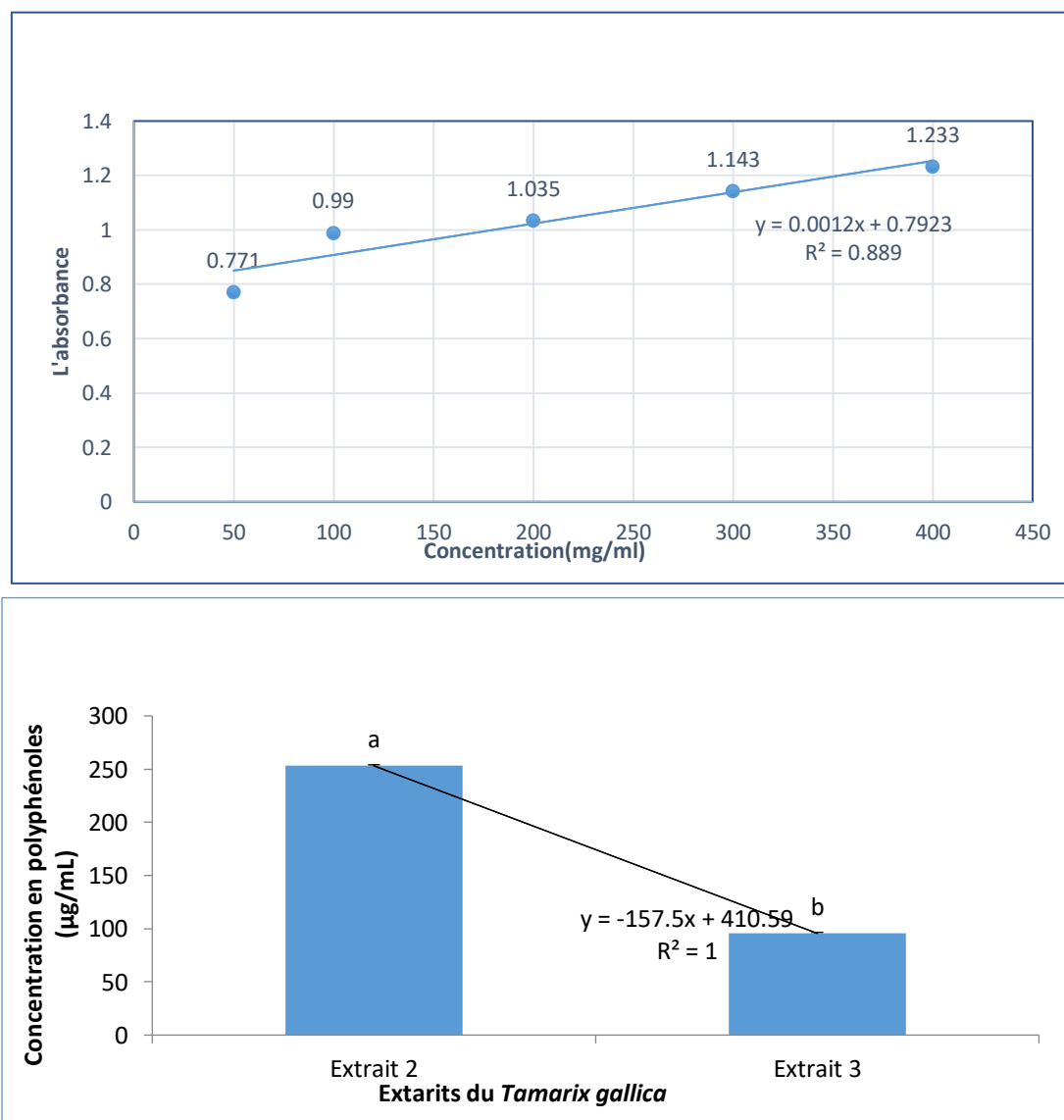


Figure 47 : a. Courbe étalonnage d'acide gallique. b. concentration polyphénols dans des extraits testés

3.2. Dosage flavonoïdes :

Le contenu en flavonoïdes est également estimé selon la méthode de trichlorure d'aluminium. La Quercétine considérée comme contrôle positif, qui a permis de réaliser la courbe d'étalonnage et les calculs de la teneur de flavonoïde dans notre extrait, Les résultats sont exprimés en µg équivalent Quercétine par g poids sec (mg EQ/g d'Ps) (figure 48).

Les résultats montrent que les deux méthodes ont presque la même quantité de flavonoïde extraits par la méthode 2 [Extrait 2] : 225.947 (mg EQ /g Ps), la méthode 3 [Extrait 3] : 211.210 (mg EQ /g PS).

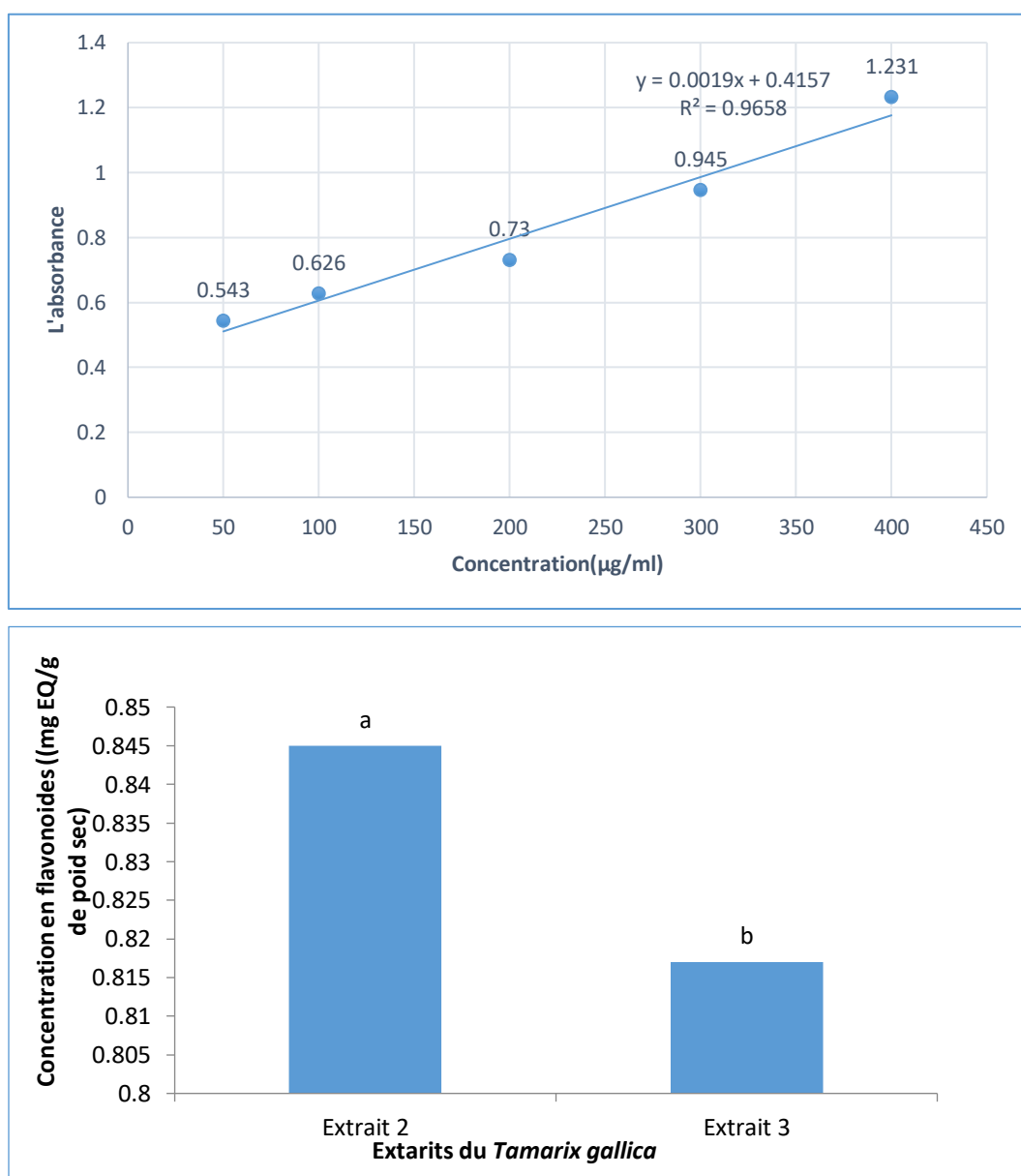


Figure 48 : a. Courbe étalonnage de Quercétine. b. dose des flavonoïdes dans les extraits du *T. gallica* testés

3.3. Dosage total des tanins condensés :

Les dosages des tanins de parties aérienne de *Tamarix gallica* issus des deux méthodes d'extraction (macération).

Ont permis d'enregistrer une concentration importante en tanins (2185.6 mg EQ/g PS) par le premier local. Cette concentration est nettement supérieure à la quantité obtenue par le deuxième méthode d'extraction (1775.66 mg EQ/g PS).

Les résultats sont superposés sur la courbe d'étalonnage établie en utilisant Quercétine comme référence en mg EQ/g de poids sec.

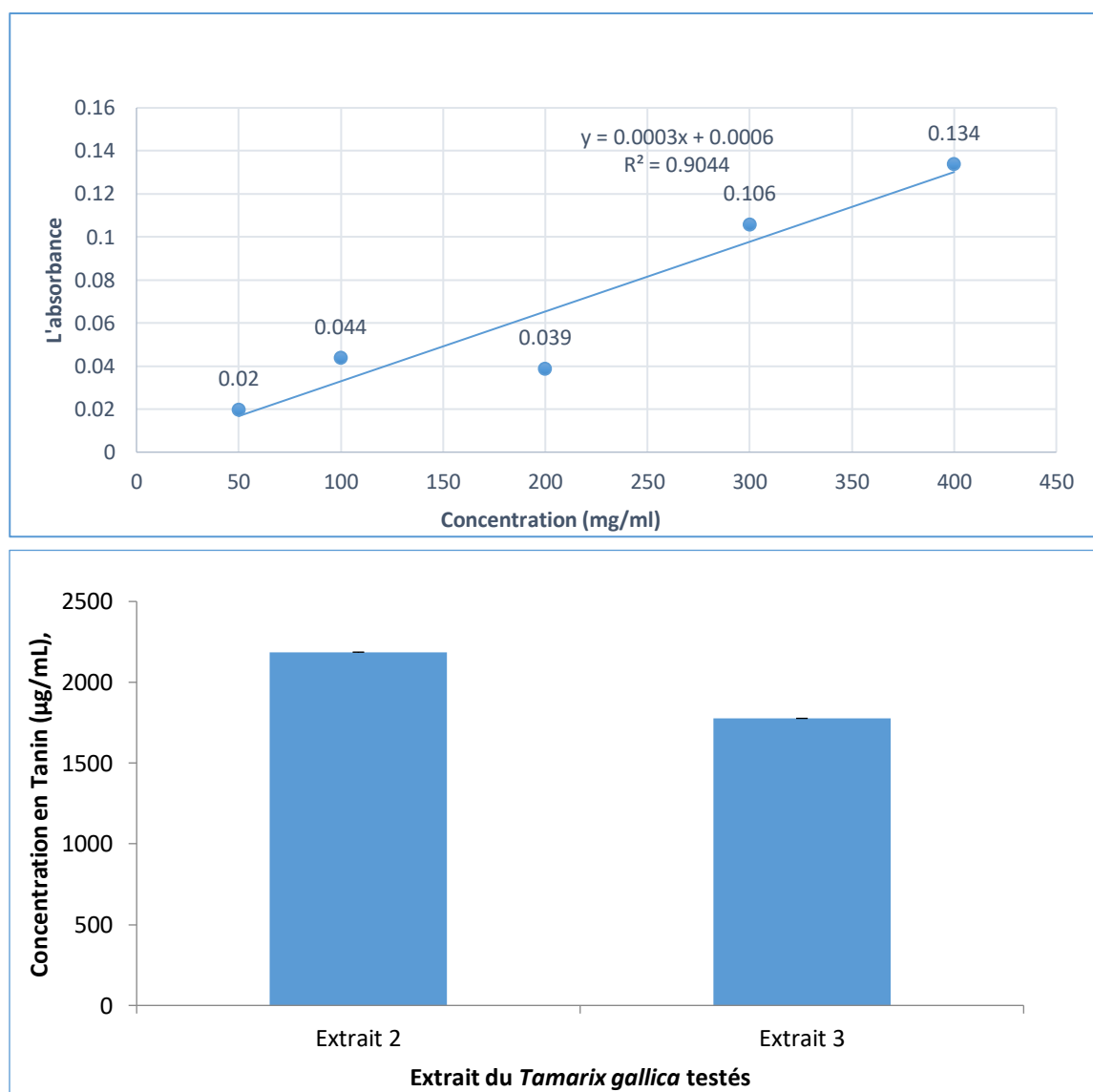


Figure 49 : a. Courbe étalonnage de Quercétine. b. concentration en Tanin des deux extraits testés

La quantité des polyphénols, flavonoïdes, tanins est élevée chez notre plante étudiée, les résultats sont résumés dans le tableau N°16.

Tableau 17 : L'activité antioxydante de la plante *Tamarix gallica*.

Méthode	Capacité antioxydante totale (mg GAE/g de poids sec)	Dosage Polyphénol (mg GAE/g PS)	Dosage Flavonoïdes (mg EQ/g PS)	Dosage Tanins (mg EQ/g PS)	les (mg piégeage DPPH [IC ₅₀ (µg/ml)])	de
Première Ksouri et al.(2009)	444.125 ± 0.316	253.083 ± 0.175	225.94 ± 0.276	2185.6 ± 0.048	280.87	
Deuxième de Ksouri et al. (2008)	451 ± 0.316	95.583 ± 0.175	211.210 ± 0.276	1775.66 ± 0.048	365.641	

II- DISCUSSION :

L'efficacité de l'extraction des composés phénoliques est influencée par plusieurs paramètres, tels que : la température, le temps d'extraction, les solvants, le pH, la période et lieu de récolte de la plante étudiée (SANTOS et al., 2012).

La variabilité de la teneur en polyphénols totaux varie considérablement en fonction de la nature du solvant utilisé dans l'extraction et le type d'organe étudié. Le méthanol est le meilleur solvant pour extraire les polyphénols. Ksouri et al. (2009) et Bettaib et al. (2017) a trouvé aussi que les extraits de *Tamarix gallica* avait un taux important de polyphénol. Bien qu'ils aient aussi montré que la plante *Tamarix gallica* à une teneur élevée en flavonoïdes et en tanins condensés.

Les résultats de notre présente étude nous ont permis d'enregistrer un rendement plus important avec la deuxième méthode d'extraction à base de méthanol pur à 98.9% cette méthode a été utilisée précédemment par Ksouri et al. (2009) sur la même espèce végétale *Tamarix gallica*. Ces auteurs ont obtenu un rendement inférieur à ce que nous avons enregistré dans notre étude. Cette amélioration du rendement peut être attribuée aux conditions de plantations. En effet, les plantes échantillonnées par Ksouri et al. (2009) sont

des espèces prélevées à l'état naturel, tandis que dans notre cas nous avons amélioré nos plantations par l'ajout d'un biofertilisant à base de champignons mycorhizien arbusculaire.

Nous avons testé l'activité antimicrobienne de nos extraits polyphénoliques par la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton sur 6 souches isolées de l'hôpital à Djelfa nocives à l'homme. Les extraits sont plus efficaces lorsqu'ils sont concentrés, la moindre dilution les rend inactifs. Les résultats comparatifs montrent que nos extraits présentent une inhibition minimale devant celle des antibiotiques.

L'extrait de *Tamarix gallica* dont les composés majoritaires sont des polyphénols, et flavonoïdes a montré une activité sur différentes souches bactériennes et fongiques (Ksouri et al., 2009). L'ensemble des travaux de ces auteurs, ainsi que d'autres (Bencherif et al. 2019) ont introduit les polyphénols de *T. gallica* comme des sources prometteuses face au développement de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Cependant dans notre présente étude les extraits testés n'avez pas montré une efficacité intéressante.

Cette absence d'activité antimicrobienne pourrait être liée à l'absence d'action des composés antibiotiques ou à l'absence des métabolites bioactifs. Et le développement des mécanismes de résistance des souches bactériennes, cette résistance microbienne peut être naturelle ou acquise (conjugaison bactérienne pour transfert plasmide) (MUYLAERT et al., 2012). De plus, il est intéressant de souligner que nos plantes sont prélevées sur une culture jeune de deux ans ce qui peut expliquer que la plante n'a pas bien développé les molécules actives contre les agents microbiens. Puisque selon Mezeni et al. (2021) la capacité des polyphénols à inhiber la toxicité des bactéries est liées aux différents composés lipidiques contenues dans les parties du végétal, dans notre cas la plante n'a pas encore bien développé ces composées lipidiques. D'un autre côté, les souches bactérienne résistantes lorsqu'elles sont cultivées à des concentrations plus élevées que celles des antibiotiques reflètent le développement de différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, les plus répandus. Ce mécanisme de résistance se manifeste par la modification de la production enzymatique modifiant ainsi les molécules antibiotiques, la modification ou le remplacement de la cible antimicrobien, l'efflux actif, et l'imperméabilité bactérienne (MUYLAERT et al., 2012).

Nous avons également testé l'activité antioxydante de la partie aérienne de *Tamarix gallica* par deux méthodes d'extraction différentes.

Les résultats montrent que la première méthode d'extraction en milieu méthanolique (méthanol concentré 98.9%), est plus efficace que la deuxième méthode d'extraction sur le milieu qui contient acétone, méthanol, chloroforme, et eau (80/20).

L'activité antioxydante total a été déterminée par une méthode basée sur la réduction de phosphomolybdène présent sous la forme d'ions molybdate Mo(VI) MoO_4^{2-} en molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence de l'extrait ou l'antioxydante pour former un complexe vert de phosphate dans un milieu acide. Au cours de ce test, l'hydrogène et l'électron sont transférés du composé réducteur (extrait- antioxydante) vers le complexe oxydant. Le processus se base sur l'auto-oxydation par la chaleur (95°C) et nécessitent de longues périodes d'incubation (90 minutes) (PRIETO et al., 1999). Cette activité antioxydante des extraits du *T. gallica* pourrait être attribuée à la présence des molécules phytochimiques comme les composés phénoliques.

Le DPPH est un radical libre qui accepte un radical d'électron ou d'hydrogène pour devenir une molécule stable. La capacité de réduction du radical DPPH a été déterminée par la diminution de l'absorbance induite par les antioxydante végétaux. L'acide ascorbique était le réactif utilisé en standard. Le DPPH est initialement violet. Il se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir anti-radicalaire direct de différentes substances phénoliques des extraits. (BENCHAACHOUA.A.,2019)

L'effet des extraits de méthode 2 et la méthode 3 et de la norme sur le radical DPPH exprimé en valeurs concentration inhibitrice 50% (IC50) était dans l'ordre suivant : Extrait 1 (280.87µg/ml), et Extrait 2 (365.641µg/ml), AC. Ascorbique (261.345µg/ml). Ce qui explique que lorsque IC50 est basse l'activité antioxydante est élevée.

Il a été constaté que les molécules antioxydantes tels que l'acide ascorbique, tocophérol, flavonoïdes, et les tanins réduire et décolorer DPPH en raison de leur capacité de don l'hydrogène.

Les composés phénoliques des extraits de *T. gallica* ont probablement été impliqués dans leur activité antiradicalane. De cette façon, a montré que les espèces de Tamarix sont riches en composés phénoliques qui sont impliqués dans plusieurs activités biologiques, y compris les antioxydante (Ksouri et al.,2009).

L'IC₅₀ est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydante requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (IZZA.S., 2019). Alors la première méthode d'extraction fournie a une activité de piégeage plus importante que celle obtenue par la deuxième méthode.

En fin, on peut dire que l'étude de l'activité antioxydante de l'espèce de *Tamarix gallica* a montré le potentiel piégeage de radicaux libres de cette plante qui pourrait être considérée comme source d'antioxydants naturels. L'activité antioxydante observée serait due à leur teneur élevée en polyphénols totaux, flavonoïdes, et tanins totaux. Ce qui correspond aux études précédentes élaborées par Ksouri et al. (2009), Bettaib et al. (2017), Boulaaba et al. (2013). Ces auteurs ont tous souligné une forte activité antioxydante chez les composés phénoliques du *Tamarix gallica*.

Généralement, une telle richesse en composants phénoliques contribue de manière significative à une activité antioxydante efficace.

Conclusion générale :

Les plantes médicinales restent la source des principes actifs des du connus par leur propriété thérapeutique, une étude des propriétés antimicrobienne et antioxydante a concerné une espèce halophyte des espaces Algériens, le *Tamarix gallica*. Du point de vue quantitative des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des quantités importantes en polyphénols. De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d'AlCl₃ qui nous mène à conclure que cette plante contient une quantité considérable de flavonoïdes. Il ressort de ces analyses que *T. gallica* est riche en flavonoïdes de types flavones. Le potentiel antiradicalaire des extraits a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats montrent que ces extraits possèdent une bonne activité, donc cette plante contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydante de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydante contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires. Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antimicrobien vis-à-vis de 6 bactéries pathogènes, les résultats microbiologiques ont montré que les extraits de *T. gallica* ont une action très faible sur les espèces bactériennes testées.

Cette absence pourrait être lié à l'absence d'action des métabolites secondaires. Et pourrait également être liée au développement des mécanismes de résistance chez les souches bactériennes.

En conséquence, une relation étroite peut être suggérée entre les quantités phénoliques et les capacités antioxydantes dans les parties aériennes de *T. gallica*. Les résultats de notre étude ouvrent de potentielles perspectives pour l'élaboration d'autres recherches dans le même axe avec d'autres paramètres d'étude.

Références bibliographiques

- ABSALNER.A.,TURKOGLU.Z.,2019 –Resveratrol.3rd international conference on advanced enegineernig technologies.19:1622-1629.
- activated nod genes of Rhizobium leguminosarum increased pea (Pisum sativum L.)and lentil (Lens culinaris L.)
- ALKURD A., H. T.,2008- Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. *Journal of Agricultural Sciences*, 4(12):265 - 274.
- ALLRED KW.,2019 -Identification and taxonomy of Tamarix (Tamaricaceae) in New Mexico. *World J Environ Biosci.* 8,(1): 25-29.
- ARMBRUSTER.C.E.,MOBLEY.H.T.,PEARSON.M.M.,2018-Pathogenesis of Proteus mirabilis Infection.*Ecosalplus*,8:173.
- BAHRAMSOLTANI.R.,KALKHORANI.M.,ABBASZAIDI.S.M.,FARZELAI M. H.,RAHIMI .R., 2019-The genus Tamarix: Traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology.*,19 :378-434.
- BARS W. (1995). Flavonoids and Polyphenols : Chemistry and Biology. In:Handbooks on antioxydants. Cadenas E., L. Packer& M. Dekker, Inc.
- BATTANDIR.M.A., 1907-revision des Tamarix algeriens et description de deux especes nouvelles.*La societe.*,54 :252-257.
- BAUM B. R., 1978-*The genus tamarix*.the academy of sciences and humanities.209P
- BECTION.,DICKINSON.,SHANNON.,2005-Standard de turbidité préparé N0.5. shannon industrial estate. Ireland.3p.
- BEN AMMAR M., 2019-*Contribution à la connaissance du genre Tamarix dans la région de Ouargla*.Mém.Master en écologie végétale et environnement.Fac.Sci Natu.Vie Univ. KASDI MERBAH ,OUARGLA,92p.
- BEN HAJ SGHAIER D.,2017-*Utilisation des critères physiologiques et biochimiques pour l'évaluation de la tolérance au stress salin et métallique chez Arthrocnemum indicum et Tamarix gallica*.Thèse de Doctorat, Univ. de Carthage,Tunisia,200P.
- BENCHAACHOUA.A.,2019 - *Caractérisation et Valorisation d'une plante de la famille des astéracées de la région de Sidi Bel Abbès : Évaluation des substances bioactives de Silybum marianum*.Thèse de Doctorat,univ. DJILLALI LIABÈS,Sidi Bel Abbès,201p.
- BENOIT B.,2021-*Tamarix gallica*.(version 8.0),Tela botanica.
- BENZOHRA.E.I.,MEGATELI.M.,BELAIDI.H.,TOUMI-BENALI.F.,2019-Activité antifongique de l'extrait méthanolique de R'tem (Retama raetam) sur la croissance mycélienne et la sporulation de Fusarium oxysporum f. sp. albedinis, agent de Bayoud du Palmier dattier. *Journal Algérien des Régions Arides (JARA)*.13(2) :1-11.
- BERLI.F., FANZONE.J., PICCOLI.P.,2011- Solar UV-B and ABA are involved in phenol metabolism of Vitis vinifera L. increasing biosynthesis of berry skin polyphenols.*Journal of agricultural and food chemistry*,59(9):4874-4884.

Références bibliographiques

- BETTAIBA.A., TALARMIN.H.,DROGUET.M.,MAGNED.C.,KSOURI.R.,2017- Tamarix gallica phenolics protect IEC-6 cells against H₂O₂ induced stress by restricting oxidative injuries and MAPKs signaling pathways. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 89 : 490–498.
- BIDET.P.,BONACORSI.S.,SOYSAL.N.,SMAIL.Y.,2016-Enterohemorrhagic escherichiacoli hybrid pathotype.*Emerging infections diseases*.22(9):1604-1612.
- BIQUAND.A.,2017-*Les Infections à Pseudomonas aeruginosa et leurs traitements en 2017*.Thèse de doctorat.Univ Rennes1.France.103p.
- BOULAABA.M.,TSOLMON.S.,KSOURI.R.,HAN.J.,KAWADA.K.,SMOUI.A.ABDELY.C.,ISOD A.H.,2013- Anticancer effect of Tamarix gallica extracts on human colon cancer cells involves Erk1/2 and p38 action on G2/M cell cycle arrest. *Cytotechnology*. 65: 927–936.
- BURGESS.C.,2007- *The Basics of Spectrophotometric Measurement*.pp1-19 cité par THOMAS.O.,BURGESS.C., Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry] UV-Visible Spectrophotometry of Water and Wastewater.Ed burgess.Amsterdam.307p.
- CHAIEB. I., 2008-Saponins as Insecticides: a Review. *Tunisian Journal of –Plant Protection*, 5(2) : 39-50.
- CHONG .J.,2009- Metabolism and roles of stilbenes in plant. *Plant Science*, 177(10):143–155.
- CLAVE.D.,ALBAREDE.S.,2015-Bactériologie.Centre toulousain pour le controle de qualité en biologie clinique.13 :15-25.
- DERGISI., 1977-Les tamaris de l’Iran,Turquie et Pakistan.*Orman Fakultesi istanbul université*,19(2) :45-67.
- DJOMBER.Z.,2018-*surveillance de la resistance aux antimicrobiens des souches de proteus isolees au laboratoire rodolphe merieux*.thèse de Doctoract,usttb.Mali.116p.
- DRABU.S,CHATURVEDI.S,SHARMA.M, 2012-Tamarix Gallica.*Asian journal of pharmaceutical and clinical research*,5(3):17-19.
- DYKES .L..2006- Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of cereal Sciences*, 44(15) :236 - 241.
- ELAMIN M.M., 2017-Phytochemical and Ethnobotanical Study about Tamarisk Gallica in a North Africa South-West of Algeria. *Global Journal of Medical Research: B*,17(1) :9-18.
- ESCHERICH.T.,1885-The Intestinal Bacteria of the Neonate and Breast-Fed Infant.*reviews of infections diseases*.11(2):352-6
- FAUCHERE J.L., AVRIL J.L.,2002- Bactériologie générale et médicale Ellipses Edition marketing, 237- 53p.
- FOSTER.T.J.,2002-*Staphylococcus aureus*.pp.839-888 cité par SUSSMAN.M.,*Molecular medical microbiology*.Ed. Academic press.,USA,1025p.
- FRANCOIS.D.,POLY.M.C.,MARTIN.C.,CATTOIR.V.,2016-Bactériologiemédicale.Ed. Elsevier Health Sciences,60p

Références bibliographiques

- GASKIN JF, SCHAAL.BA., 2003- Molecular phylogenetic investigation of u.s. invasive tamarix. *Syst bot* 28(1) :86–95.
- GHASEMZADEH.A.,GHASEMZADEH.N.,2011-Flavonoids and phenolic acids:Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*,5(31): 6698-6702.
- GRIMONT.P.A.D.,1987-Taxonomie des Escherichia.*medecine et maladies infectieuses*.15 :6-10.
- HAMDOUCHE.C.TABAI.A.,2016-*Proteus mirabilis au niveau CHU Constantine Caractérisation biochimique, microbiologique et la mutagénèse*.Thèse Magister,genetique mol.univ Frères Mentouri, Constantine.100p.
- HARBORNE.J.B.,SIMMONDS.N.W., 1964-in *Biochemistry of Phenolic Compounds*.Ed.Harborne, J. B.,London and New York.177p
- HERNANDEZ.I.,ALEGRE L.,VAN BREUSEGEM.F., MUNNE-BOSCH.,2008-How relevant are flavonoids as antioxidants in plants?.*Trends in Plant Science*,14(3):0-132.
- IZZA.S.,2019- *Activité antioxydante des feuilles de l'olivier Olea europea L. subsp europaea var. sylvestris*.Thèse de master. Alimebtairé.Univ Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.62p.
- JEANNOT.K.,GUILLARD.T.,2014-Pseudomonas aeruginosa. *Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique*.7 :37-43.
- JUTIVIBOONSUK A.,2005-Bioactive constituents from roots of Bursera tonkinensis. *Phytochemistry*, 66(18) : 2745 - 2751.
- KAECK, M., LU, J., STRANGE, R., IP, C., GANTHER, H., & THOMPSON, R.,1997- *Biochemistry*
- KANEDA N., J. P.,1990- New cytotoxic flavonoids from Muntingia ca/abura roots. *Planta*
- Kinsella J.E., E. F.,1993- Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in
- KONE.K.D.,2010-*Frequence d'isolement des klebsiella au laboratoire de bacteriologie cvd du chu gabriel toure de 2002 a 2007*.These de Doctorat.Univ.bamako.Mali.96p
- KSOURI.R., FALLEH.H., KAMEL .C.,KARRAY-BOURAOUI.N.,TRABELSI.N.,2008- Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs, and their biological activities.*Comptes rendus biologiques*.331:372-379.
- KSOURI.R.,FELLAH.H.,MEGDICHE.W.,TRABELSI.N.,MHAMDI.B.,CHAEIB.K.,BAKROUF. A.,MAGNE.C.,ABDELLY.C.,2009-Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte Tamarix gallica L. and related polyphenolic constituents.*science direct food and chemical toxicology*.47 :2083-2091.
- KUMAR.,2012-*Textbook of microbiology*.Ed. Jaypee Brothers Medical Publishers, India,754p.
- LAVAIN.C.,EVETTE.A.,PIEGAY.H.,LACHAT.B.,BRAHIC.P., 2011-Les tamaricaceae en génie végétal.*Sciences eaux et territoires*.,4 :9-18.
- MACHIEX.J.,2013- Les composés phénoliques des vegetaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle?.*Acta botanica gallica*, 143(6) : 473-479.

Références bibliographiques

- MANACH.C.,WILLIAMSON.G.,2005-Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1): 243-255.
- MARIS.S.,2016-*caracterisation de souches d'escherichia coli pathogenes urinaires provenant de guadeloupe : portrait de la diversite des facteurs de virulence presents*.Mém maitrees en science.Inst.recherche scient.,Univ .Québec,Canada,113p.
- MATTHEW.,S.TORRES.G.,2018-*Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals*.Ed Ottawa.Canada.,1429.
- MIRZA K.M., BADRUDDEEN J., KHALID M., IRFAN M., KHAN and AFREEN. U., 2016- Tamarix gallica: For traditional uses, phytochemical and pharmacological potentials. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*,8(1) :809-814.
- NASSOUR.R.,AYASH.A.,AL-TEMEEMI.K.,2020-Anthocyanin pigments: structure and biological importance.*Jornal of chemical and pharmaceutical sciences*.13(4):45-57
- NOUMAN.M.,RASUL.F.,KARIM.A.,UZMA. K, HAMAD.A.,2011- Plants as sources of Natural antiviral agents. *Asian Journal of Veterinary Advences*.6:1125-1152.
- NOURI.M.,ZIADI.C.F.,2015- *Etude bactériologique et résistance aux antibiotiques de Klebsiella pneumoniae*.Thèse Master en Génétique Moléculaire.Univ Frères Mentouri Constantine.69p.
- OKUDA.T.,1991- Chemistry and biological activity of tannins in medicinal plants.*Economic and Medicinal Plant Research*, 5: 130-165.
- PANEZAI.,M.RIND.A.N.,GULAM.M AZAM.S.,2014-Proteus vulgaris. *Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique*.5 :17-20.
- PANTEL.A.,2015-*Multirésistance des entérobactéries aux antibiotiques, Modulation de l'influx et de l'efflux membranaires chez Escherichia coli ST131*.Thèse de Doctorat, Univ.Montpellier,France,243p.
- PAUL.D.,1993- *effets de la variation du débit de la dose d'irradiation sur la radiorésistance de bactéries pathogenes dans les aliments*.Univ. Quebec.Canada.132p.
- PEREIRA E. (2005). Specific flavonoids induced nod gene expression and pre-activated nod genes of Rhizobium leguminosarum increased pea (Pisum sativum L.and lentil (Lens culinaris.

Références bibliographiques

- PEREIRA.E.,2005- Specific flavonoids induced nod gene expression and pre-
- PRIETO PM., PINEDA M. Aguilar Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry* 1999; 269: 337–341.
- RASHEED.A.N.,HUSSEIN.R.N.,2021- Staphylococcus aureus: An Overview of Discovery, Characteristics, Epidemiology, Virulence Factors and Antimicrobial Sensitivity. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*.8 :1160-1183.
- REBAKAH.M.,BACHMAN.A.,2018-Colonization, Infection, and the Accessory Genome of Klebsiella pneumoniae.*Frontiers in cellular and infection microbiology*.4(8):1-15.
- RIBÉREAU .,GAYON.P.,1972), *Plant Phenolics*. Ed. Heywood V.H. Oliver and Boyd, Edinburgh.254p.
- ROBERT.D.,2013- *Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive*.Thèse de Doctorat,Univ. Angers,France,126p.
- ROOS.G.,CONARD., 1998- Two triterpene esters from Terminalia macroptera bark. *Phytochemistry*, 48(7): 647 - 650.
- ROOS.G.,CONARD.,1998-Two triterpene esters from Terminalia macroptera bark. *Phytochemistry*, 48(7): 647 - 650.
- SAIDANA, D., MAHJOUR, M.A., BOUSSAADA, O., CHRIA, J., CHERAI. I., DAAMI M., MIGHRI Z., HELAL. A.N., 2007- Chemical composition and antimicrobial activity of volatile compounds of Tamarix boveana (Tamaricaceae).*Microbiol. Res.*,163: 445-455.
- SALACHA.R.,2010-*Les Patatines de Pseudomonas aeruginosa : Sécrétées ou non Sécrétées ? Telle est la question*.these de Doctorat,Univ. Mediterranee.394p
- SANTOS.D.R.,SHETTY.K.,CECCHINI.A.L.,MIGLIORANZA.L.H.,2012-Phenolic compounds and total antioxidant activity determination in rosemary and oregano extracts and its use in cheese spread. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*. 33(2) : 655-666.
- SCAFFER.N.J.,PEARSON.M.,2013-*Urinary Tract Infections: Molecular Pathogenesis and Clinical Management*.Ed. Matthew A. Mulvey,Washintong.DC,750p.
- SCALBERT, A., & WILLIAMSON, G.,2000- Dietary intake and bioavailability of polyphenols. J.
- SEDLACEK .H., HOFFMANN.D.,CZECH.J.,KOLAR. C.,SEEMANN.G.,GUSSOW .D.,BOSSLET. K.,1991-The change in research for the therapy of tumors. *Chimia*,45: 311-316.
- SHAHIDI. F.,NACZK.M.,1995- Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects, and Application.the American journal of plant sciences, 5(18): 431-445.
- SHAMAN.L., 1994-Plant antimutagens: a review and strategy for the identification of therapeutically useful agents.*Economic and Medicinal Plant Research*.6: 235-297.

Références bibliographiques

- SUN.R.,SUN. X.F.,WANG.W.,ZHU.X.Y.,2002-Ester and ether linkages between hydroxycinnamic acids and lignins from wheat, rice, rye, and barley straws, maize stems, and fast-growing poplar wood. *Industrial Crops and Products*.15: 179-188.
- SWAIN.T., BATE-SMITH.E.,1962-Flavonoid compounds.*Comparative Biochemistry*. 3: 755-809.
- SWAIN.T.,BATE-SMITH.E.,1962- Flavonoid compounds, in: Comparative Biochemistry.*Academic Press* NY, 3: 755-809.
- VERMERRIS .W.,NICHOLSON.R.,2008-Phenolic compound biochemistry. *Springer, Science+Business Media BV*.5: 63-149.
- XIAO.LCARRILLO.J.,SIEMANN.E.,DING.J.,2019- Herbivore-specific induction of indirect and direct defensive responses in leaves and roots. *AoB Plants*.11(1) : 01-12.
- ZAAFOURI, M.S., CHAÏEB, M., 1999 -Arbres et arbustes de la Tunisie méridionale menacés de disparition, *Acta Bot. Gal.*, 146 : 361-373.
- ZAFAR.U.,KAMRAN.M.,TNAWAZI.I.,HUSSAIN.A.,MENGAL.S,2019-Proteus mirabilis as a pathogenic organism. *International Journal of Biosciences*,14 (3) :443-450

Les annexes

Les annexes :

Annexe 1:

Appareillage	Agitateur magnétique, Balance, bec bunsen, Incubateur, Moulin électrique, Papier filtre, Rotavapeur, Spectrophotométrie, Spatule, Tamis, Vortex.
. Les produits consommables :	<ul style="list-style-type: none">- Acide sulfurique H₂SO₄- Carbonate de sodium NaCO₃- 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle DPPH- Acétone- Acide chlorhydrique HCl- Ammoniaque Nh₄OH- Chloroforme- Chlorure d'aluminium AlCl₃- Chlorure de baryum BaCl₂- Chlorure ferrique FeCl₃- Disques des antibiotiques- DMSO- Eau distille- L'hydroxyde de sodium NaOH- Magnésium Mg²⁺- Méthanol- Nitrite de sodium NaNO₂
Verrerie :	<ul style="list-style-type: none">- Pipette pasteur, Ballon, Bécher, Boîte pétri, Cristallisoir en verre, Cuvette, écouvillon, Entonnoir, Erlenmeyer, flacons, tube à essai, micropipette.

Annexe N° 02

Composition des milieux de cultures a préparé (Pour 1l d'eau distillée).

Muller-Hinton

Infusion de viande de bœuf déshydraté	3g
Hydrolysate de caséine	17,5g
Amidon 1,5g Agar.....	10g

Les annexes

Gélose nutritive

Extrait de viande.....	01g.
Extrait de levure.....	02g.
Peptone.....	05g.
Chlorure de sodium.....	05g.
Agar.....	15g.
pH = 7,4	

Gélose Mac-Conkey (pH 7.4)

Peptone	20g
Lactose	10g
Sels biliaire.....	0.072g
Chlorure de sodium.....	05g
Agar.....	12g

McFarland 0.5

HCL 1%	9.95ml
BaCl ₂ 1%	0.05ml

Annexe N° 3 : Tableaux lecture humaine.

Table de lecture 1* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Entérobactéries*.

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8	La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline
Amoxicilline +Ac. clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4	Les breakpoints des céphalosporines et de l'aztréonam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises : céfazoline (2g toutes les 8h), céfoxitine (2g toutes les 6h), céfotaxime (1g toutes les 8h).
Céfazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R, I ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesurés.
Céfalotine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière. (voir chapitre recherches complémentaires).
Céfoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	Pour prédire les résultats des céphalosporines orales quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non compliquées du tractus urinaire, le test de la céfazoline est préféré à celui de la céfalotine.
Céfazoline (Infections non compliquées du tractus urinaire)	30µg	≤ 14	----	≥ 15	≥ 32	----	≤ 16	Les résultats de la céfazoline permettent de prédire les résultats pour les céphalosporines orales : céfclor, céfdinir, céfpodoxime, céfprozil, céfuroxime axétile, céphalexine et loracarbef quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non compliquées du tractus urinaire dues à <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> et <i>P. mirabilis</i> . Céfpodoxime, céfdinir et céfuroxime axétile peuvent être testés individuellement car certaines souches peuvent être sensibles à ces antibiotiques alors qu'elles sont résistantes à la céfazoline.
Céftazidime	30µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1g toutes les 8h.
Aztréonam	30µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1g toutes les 8h.
Imipénème	10µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	Les breakpoints des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes : Imipénème : 500 mg toutes les 6h ou 1g toutes les 8h, Ertapénème : 1g toutes les 24h.
Ertapénème	10µg	≤ 18	19 – 21	≥ 22	≥ 2	1	≤ 0,5	La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques (voir chapitre recherches complémentaires).
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	---	≤ 16	La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est détectée chez les salmonelles isolées d'infections extra-intestinales en testant l'acide nalidixique à l'antibiogramme.
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	Valable pour entérobactéries autres que <i>Salmonella</i> Typhi et <i>Salmonella</i> spp. extra-intestinales.
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Ne pas reporter en routine pour les souches isolées d'ITU sauf pour les salmonelles. Valable pour <i>S. Typhi</i> et <i>Salmonella</i> spp. extra-intestinales.
Colistine**	CMI	-----	-----	-----	>2	-----	≤2	
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32	
Fosfomicine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64	Indiqué uniquement pour les souches d'E.coli isolées d'infections urinaires. Le disque de 200µg contient 50µg de glucose-6-phosphate. La CMI est déterminée par la technique de dilution en gélose supplémentée de 25µg/ml de glucose 6-phosphate.
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1.25/ 23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38	

* Tableau extrait du Document M100 – S24. Vol. 34, n°1, 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement.

** Extraits des recommandations 2014 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Les annexes

Table de lecture 2* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarilline	75 µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128	32 - 64	≤ 16	Les valeurs critiques pour la pipéracilline et la ticarilline (avec ou sans ac clavulanique), sont basées sur une posologie d'au moins 3g toutes les 6 heures.
Ticarilline + ac. clavulanique	75/10µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128/2	32/2 – 64/2	≤ 16/2	Détecter une BLSE en plaçant le disque de TCC entre le disque de CAZ et le disque d'ATM (voir chapitre tests complémentaires).
Pipéracilline	100 µg	≤ 14	15 - 20	≥ 21	≥ 128	32 - 64	≤ 16	L'application des breakpoints pour les céphalosporines dépend du respect de posologies précises.
Céftazidime	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Céftazidime et Aztréonom : 1 g toutes les 6h ou 2g toutes les 8h. Il est recommandé d'informer les infectiologues, pharmaciens, comité des antibiotiques et CLIN de l'hôpital, de ces nouveaux critères d'interprétation. Consulter le clinicien, en particulier pour les patients spécifiques.
Aztréonom	30 µg	≤ 15	16 – 21	≥ 22	≥ 32	16	≤ 8	
Impipénème	10 µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 8	4	≤ 2	En cas de diamètre R ou I, faire une détection de carbapénémases (voir recherches complémentaires). Valeurs critiques basées sur une posologie de 1g toutes les 8 heures ou 500mg toutes les 6 heures.
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Nétilmicine	30 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 32	16	≤ 8	
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 - 20	≥21	≥4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5µg	≤ 13	14 - 16	≥17	≥8	4	≤ 2	
Fosfomycine**	---	---	----	---	---	----	---	Des observations cliniques suggèrent que les infections dues à des souches pour lesquelles la CMI de la fosfomycine est ≤ 128 mg/L (ECOFF) (Epidemiological cut-off value) pourraient être traitées avec de la fosfomycine.
Colistine	10µg	≤ 10	----	≥11	≥8	4	≤ 2	

Table de lecture 4* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus spp.*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline	10 UI	≤ 28	---	≥29	≥0,25	----	≤ 0,12	Le test de la β-lactamase confirme les cas douteux (voir « Tests complémentaires »). Interprétation valable pour toutes les pénicillines inactivées par les β-lactamases (ampicilline, ticarilline, pipéracilline...).
Oxacilline (<i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i>)	----	----	----	----	≥4	----	≤ 2	Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de <i>S.aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative.
Céfoxitine (<i>S.aureus</i>)	30 µg	≤ 21	---	≥22	≥8	----	≤ 4	La résistance à la céfoxitine signifie la résistance à toute la famille des β-lactamines.
Oxacilline (S.C.N. sauf <i>S.lugdunensis</i>)	----	----	---	----	≥0,5	----	≤ 0,25	Le disque d'oxacilline n'est pas fiable. Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de <i>S.aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative.
Céfoxitine (S.C.N. sauf <i>S.lugdunensis</i>)	30 µg	≤ 24	---	≥25	---	----	---	
Gentamicine	10 µg	< 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosides sauf à la clindamycine. **
Kanamycine	30 µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 64	32	≤ 16	La détermination de la résistance à l'amikacine est mieux détectée avec la kanamycine. **
Amikacine	30 µg	< 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Erythromycine	15 µg	≤ 13	14 – 22	≥ 23	≥ 8	1-4	≤ 0,5	Détecter la résistance inducible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque de clindamycine. En présence d'une image d'antagonisme, répondre « Résistance à érythromycine et clindamycine ».
Clindamycine	2µg	≤ 14	15 – 20	≥ 21	≥ 4	1-2	≤ 0,5	
Vancomycine (<i>S. aureus</i>)		---	---	----	≥16	4 - 8	≤ 2	Le disque de vancomycine ne permet pas de différencier les souches vanco « S » et « I » de <i>Staphylococcus aureus</i> , ni de différencier les souches vanco « S », « I » et « R » de S.C.N., car les diamètres d'inhibition sont similaires. La détermination de la CMI de vancomycine est obligatoire.
Vancomycine (SCN)		---	---	---	≥32	8 - 16	≤ 4	
Teicoplanine	30 µg	≤ 10	11 – 13	≥ 14	≥ 32	16	≤ 8	
Ofloxacine	5µg	< 14	15 – 17	> 18	> 4	2	< 1	
Ciprofloxacine	5µg	< 15	16 – 20	> 21	> 4	2	< 1	
Lévofloxacine	5µg	< 15	16 – 20	> 21	> 4	2	< 1	
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	< 10	11 – 15	> 16	> 4/76	----	< 2/38	
Rifampicine	5µg	< 16	17 – 19	> 20	> 4	2	< 1	
Tétracycline	30µg	< 14	15 – 18	> 19	> 16	8	< 4	Les souches sensibles à la tétracycline, sont sensibles à la doxycycline et à la minocycline.
Chloramphénicol	30µg	< 12	13 – 17	> 18	> 32	16	< 8	
Quinupristine-dalphopriline	15µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1	A reporter pour les souches de <i>S. aureus</i> méthicillino-sensibles. Interprétation valable pour la pristinamycine.
Acide fusidique**	10 µg	< 24	----	≥ 24	> 1		≤ 1	
Fosfomycine IV**		---	----	---	> 32		≤ 32	

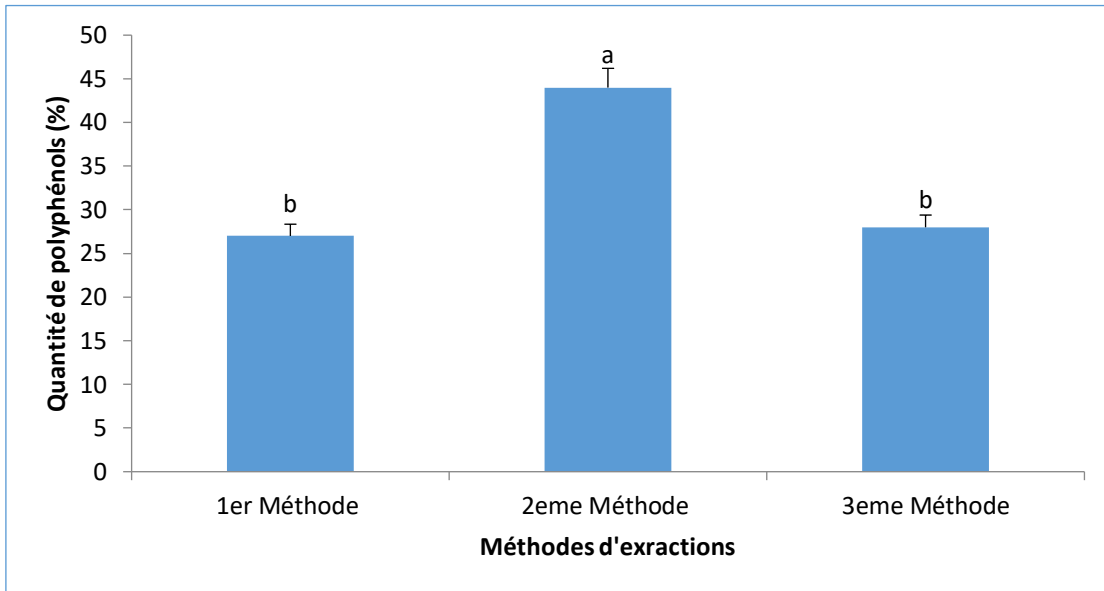
* Tableau extrait du Document M100 – S24. Vol. 34, n°1. 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement.

** Extraits des recommandations 2014 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

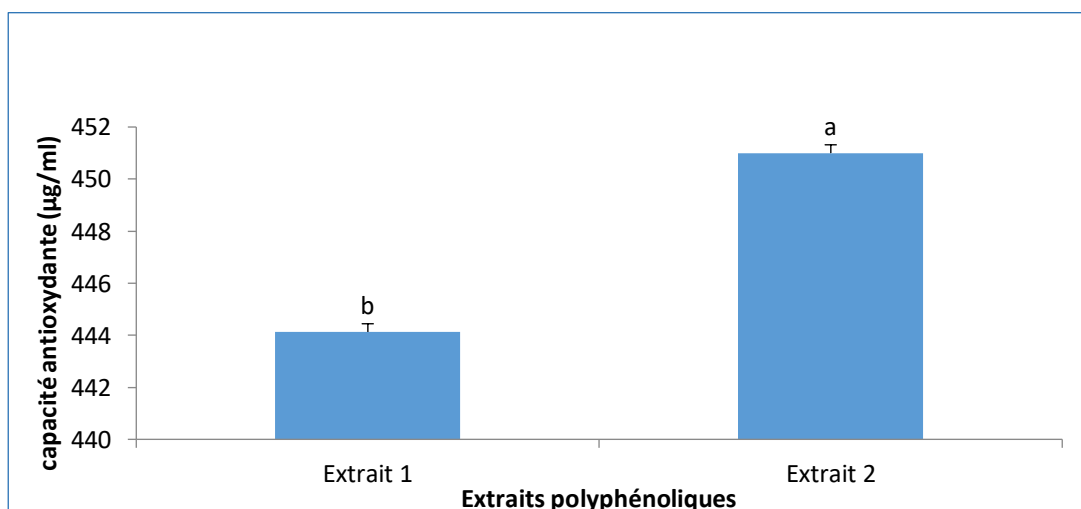
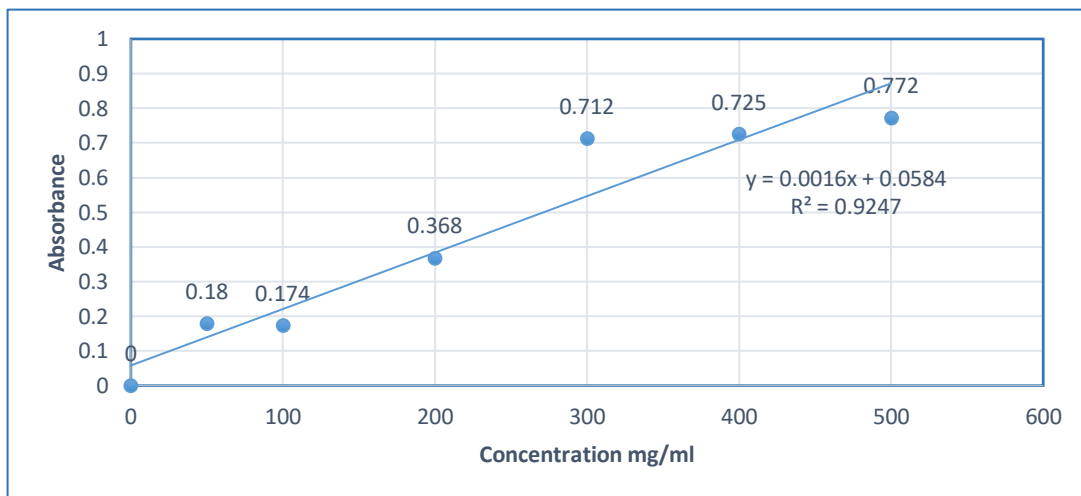
Les annexes

Annexe 4 :

Rendement d'extraction *Tamarix gallica* :

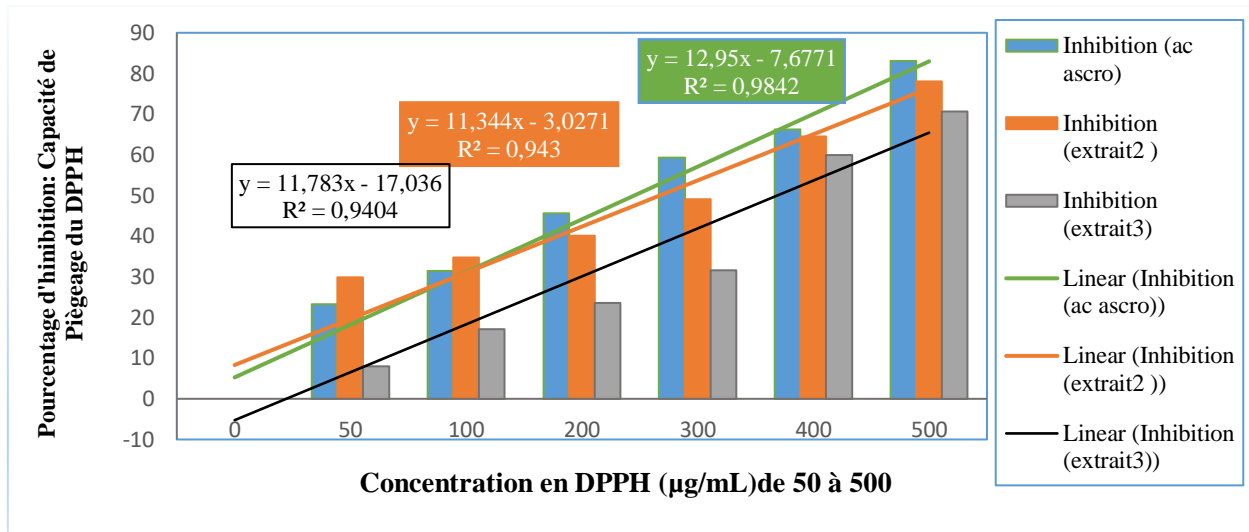


Courbe étalonnage de l'acide gallique.

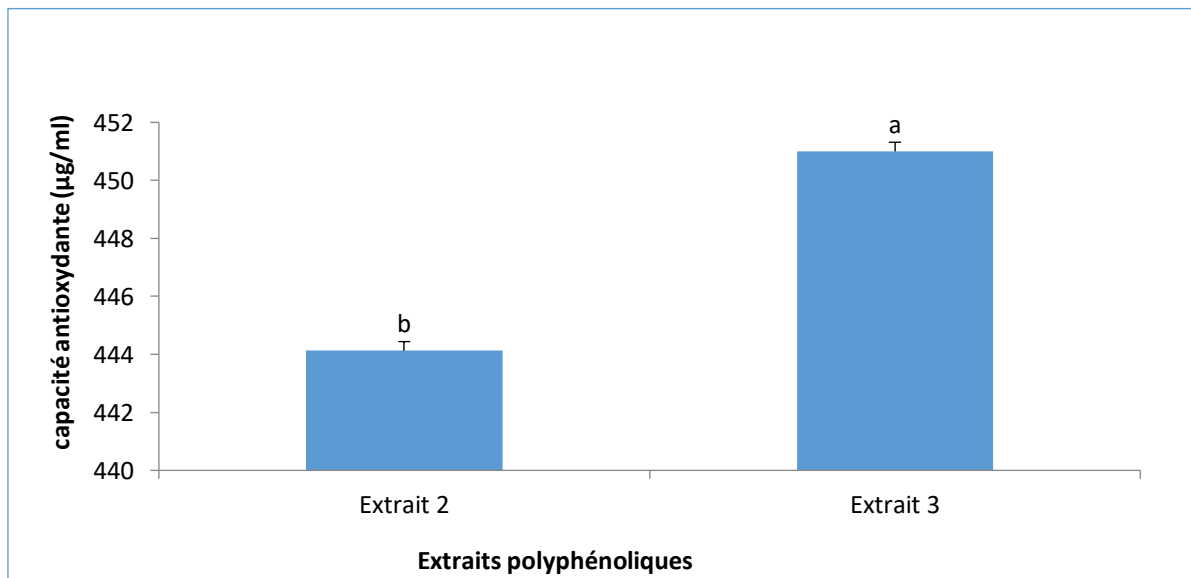
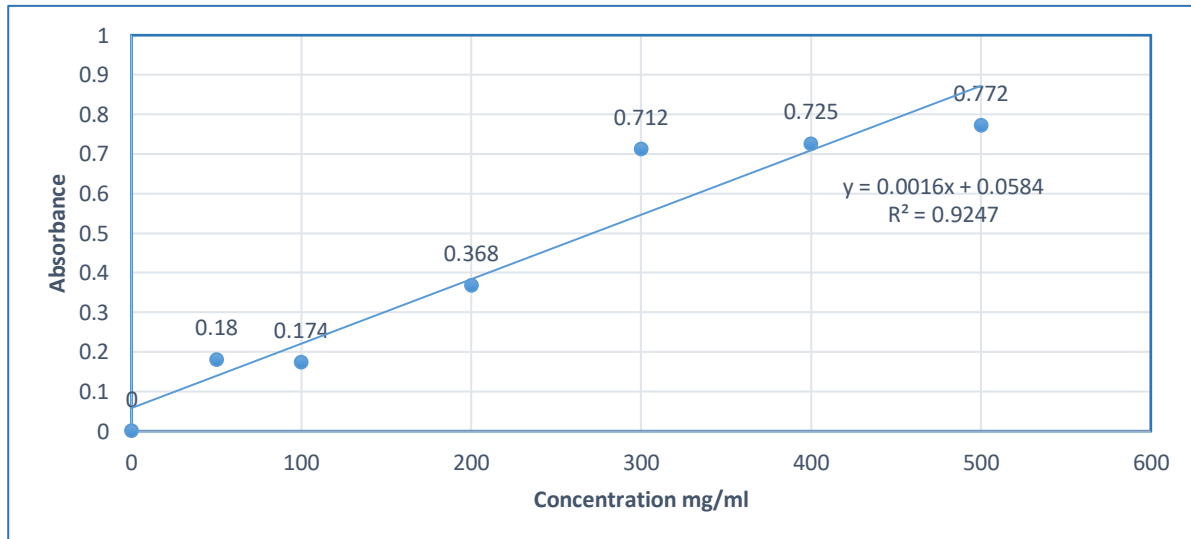


Les annexes

- Capacité de piégeage du radical DPPH

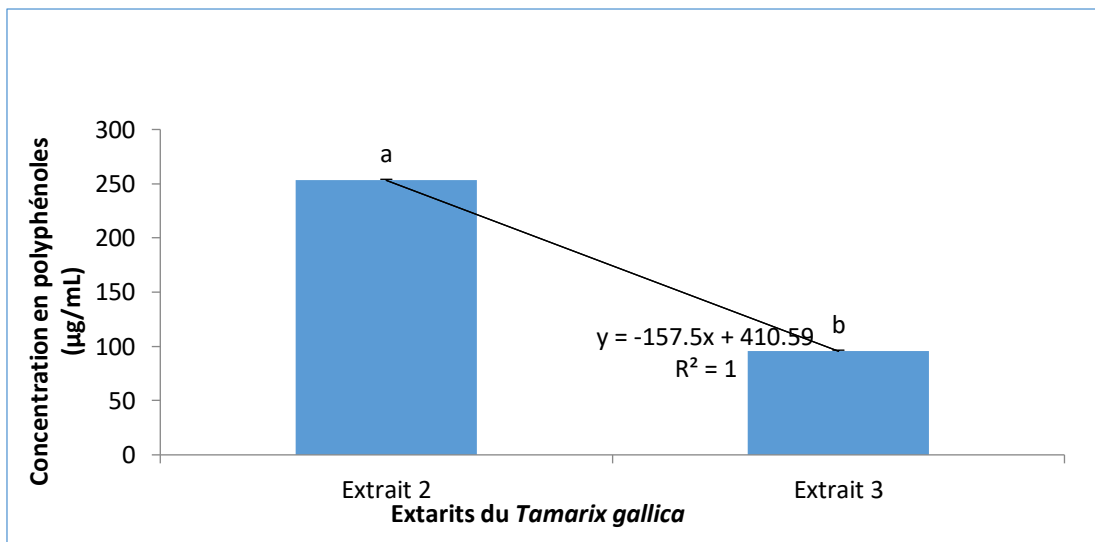
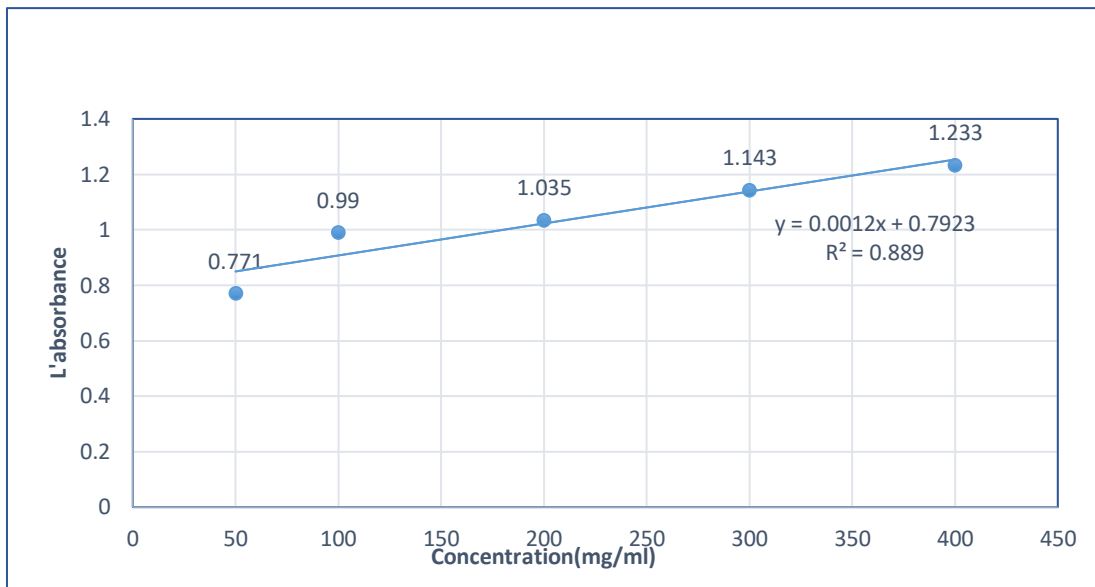


- Capacité antioxydante totale

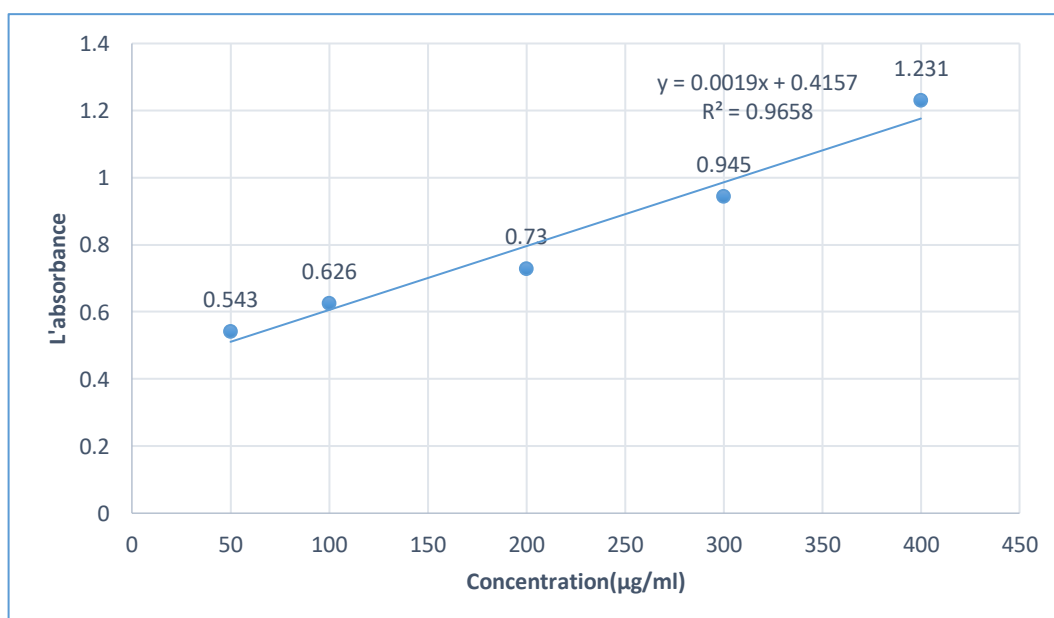


Les annexes

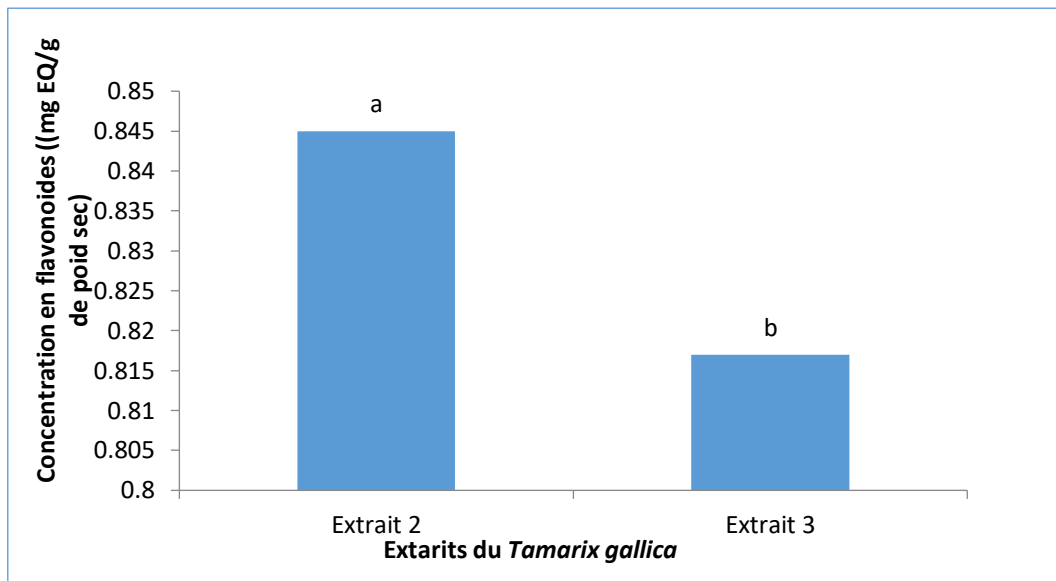
- a. Courbe étalonnage d'acide gallique. b. concentration polyphénols dans des extraits testés



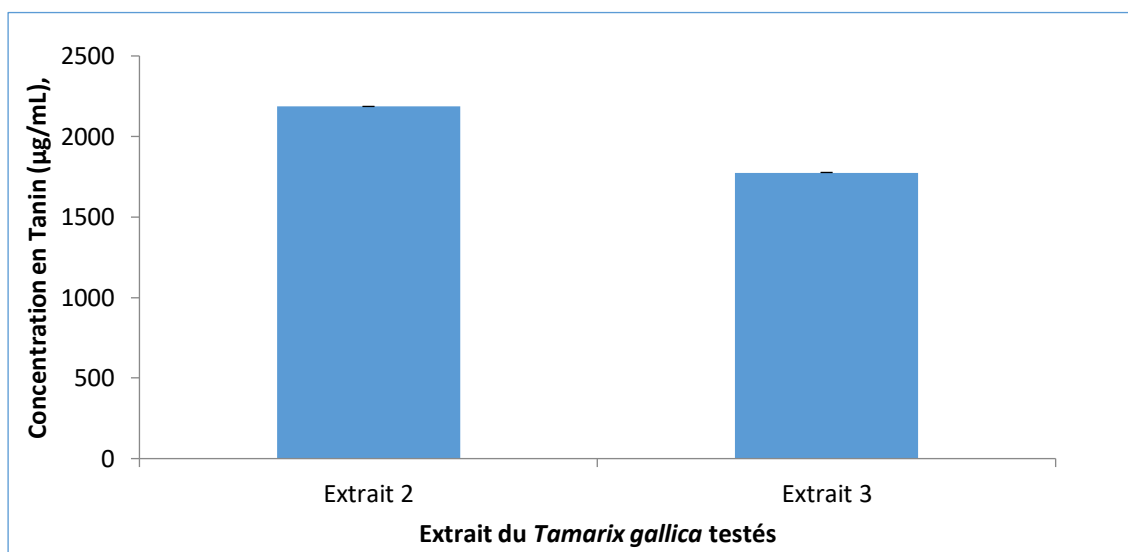
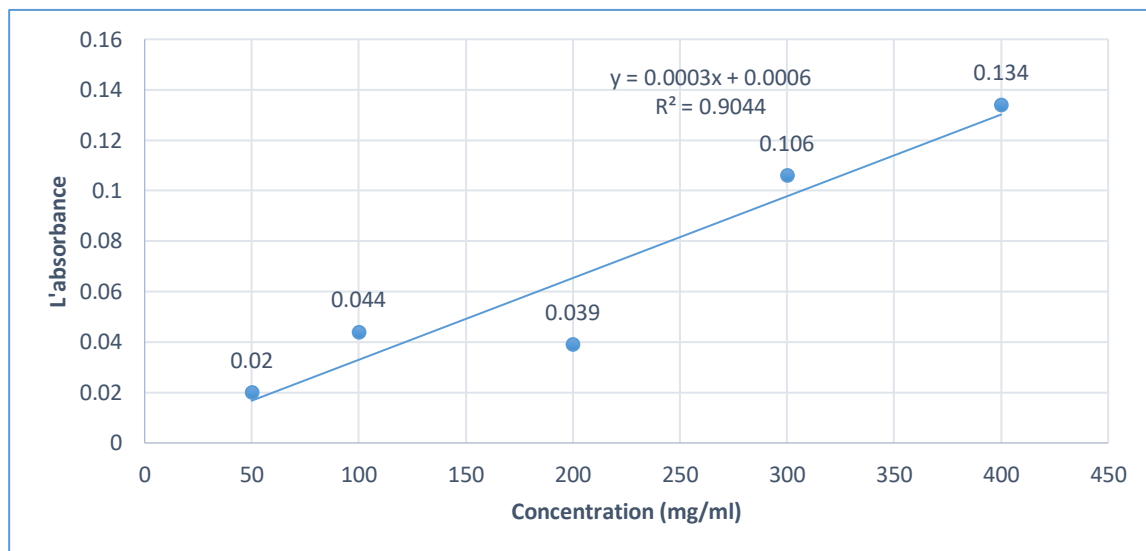
- a. Courbe étalonnage de Quercétine. B. dose des flavonoïdes dans les extraits du *T. gallica* testés



Les annexes



- a. Courbe étalonnage de Quercétine. b. concentration en Tanin des deux extraits testés



Les annexes

Annexe 5 : les équations

Rendement d'extraction

$$RT (\%) = (P1 - P2/P3) \times 100 \text{ (HADDOUCHI et al.2016)}$$

P1: poids du ballon après évaporation

P2: poids du ballon avant évaporation (vide)

P3: poids de la matière végétale de départ ;

Capacité de piégeage du radical DPPH

$$\text{DPPH* effet de récupération (\%)} = [(A_0 - A_1/A_0) * 100]$$

Où A_0 est l'absorbance de la commande à 30 min, et A_1 est l'absorbance de l'échantillon à 30 min. Tous les échantillons ont été analysés en trois exemplaires.

RESUMES

Résumes :

Tamarix gallica est une espèce halophyte possédant des propriétés hépato-toniques et stimulantes, comme elle était traditionnellement utilisée dans le traitement de divers troubles hépatiques.

La présente étude est consacrée à évaluation des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des extraits des parties aériennes du *Tamarix gallica*. Les extraits de *Tamarix gallica* ont montré une activité antibactérienne moins importante en comparaison avec les antibiotiques contre six souches bactériennes isolée de laboratoire de la microbiologie de l'hôpital Mahad Abdelkader au Djelfa-Algérie, les extraits testés ont révélés des zones d'inhibition limité et nulle de 0 à 9 mm de diamètre. Dans les conditions actuelles d'études nos extraits n'ont pas enregistré d'efficacité antimicrobienne significative.

Le potentiel antioxydante des échantillons a était évalué en utilisant trois techniques complémentaires, teste quantitative des composent des polyphénols, les flavonoïdes, et les tanins condensés, l'inhibition du radical libre DPPH. Le test antioxydante a montré que la macération dans solution méthanoliques est plus actives que dans une solution mélange d'acétone, chloroforme, et méthanol. L'extrait méthanolique de *T. gallica* a montré dans le test du DPPH une IC₅₀ de 280.87 µg/ml moins que deuxième méthode (365.64 µg/ml) et est plus élevée qu'avec l'acide ascorbique (261.34 µg/ml). Cette fraction était capable d'inhiber 50% d'oxydation des molécules biologiques ou biochimiques. Par conséquent, les extraits méthanoliques présentaient la teneur totale en phénols la plus élevée (253.08 mg de GAE/g de poids sec). Les flavonoïdes et les tanins sont présents à une quantité très importante 225.947 (mg EQ /g Ps), 2185.6 (mg EQ/g PS). Nos extraits suggèrent que *T. gallica* peut être considéré comme une source intéressante d'antioxydante pour les industries thérapeutiques ou nutraceutiques et pour la fabrication d'aliments.

Mots clé : *Tamarix gallica*, Polyphénols, Extraction, Activité antioxydantes, Activité antimicrobiennes.

Abstract:

Tamarix gallica is a halophyte species with hepatotoxic and stimulating properties, as it was traditionally used in the treatment of various liver disorders.

The present study is devoted to evaluation of the antioxidant and antimicrobial properties of extracts from the aerial parts of *Tamarix gallica*. The extracts of *Tamarix gallica* showed a less antibacterial activity in comparison with antibiotics against six isolated bacterial strains isolated from microbiology laboratory of the Mahad Abdelkader Hospital in Djelfa-Algeria, the extracts tested revealed zones of limited inhibition and zero 0 to 9 mm diameter. Under current condition of studies, our extracts have not shown significant antimicrobial efficacy.

The antioxidant potential of the samples was evaluated using three complementary techniques, quantitative testing of polyphenols compounds, flavonoids, and condensed tannins, inhibition of the free radical DPPH. The antioxidant test showed that maceration in methanol solution is more active than in a solution mixture of acetone, chloroform, and methanol. The methanolic extract of *T. gallica* showed in the DPPH test an IC₅₀ of 280.87 µg/ml less than the second method (365.64 µg/ml) and is higher than with ascorbic acid (261.34 µg/ml). This fraction was able to inhibit 50% oxidation of biological or biochemical molecules. As a result, methanol extracts had the highest total phenol content (253.08 mg GAE/g dry weight). Flavonoids and tannins are present at a very large amount 225.947 (mg EQ/g Ps), 2185.6 (mg EQ/g PS). Our extracts suggest that *T. gallica* may be considered an interesting source of antioxidants for the therapeutic or nutraceutical industries and for food manufacturing.

Keywords: *Tamarix gallica*, Polyphenols, Extraction, Antioxidant activity, Antimicrobial activity.

ملخص:

Tamarix gallica هي نوع من النباتات الملحية التي تمتلك خصائص منشطة و محفزة للكبد، كما كانت تستخدم كعلاج تقليدي لاضطرابات الكبد المختلفة.

تم تكريس هذه الدراسة لتقييم الخصائص المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات من الأجزاء الهوائية من *Tamarix gallica*. أظهرت مستخلصات *Tamarix gallica* نشاطا مضادا للبكتيريا أقل أهمية مقارنة بالمضادات الحيوية ضد ستة سلالات بكتيرية معزولة من مختبر علم الأحياء الدقيقة بمستشفى محاد عبد القادر في الجلفة-الجزائر، حيث كشفت المستخلصات التي تم اختبارها عن مناطق تثبيط محدودة قطرها لا يزيد عن 0 إلى 9 مم. في ظل الظروف الحالية المستنتجة يمكن القول ان مستخلصاتنا من هذه النبتة لم تسجل فعالية كبيرة ضد للميكروبات.

تم تقييم إمكانية أنها قد تكون مصدر للمضادات للأكسدة للعينات باستخدام ثلاث تقنيات تكميلية ، الاختبار الكمي لمكونات البوليفينول ، الفلافونويد ، والعفص المكثف ، تثبيط الجذور الحرة DPPH. أظهر اختبار المضاد للأكسدة أن النقع في محلول الميثانوليك أكثر نشاطا من خليط محلول الأسيتون والكلوروفورم والميثانول. أظهر مستخلص الميثانوليك من *T. gallica* في اختبار DPPH التركيز الذي يثبط 50% قيمة $280.87 \mu\text{g} / \text{ml}$ من أقل من الطريقة الثانية ($365.64 \mu\text{g} / \text{ml}$) وأعلى من حمض الاسكوربيك ($261.34 \mu\text{g} / \text{ml}$). كان هذا الجزء قادرا على تثبيط وأكسدة 50% من الجزيئات البيولوجية أو البيوكيميائية. ونتيجة لذلك ، كان مستخلص الميثانوليك أعلى محتوى في الفينول الكلي (253.08 ملغ من غاي/غرام من الوزن الجاف). الفلافونويد والعفص موجودة بكمية كبيرة جدا (225.947 ملغ مكافئ / ز وزن جاف) ، 2185.6 (ملغ مكافئ/ز الوزن الجاف). تشير مستخلصاتنا إلى أنه يمكن اعتبار *Tamarix gallica* مصدرا مثيرا للاهتمام لمضادات الأكسدة للصناعات العلاجية أو الغذائية ولتصنيع الأغذية.

الكلمات المفتاحية: *Tamarix gallica* ، بوليفينول ، استخلاص ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للميكروبات.