

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET BOPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MNSTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة امحمد بوقرة بومرداس
UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA –BOUMERDES

Faculté des sciences
Département de Biologie



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie
Spécialité : Biologie des Populations et des Organismes

THÈME

**Evaluation de l'activité antibactérienne et le
pouvoir cicatrisant d'une Asclepiadaceae.**

Présenté par :

M^{elle}REBOUH Malika et M^{elle}BELKHIRAT Soumia

Soutenu Devant le jury composé de:

M ^{me} FOUZIA S.	M.A.B (U.M.B.B)	Promotrice
M ^{me} REMANA S.	M.A.B (U.M.B.B)	Présidente
M ^{me} ROUANE A.	M.A.B (U.M.B.B)	Examinatrice
M ^{me} SAHAR D.	Doctorante (U.S.T.H.B)	Examinatrice

Année Universitaire 2015/2016

Remerciement

Avant tout, nos remerciements infinis sont adressés à « Dieu le Tout Puissant de nous avoir donné le courage et la santé pour achever ce travail.

*Tout d'abord nous tenons surtout à adresser nos plus vifs remerciements à notre promotrice **M^{me} Faudia Soumaya** Maître assistant à l'université de Boumerdes, qui nous ont fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux.*

*Nous remercions également **M^{me} Remana**, Maitre assistant à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université de Boumerdes d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nous remercions également **M^{me} Rouane** et **M^{me} Sahar** d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

Nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

*Nous remercions vifs à **M^e Ben masbah** et tous les techniciens de l'animalerie de la faculté de sciences et l'équipe de recherche du laboratoire des maladies du palmier dattier et biochimie des plantes désertiques ainsi que les techniciens et les responsable de l'université des Sciences et de la Technologie et les responsables d'animalerie **Houari Boumedienne (U.S.T.H.B)** de Bab Ezzouar, faculté des sciences biologiques.*

*Ainsi nous remercions toute l'équipe d'enseignants de **BPO** qui nous ont suivi toutes les trois dernières années de formation.*

Un grand merci à tous



Dédicace

Je remercie dieu tout puissant qui ma permet d'arriver à ce but.

Je dédié ce modeste travail à deux personnes les plus chers à mon cœur : mon père et ma mère qui ont sacrifié de leur existante pour bâtir la mienne, Qui par leur précieux conseils et contient ont sa me guider ver la voix de la réussite.

A mes adorables frères: Bader eddine , Islem, Bouazza, Mohamed et leurs marie :Soumia

A mes chères sœursHamida ,Zouzou ,Hayat,Sihemet leurs marieset leurs enfants.

et ma très chère sœur Dyna

A toue ma famille

Je le dédie aussi spécialement à ma binôme : Malika

A mes chère amies : Siham, Soumia ,kahina,karima, fadila, pous leur aidées et encouragement pendant cette Période de stage.

A tous mes amis ainsi qu'à tous les étudiants de la promotion BPO 2016 surtout Karima,



Soumia



Dédicace

Je remercie dieu tout puissant qui ma permet d'arriver à ce but.

Je dédié ce modeste travail à deux personnes les plus chers à mon cœur : mon père et ma mère qui ont sacrifié de leur existante pour bâtir la mienne, Qui par leur précieux conseils et content ont sa me guider ver la voix de la réussite.

A mes adorables frères: Said ,Raouf ,Marouan et Ahmad.

A ma très chère sœur : Nassima et sonmariet leurs enfants :

Khald, Belkhis et Soulaf.

A toue ma famille

Surtout Maroua

Je le dédie aussi spécialement à ma binôme : Soumia

A mes chère amies :fadila ,karima , kahina , siham ,Nadjia pour leurs aidée et encouragements pendant cette Période de stage.

A tous mes amis ainsi qu'à tous les étudiants de la promotion BPO 2016



Malika

Liste d'abréviations**Liste des figures****Liste des tableaux****Introduction..... 1****Partie I: synthèse bibliographique****Chapitre I - Généralités sur *Pergularia tomentosa* L****I. Généralités sur l'espèce *Pergularia tomentosa* L..... 3**

a.Noms vernaculaires..... 3

b.Systématique..... 3

c.Description botanique..... 4

d.Répartition géographique..... 5

e.Usages traditionnels..... 5

f.Activités biologiques et thérapeutiques de *Pergularia tomentosa*..... 6j.Composition biochimique de *Pergularia tomentosa* L..... 8

j.1.Métabolites primaires..... 8

j.2.Métabolites secondaires..... 8

Chapitre II: Généralités sur l'activité antibactérienne

a. Généralités..... 15

b. Culture des bactéries..... 15

c. Principales substances antibactériennes..... 15

Chapitre III. Généralités sur Le cicatrisation

a. La cicatrisation 17

b.Définition de la peau..... 17

c. Définition d'une plaie..... 18

d. Etapes de la cicatrisation 18

e. Relation entre les métabolites secondaires des plantes et le pouvoir cicatrisant..... 18

Partie II : Etude expérimentale**Chapitre I : Matériels et méthodes**

a.Matériel..... 20

a.1.Matériel biologique 20

a.2. Matériel non biologique..... 22

b. Méthodes d'études..... 22

b. 1. Méthodes de récolte, séchage et broyage 23

b.2. Méthode d'extraction et dosage des flavonoïdes.....	23
b. 3. Etude des activités biologiques	25
b. 3. 1. Activité antibactérienne	25
b.3. 2. Activité cicatrisante	27
Chapitre II: Résultats et Discussion	
a.Analyses quantitatives des flavonoïdes.....	31
b.Evaluation de l'activité antibactérienne	32
c.Evaluation de l'activité cicatrisante.....	35
c.1.Etude statistique.....	38
Conclusion.....	41
Références bibliographiques.....	43
Glossaire	
Annexes	
Résumé	

Figure1 : <i>Pergularia tomentosa</i> L.....	4
Figure 2 : Les déférentes organes de plante <i>Pergularia tomentosa</i> L.....	5
Figure 3 : Schéma de la structure de la peau humaine	17
Figure 4 : La wilaya de Tamanrasset	20
Figure 5 : Photo de rat <i>Albino Wistar</i>	21
Figure 6 : schéma récapitulatif des différentes étapes du travail.....	22
Figure 7 : protocole simplifié de l'extraction de flavonoïde	24
Figure 8 : Préparation de l'inoculum.....	26
Figure 9 : Incubation.....	27
Figure 10 : Sédation des rats dans une cloche	28
Figure11 :Injection intra musculaire de kétamine	28
Figure12 : Le rasage du dos des rats	28
Figure13 : la réalisation de la plaie.....	29
Figure14 : La réalisation des calques.....	29
Figure15 : Séparation les deux phases de flavoniques.....	31
Figure16 : histogramme des teneurs absolues d'Aglycones flavoniques des différents organes de la plante <i>Pergularia tomentosa</i>	31
Fuguer17 : Activité de différent organe de <i>Pergularia tomentosa</i> sur <i>Klebsiella pneumoniae</i>	34
Fuguer18 : Activité de différent organe de <i>Pergularia tomentosa</i> sur <i>Escherichia coli</i>	34
Fuguer19 : Activité de différent organe de <i>Pergularia tomentosa</i> sur <i>Entérocoque sp</i>	34
Fuguer20 : Activité de différent organe de <i>Pergularia tomentosa</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i>	34
Fuguer 21 : Activité de différent organe de <i>Pergularia tomentosa</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35
Figure 22 : plaies dorsales des rats photographiés chaque 2 joursl'incision.....	37
Figure23 : Histogramme Evolution des surfaces des trois lots étudiés pendant 17 jours.....	38
Figure 24 : Courbes représentatives de la diminution des surfaces moyennes des plaies en fonction du temps.....	39

Tableau I: Utilisations traditionnelles du <i>Pergularia tomentosa</i> L.....	6
Tableau II: Composition en métabolites primaires des différentes parties de <i>Pergularia tomentosa</i>	8
Tableau III : composition en métabolites secondaires des différents organes de <i>Pergularia tomentosa</i>	9
Tableau IV : Différentes classes des flavonoïdes.....	11
Tableau V : les souches de bactéries testées.....	21
Tableau VI : diamètres des zones d'inhibition en mm de l'extrait des différents organes de la plante.....	32
Tableau VII : Evaluation des surfaces-moyennes des plaies traitée par MADECASSOL et la crème et témoin mesurées chaque deux jours.....	38

Introduction

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal recours de la médecine traditionnelle, malgré l'importance du développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre des maladies souvent mortelles. Environ 80% de la population mondiale profite des apports de la médecine traditionnelle à base des plantes reconnaissant ainsi les savoirs empiriques de nos ancêtres (EL Raffarin et Zaid, 2004).

Le Sahara Algérien est constitué de 500 espèces, dont on dénombre 162 espèces endémiques dans le Sahara seul et à la quelle s'ajoute une tradition séculaire de pharmacopée traditionnelle. Plusieurs espèces sont connues par leurs propriétés thérapeutiques remarquables (Ozenda, 1991; Maiza *et al.*, 1993; Chehma, 2006).

Il existe une multitude des produits cicatrisants dont l'efficacité est établie mais des nombreux chercheurs testent l'activité cicatrisante de nouveaux produits, le plus souvent choisis dans le patrimoine de la médecine traditionnelle (Bensegueni *et al.*, 2007).

Les molécules de synthèse chimique utilisées dans la vie courante ne répondent plus aux exigences des habitants de la planète qui cherchent des produits plus sains, plus efficaces et moins dangereux pour eux et leur environnement. Les antibiotiques, comme exemple, ont joué un rôle capital dans l'éradication de plusieurs maladies contagieuses graves au cours du 20^e siècle, mais la résistance bactérienne est devenue un sérieux problème, jusqu'au point où les antibiotiques de 3^eme génération sont devenus dans plusieurs cas inefficaces. C'est dans un communiqué publié le 30 Avril 2014 que l'OMS tire la sonnette d'alarme contre la résistance aux antibiotiques.

Ces dernières années, de profonds changements ont marqués les connaissances en microbiologie médicale, spécialement le nombre croissant de microorganismes impliqués dans les processus pathologiques et la résistance aux traitements appliqués. Il est donc nécessaire de trouver une alternative ; de nouveaux remèdes plus efficaces ayant moins d'effets secondaires que les antibiotiques et moins onéreux, comme les plantes médicinales et aromatiques (Eberlin. ,1997).

Face à ce constat, la présente étude recherche à mieux caractériser les potentialités de *Pergularia tomentosa* L. (*Asclepiadaceae*); une plante spontanée du Sahara Algérien reconnue par ses propriétés thérapeutiques et ce, en déterminant son niveau antibactérien et en testant son pouvoir cicatrisant.

Ce travail comporte les parties suivantes ;

- La première partie est consacré à une synthèse bibliographique scindée en trois chapitres ;

- Le premier chapitre est consacré à une mise en point bibliographique sur *Pergularia tomentosa* L.
- Le deuxième chapitre aborde l'activité antibactérienne
- Le troisième chapitre aborde l'activité cicatrisation.

- La deuxième partie est consacrée à une étude expérimentale sur l'activité antibactérienne et l'efficacité cicatrisante de *Pergularia tomentosa* L., le matériel et les méthodes utilisés ainsi que les résultats obtenus seront ainsi présentés et discutés, à la fin on termine par une conclusion générale.

I. Généralité sur *Pergularia tomentosa* L.

Pergularia tomentosa L. fait partie de la famille des asclépiade (Asclépiadaceae) qui comporte environ 200 genres et 2500 espèces, essentielles herbacées ou buissonnantes propres aux régions tempérées et subtropicales (François, 2008). Cette famille est connue par sa richesse en cardénolides, notamment les genres : *Asclépias*, *Pergularia*, *Gomphocarpus* (Goharet *al.*,2000).

I. 1. Noms vernaculaires

Pergularia vient du latin "Pergula" qui signifie «vigne» en raison de la capacité de la plante à s'accrocher.

Tomentosa signifie poilu: la plante est couverte de petits poils qui lui donnent sa couleur verdâtre.

Pergularia tomentosa L. Cette espèce est également connue sous une dénomination synonyme: *Daemiacordata*.et possède de nombreux noms folkloriques :

Arabe : En Algérie *Pergulariatomentosa* L.est connue sous le nom de tellakh(Boulos., 1995), en Egypte et en Arabie Saoudite, elle est connu sous le nom Ghalaka (Al-saidet *al.*,1988), et Ghoulga, demya, leben el hamir et Kalga (Chehma, 2006) , au Maroc elle est appelée el-halga (Bellakhdar.,1978).

Targui : tashkat, dellakal, tellakh.

Français : pergulaire.

Anglais : pergularia.

I. 2. Systématique

La classification de *Pergularia tomentosa*(figure 1) Selon (Amani et Barmo.,2010, est représentée comme suit :

- **Règne** : végétal
- **Embranchement** : Spermaphytes
- **Sous Embranchement**: Angiospermes
- **Classe** : Dicotylédones
- **Sous classe** : Rosidae
- **Ordre** : Gentianales
- **Famille** : Asclepiadaceae
- **Genre** : *Pergularia*
- **Espèce** : *Pergularia tomentosa* L. (Amani et Barmo.,2010),



Figure 1: *Pergularia tomentosa* L.

www.saharanature.com

I. 3. Description botanique

C'est une plante herbacée ou semi-ligneuse, arbrisseau vivace pouvant dépasser 1m de hauteur. Les jeunes rameaux volubiles s'enroulent fréquemment autour des plus anciens lui donnant un aspect touffu, contenant :

- Un latex : blanc, corrosif qui peut endommager la peau.
- La tige couverte de courts poils verdâtres, grimpante ou volubile, tomenteuse à l'état jeune;
- Les feuilles sont simples, opposées, pétiolées, ovales, orbiculaires, vert amande, cordées à la base et apicules. Elles sont tomenteuses sur les deux faces au stade jeune et glabres au stade adulte. Elles mesurent environ 5 cm de diamètre mais souvent plus petites.
- L'inflorescence : en grappes abondantes au bout de longs pédoncules.
- Les fruits, qui sont des follicules groupés par paire, sont fusiformes, divergents et couverts de rugosités portent de petites pointes. Ils sont pubescents et crochus à leur sommet. Ils mesurent 7 cm de long et s'ouvrent par une fente longitudinale par où s'échappent les graines.
- Les fleurs: bisexuées, régulières, parfumées, pentamères. Sépales et pétales plus ou moins soudés à la base. Corolle rotacée ou campanulacée, doublée à 5 pièces, en général d'origine staminale. Etamines(5) à anthères sessiles, en général adhérentes au stigmate, souvent déhiscentes en pollinies et mesure 8 mm de long.

- Les graines : ovoïdes, aplaties, de 7-9 mm environ 6 mm, bords pales, à poils courts denses, munies d'une touffe de poils à une extrémité, d'environ 3 cm de long (Schmelzer et Gurib-fakim, 2013).
- Période de végétation: Floraison en printemps (Chehma, 2006).



Les feuilles

les fleurs

Les fruits

Figure 2: Les différents organes de plante *Pergularia tomentosa* L.

www.saharanature.com

I. 4. Répartition géographique

Pergularia tomentosa est une plante vivace des pays secs. Elle pousse sur les sols généralement sableux et couvre de vastes régions allant du sud Algérien jusqu'en Afrique du Nord, en passant par la Corne de l'Afrique, et largement réparti dans le désert de l'Asie jusqu'aux déserts du sud et de l'est de l'Iran, à l'Afghanistan et au Pakistan, le Sinaï (Egypte), la Jordanie et la péninsule Arabique. *Pergularia tomentosa* pousse bien dans les déserts ou les précipitations ne dépassent souvent pas les 100 mm par an, dans le lit des oueds et sur les plateaux, sur des sols argileux à sablonneux, graveleux et pierreux. Il est présent depuis le niveau de la mer jusqu'à 1000 m d'altitude. Le long de la mer Rouge, on le trouve au sein des communautés de plantes qui dominent les plaines sablonneuses (Schmelzer et Gurib-fakim, 2013).

I. 5. Usages traditionnels

Elle possède un large spectre d'utilisations en médecine traditionnelle. Dans le tableau suivant sont résumées les principales enquêtes ethnobotaniques réalisées sur cette espèce :

Tableau I: Utilisations traditionnelles du *Pergularia tomentosa*

Régions	Partie utilisée	mode d'utilisation	Usages	Références
Sahara septentrional algérien	Feuilles et fleurs	Décoction	Angine, teigne.	Ould el Hadj, <i>et al.</i> , (2003).
Tassili N'aïjer	Racine	Usage interne	Les Frissons, bronchite, constipation.	Hammiche et maiza, (2006)
	Partie aérienne	Décoction et usage interne	Helminthiases Abortive.	
		Décoction et usage externe	Maladies de la peau dermatose et dépilatoire.	
Mauritanie	/	/	Morsures venimeuses, maux de dents.	Hmeyada, (2009).
Afrique du Nord	/	/	Avortement.	Schmelzer et
Sahara central	/	/	Les hémorroïdes.	Gurib-fakim,
Côte d'Ivoire	Feuille	Jus	Collyre, les maux de tête.	(2013)

I.6. Activités biologiques et thérapeutiques de *Pergularia tomentosa* L.

❖ Larvicide

Les résultats des travaux d'Acheuk et Doumandji-Mitiche (2013), montre que les alcaloïdes (extraits de la partie aérienne) ont un effet larvicide considérable avec un taux de mortalité dépendant de la dose, causant la perte de poids des larves avec une réduction de la teneur en protéines et en glucides. Ces résultats indiquent que *P. tomentosa* peut être un agent prometteur naturel pour le contrôle des larves de criquets.

❖ Anti tumorale

Les effets inhibiteurs de ghalakinoside sur les taux d'acide urique, Ca²⁺, GGT, ALP et la LDH sont en faveur de son potentiel anti-tumoral (Al-Saidet *al.*,1989). Des glycosides cardénolides isolée des racines de *P. tomentosa* ont été testés dans un essai *in vitro* d'inhibition de la croissance de souches cancéreuses. Cela comprenait six différentes lignées cellulaires humaines de cancer, et pour leur capacité à inhiber la Na⁺ /K⁺, activité ATPase, en plus des modifications morphologiques induites dans des lignées cellulaires de cancer humain (Piacenteet *al.*,2009).

❖ Antidermatophytique

La présence des tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, saponines, glycosides, saponinglycosides, cardiacglycosides, anthraquinones et stéroïdes dans composition de *P.tomentosa* peut être responsable de l'activité antidermatophytique présentées par les plantes contre la plupart des dermatophytes testés (Shinkafi, 2013).

❖ Activité antimicrobienne

Les extraits aqueux et à plusieurs solvants organiques des feuilles, des tiges et des racines ont montré une activité antifongique contre une série de champignons pathogènes, tout comme une activité protectrice des organes chez le crapaud *Bufo regularis* infecté par *Aspergillus niger*. Des effets bactéricides et moluscicides ont également été répertoriés. Les extraits méthanoliques des parties aériennes, de même que les isolats de coroglaucigénine, de 16 α -acétoxyalotropine et de calactine, ont eu une activité de dissuasif alimentaire sur la légionnaire *Spodopteralitoralis* (Bekheetet *al.*,2011).

Le mécanisme d'action des extraits de *P. tomentosa* contre les pathogènes fongiques peut être due à l'inhibition de la paroi des cellules fongique.

Les flavonoïdes ont une forte activité antimicrobienne (,Özceliket *al.*,2008). Ils peuvent inhiber des *Streptococcus mutans* et d'autres bactéries (Kooet *al.*,2002).

❖ Molluscicide

L'activité molluscicide de deux cardénolides extraite à partir de *Pergularia tomentosa*, a été évaluée par rapport à l'escargot terrestre *Monachaobstructa* (Férussac), ces résultats expliquent l'utilisations possibles de cette plante contenant des cardénolides, comme molluscicide (Hussein *et al.*,1999).

❖ Toxicité

Les hétérosides sont très cardio-toxiques lorsqu'ils sont administrés par voie intraveineuse. Ils sont peu absorbés lorsqu'ils sont ingérés par voie orale, ce qui pourrait expliquer l'information contradictoire de l'utilisation de la plante comme fourrage. Certains de ces cardénolides issus

de la racine et des parties aériennes ont montré une activité cytotoxique contre plusieurs lignées de cellules cancéreuses humaines *in vitro*. Dans un essai sur des souris, des extraits aqueux et à l'éthanol se sont avérés être très toxiques. Ils ont tout d'abord causé la paralysie des membres, puis l'asphyxie. A des doses plus élevées, les extraits ont causé une augmentation de la toxicité dans le tissu musculaire isolé, probablement par stimulation directe. Un hétéroside du type pergularine a eu un effet similaire sur le tissu musculaire, mais a augmenté la contraction cardiaque (Neuzinger, 1996).

Pergularia tomentosa est considérée comme une plante toxique réputée nocive pour la grossesse (Hammicheet *al.*, 2013).

I. 7. Composition biochimique de *Pergularia tomentosa* L.

Les études phytochimiques menées sur le *Pergularia tomentosa* montrent la présence de métabolites primaires et secondaires.

I. 7. 1. Métabolites primaires

Sont directement impliqués dans les processus indispensables au développement normal et à la reproduction de la cellule de l'organisme: les glucides, les lipides, les protéines (tableau 2) (Catherien, 2004).

Tableau II : Composition en métabolites primaires des différentes parties de *Pergularia tomentosa* (Hassan *et al.*, 2007)

Organe végétal	Lipides (%)	Protéines (%)	Glucides (%)
Feuilles	6,83 ± 0,76	6,39 ± 0,17	53,27 ± 1,75
Tiges	2,17 ± 0,76	4,74 ± 0,14	56,92 ± 1,27
Racines	2,67 ± 0,29	3,35 ± 0,48	61,31 ± 2,84

I. 7. 2. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des produits à structures chimiques souvent complexes, très dispersés et différents selon les espèces ; ils sont produits en très faibles quantités, ils existent plus de 20 000 métabolites secondaires classés selon leurs structures chimiques (Foucheet *al.*, 2000). Ce sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction. *Pergularia tomentosa* est connu par son contenu en

molécules biologiquement actives tels que les polyphénols: flavonoïdes, tanins, glycosides cardiaques, les glycosides cyanogènes, des saponines, (tableau 3) (Hassan *et al.*, 2007).

Tableau III: composition en métabolites secondaires des différents organes de *Pergularia tomentosa*. (Hassan *et al.*, 2007)

Organe végétale	Métabolites secondaires
Feuilles	alcaloïdes, glycosides cardiaques, les glycosides cyanogènes,
Tiges	des saponines, des flavonoïdes, des tanins. Glycosides cyanogènes
Racines	Glycosides cardiaques Des saponines, des tanins

I.7.2.a. Les polyphénols

❖ Généralités

Les polyphénols sont des métabolites secondaires synthétisés par l'ensemble des végétaux. Ils sont présents dans les vacuoles des tissus. Ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques ou abiotiques (pathogènes, rayonnements UV) et contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume). Leur répartition tant qualitative que quantitative dans la plante varie selon les espèces, les organes, les tissus ou encore les différents stades de développement. Ils se caractérisent par la présence de groupements phénoliques (présence d'une ou plusieurs fonctions hydroxyles sur un cycle benzénique) dans leur structure (Kühnau, 1976). Les plantes consommées par l'homme fournissent plus de 8000 composés phénoliques classés en différentes familles selon la nature de leur squelette carboné (Bruneton, 2009).

On distingue :

- ❖ les acides phénoliques (C6-C1 et C6-C3)
- ❖ les flavonoïdes (C6-C3-C6)
- ❖ les lignanes (C6-C3-C3-C6)
- ❖ les stilbènes (C6-C2-C6)

I.7.2.b. Les flavonoïdes

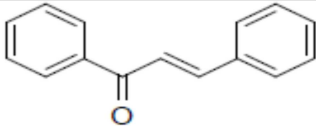
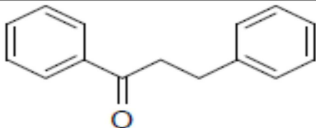
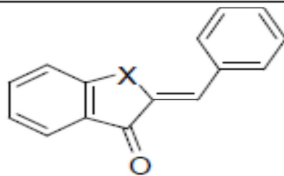
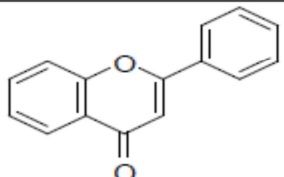
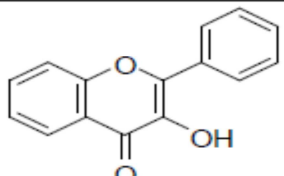
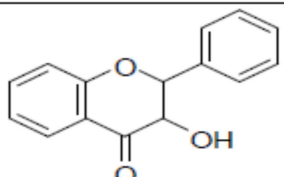
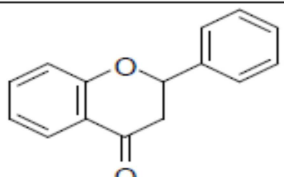
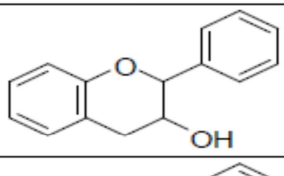
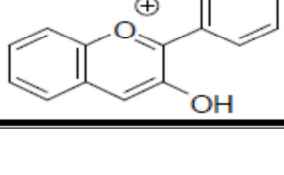
❖ Généralités

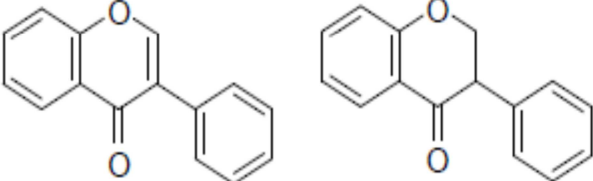
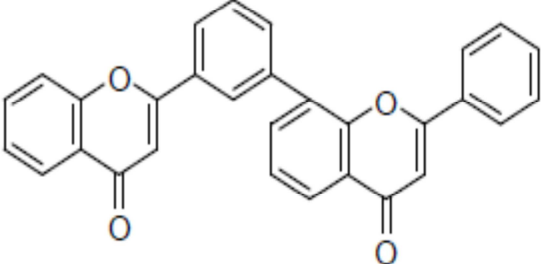
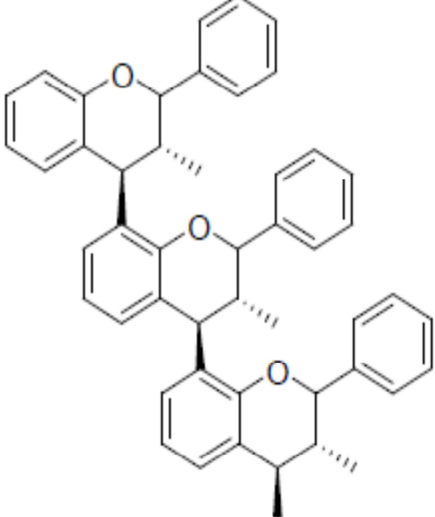
Les flavonoïdes sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux ; ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (Bruneton, 1999). Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits, graines et bois), et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines et la maturation des fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

Ces molécules sont les polyphénols les plus abondants de notre alimentation et plus de 4000 composés ont pu être identifiés (D'Archivio *et al.*, 2007). Ils sont particulièrement présents dans l'épiderme des feuilles ainsi que dans la peau des fruits. Ils présentent une structure commune en C6-C3-C6 (Tableau I). Deux cycles aromatiques (A et B) sont liés par une chaîne de 3 carbones formant un hétérocycle oxygéné (C) (Macheix *et al.*, 2006). Les flavonoïdes sont subdivisés en sous-classes selon la structure de l'hétérocycle C. On distingue alors les 4-oxoflavonoïdes (flavones, isoflavones, flavonols et flavanones, les flavanols) et les proanthocyanidines (tanins condensés), les anthocyanes ainsi que des composés plus minoritaires, les chalcones et dihydrochalcones (Tableau 5) (Crozier *et al.*, 2009). Il existe dans chaque sous-classe de nombreux composés selon les substitutions des cycles aromatiques. La plupart des flavonoïdes sont glycosylés, ce qui augmente leur solubilité dans l'eau (Crozier *et al.*, 2009).

❖ Les différentes classes

Tableau IV : Différentes classes des flavonoïdes (Sartori-Thiel, 2003 ; Hallgaset *al.*, 2004)

Flavonoïdes	Structure de base
Chalcones	
Dihydrochalcones	
Aurones	 X = O, S, SO ₂ ou NH
Flavones	
Flavonols	
Dihydroflavonols	
Flavanones	
Flavanols	
Anthocyanidines	

Flavonoïdes	Structure de base
Isoflavonoïdes	
Biflavonoïdes	
Proanthocyanidines ou tanins condensés	

❖ Activités biologiques des flavonoïdes

Activité antioxydante

Les flavonoïdes possèdent de nombreuses activités biologiques, ces activités sont attribuées en partie aux propriétés antioxydantes de ces composés naturels. (Fuhrman et al., 1995).

L'antioxydante de ces composés ne s'exerce pas seulement par l'inhibition des radicaux libres, mais elle se manifeste aussi par la neutralisation d'enzymes oxydantes et par la chélation d'ions métalliques responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène (Halliwell, 1994 ; Cotelle, 2001).

Activité antibactérienne

Il a été rapporté que les extraits de plantes et beaucoup d'autres préparations phytochimiques riches en flavonoïdes ont possédé une activité antibactérienne (Tim et al., 2005).

Grâce à leur structure caractérisée par la présence de groupe phénolique, et d'autres fonctions chimiques, les flavonoïdes sont considérés de très bons agents antimicrobiens (Harborne et Williams., 2000).

De nombreuses études ont rapporté les activités antimicrobiennes des flavonoïdes. (Haraguchi et al., 1998 ; Inuma et al., 1994 ; Iniesta et al., 1990). De même ces propriétés détectées chez la propolis, sont attribuées à leur teneur élevée en flavonoïdes, en particulier le galangin et le pinocembrin (Tim et al., 2005).

Un nouveau flavanone prénylé isolé à partir de l'arbuste *Eysenhardtia texana*, et un flavane 7-hydroxy-3,4-méthylendioxyflavane isolé à partir des fruits de *Terminalia bellerica*, ces deux flavonoïdes montrent une activité contre le microbe pathogène opportuniste : *Candida albicans* (Wachter et al., 1999 ; Valsaraj et al., 1997).

Deux autres flavones isolés de la plante *Artemisia giraldi*, ont été rapportés exhiber une activité contre *Aspergillus flavus* (Zheng et al., 1996). Le Galangin est un flavonol, qui se trouve généralement dans des échantillons de propolis, il a montré une activité inhibitrice contre *Aspergillus tamarii*, *A. flavus*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum* (Afolayan et Meyer., 1997).

Effets antiallergiques

Les effets antiallergiques sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca²⁺-dépendante, ces deux dernières sont responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles.

Di Carlo (1999) a étudié les effets antiallergiques de la quercétine, il a trouvé que ce flavonoïde exerce ses effets, en inactivant l'enzyme ATPase Ca²⁺-dépendante, de même l'action de la quercétine est supérieure à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament antihistaminique.

Autres activités des flavonoïdes

À côté des activités citées précédemment, les flavonoïdes possèdent d'autres activités:

Les flavonoïdes sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire (Middleton et Elliott., 1996), ils sont de puissants inhibiteurs de la prolifération

des lymphocytes B et T (Mookerjee *et al.*, 1986 ; Namgoon *et al.*, 1994). Les flavonoïdes peuvent aussi empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase (Chaudhry, 1983). Ong et Khoo ont reporté que la myricétine possède un effet hypoglycémiant chez des animaux diabétiques (Ong et Khoo., 2000).

II. Activité antibactérienne

II. 1. Généralités

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). Elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bacteria) et bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bacteria.

Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1 µm. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique. (Nauciel et Vildé, 2005).

II. 2. Culture des bactéries

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides. La solidification des milieux est obtenue par l'addition de l'agar, un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à l'ébullition et se solidifier à des températures inférieures à 40°C. En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'oeil nu, que l'on appelle colonie (Si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe.). L'emploi de milieux solides permet ainsi le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon (Nauciel et Vildé., 2005).

II. 3. Principales substances antibactériennes

❖ Les antibiotiques

Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques (Bergogne-Berezin et Dellamonica, 1995).

❖ Les composés phénoliques

Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont été focalisées sur l'évaluation des propriétés antimicrobienne des polyphénols. A l'heure actuelle, cet effet est certain et démontré par des

nombreuses recherches expérimentales. Les études du pouvoir inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance bactérienne ont démontré que de nombreux composés flavoniques sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes (Ulanowska *et al.*, 2007).

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhesines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

III. 1. La cicatrisation

La cicatrisation cutanée est le phénomène physiologique de réparation tissulaire (Chaput *et al.*, 2012), déclenché par l'organisme lors d'une blessure (Bach *et al.*, 2011); complexe et prolongé dans le temps (Garnier-Lyonnet *et al.*, 1993) ; depuis la plaie jusqu'à la fin de la maturation du régénérant cicatriciel (Chavon, 2009).

Elle implique des interactions bien coordonnées entre le compartiment sanguin, l'épiderme, le derme. Elle inclut la reconstruction d'un épithélium pluristratifié, d'une jonction dermoépidermique structurée et d'un tissu sous-jacent richement vascularisé, le derme. Elle est fondée sur une succession d'événements cellulaires et moléculaires, tels que la prolifération, la différenciation, la migration cellulaire ainsi que la néosynthèse de macromolécules de la matrice extracellulaire (Bach *et al.*, 2011).

III. 2. Définition de la peau

La peau est définie comme étant l'organe de revêtement extérieur du corps de l'homme et des animaux. Elle est constituée de trois tissus superposés: l'épiderme, le derme et l'hypoderme (Figure3). Les annexes, localisées dans le derme, sont représentées par les phanères (poils et ongles), les glandes sébacées et les sudoripares.

Le derme contient aussi des récepteurs sensoriels à la pression et à la température, associé à un réseau microcirculatoire et de fibres nerveuses. L'épaisseur de la peau varie selon le sexe, l'âge et la région du corps. Elle est plus mince chez les femmes, chez les personnes âgées, au niveau des paupières et des organes génitaux (1 mm). En revanche, elle est plus épaisse au niveau de la zone palmo-plantaires (environ 4 mm).

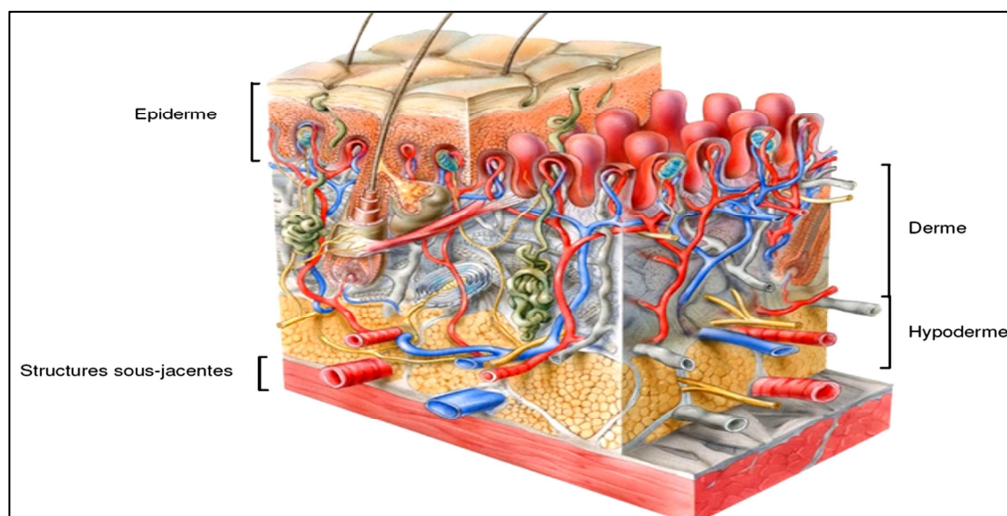


Figure 3 : Schéma de la structure de la peau humaine (Delalleau, 2007).

La peau possède de nombreuses fonctions impliquées principalement dans le maintien de l'homéostasie de l'organisme, et notamment dans la thermorégulation, la défense contre les agressions extérieures et les agents exogènes. Elle joue également un rôle dans les fonctions sensorielles et métaboliques tel que la synthèse de vitamine D (Nguyen, *et al.*, 2005).

III. 3. Définition d'une plaie

Une plaie est une déchirure des tissus due à un accident (blessure, brûlure) ou à une intervention chirurgicale (Fortin *et al.*, 2005).

III. 4. Etapes de la cicatrisation

La cicatrisation comporte trois étapes : une réaction immédiate (avec une réponse vasculaire et inflammatoire), une phase proliférative et une phase de contraction et de remodelage, dans lesquelles différents types cellulaires et composés protéiques interviennent et capables d'interagir (Garnier-Lyonnet *et al.*, 1993).

Au cours de la première phase se crée un caillot de fibrine dans la plaie tandis que sont recrutées des cellules inflammatoires qui assurent par la suite la détersion de la plaie. La deuxième phase est celle de la réparation tissulaire dermique et épidermique aboutissant à l'épithélialisation de la plaie. La dernière phase est celle du remodelage de la matrice extracellulaire et de la maturation de la cicatrice. Ces phases complexes se chevauchent dans le temps (Senet *et al.*, 2000).

III. 5. Relation entre les métabolites secondaires des plantes et le pouvoir cicatrisant

Au cours des deux dernières décennies, il ya eu un intérêt accru pour évaluer l'utilité d'extraits de plantes dans la cicatrisation des plaies et d'avoir une meilleure compréhension sur les constituants actifs qui favorisent ou modulent le processus de guérison.

Les principaux effets des constituants actifs de l'extrait de plantes sur la cicatrisation des plaies se résument comme suit :

- Constituants phytochimiques qui contribuent à l'activité antimicrobienne.
- Constituants phytochimiques qui travaillent comme des antioxydants et des piègeurs de radicaux libres.
- Les composants actifs ayant une activité mitogène améliorées (contribue à accroître la prolifération des cellules), l'angiogenèse, l'amélioration de la production de collagène et l'augmentation de la synthèse de l'ADN.

Idéalement, les substances actives présentes dans les extraits de plantes sont prévus pour interférer avec une ou plusieurs phases du processus de cicatrisation de la plaie d'une

manière positive dans le bon ordre et à la période de montrer une efficacité améliorée. Il devrait également être minimisé des substances qui détériorent le processus de guérison.

Il ya des besoins accrus pour isoler et enquêter sur chaque ingrédient actif qui a un rôle positif dans le processus de guérison.

Les métabolites secondaires sont les composants actifs dérivés des métabolites primaires. Ils ne sont pas vitaux pour la plante mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction. Ces molécules représentent une grande source potentielle d'agents thérapeutique (Ghosh et Gaba, 2013).

Parmi lesquels qui sont présents dans l'extrait de *Pergularia tomentosa* L. :

➤ **Les flavonoïdes**

Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes. Ces composés peuvent empêchés les dommages oxydatifs par différentes mécanismes d'actions : soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxyles et peroxydes; soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires ; soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libre (Belyagoubi, 2012). Cette propriété antioxydante est connue pour améliorer et moduler la réaction immunitaire et par leur effet vasculoprotecteur (Kamboh *et al.*, 2015).

➤ **Les coumarines**

Sont utilisées pour leurs propriétés, neurosédatives, diurétiques, stomachiques et carminatives. Ils ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires. Elles sont bénéfiques en cas d'affections cutanées (Belyagoubi, 2012).

➤ **Les terpénoïdes**

Les terpénoïdes de structures différentes, y compris les mono- et ceux multicycliques ont été identifiés comme possédant une activité antimicrobienne; ces composés sont prévus pour manifester leurs effets antimicrobiens à travers le processus de synergie avec d'autres composés présents dans l'extrait de plante. Outre les terpènes monocycliques, plusieurs bicycliques, tricycliques et les terpénoïdes pentacycliques d'origine végétale ont été identifiés qui possèdent des activités antimicrobiennes considérables (Ghosh et Gaba, 2013).

L'objectif de la présente étude est l'extraction et dosage des aglycones flavoniques des feuilles, racines, tiges, graines et péricarpes de *Pergularia tomentosa* et l'évaluation de leurs activités antibactériennes d'une part et d'une autre part l'évaluation de l'activité cicatrisante de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles. Ces parties sont élaborées au niveau de l'université des Sciences et de la Technologie Houari Boumedienne (U.S.T.H.B) de BabEzzouar, faculté des sciences biologiques, laboratoire des maladies du palmier dattier et biochimie des plantes désertiques.

I.1. Matériel

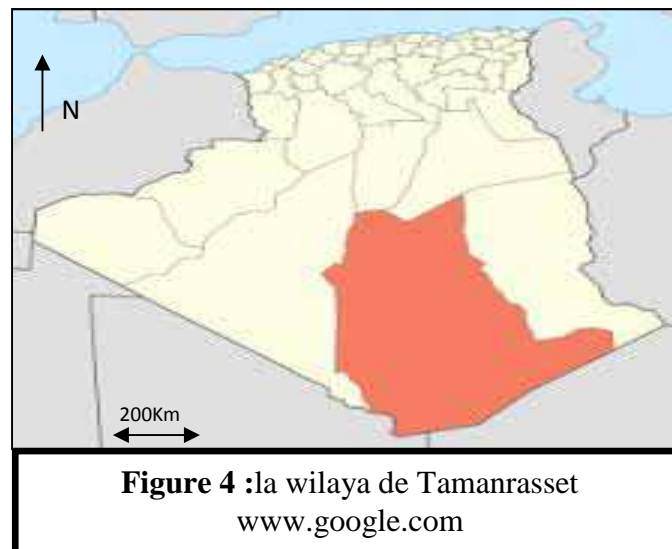
I.1.1. Matériel biologique

❖ Choix de la plante

Le choix s'est porté sur *Pergularia tomentosa* L., ; une plante connue par son large utilisation grâce à ses effets bénéfiques qu'on a déjà détaillé dans la recherche bibliographique. Le matériel végétal est représenté par les feuilles, graines, tiges, racines et péricarpes de la plante. La plante est récoltée au mois de mars 2016, dans la région de Tamanrasset.

❖ Position géographique

La wilaya de Tamanrasset (Figure 4) est localisée au sud algérien. Son climat est sec et chaud en été atteignant jusqu'à 50°C, froid en hiver avoisinant -5°C et l'humidité est faible (aux environs de 27%). La région est connue pour ses vents de sable fréquents. La précipitation moyenne annuelle est de 60 mm.



❖ Choix de l'animal

-Présentation du modèle animal

Le matériel animal choisi est le rat blanc *Albino Wistar* (Figure 5), mâles ramenés de l'animalerie de physiologie au niveau de la faculté des sciences de Boumèrdes. Ces rats ont

été utilisés pour l'étude de l'activité cicatrisante par l'extrait des feuilles de *Pergularia tomentosa*. Le rat Wistar est la forme Albinos, c'est un rongeur nocturne, docile et omnivore à tendance granivore. Il possède une tête large, des petites oreilles, des yeux rouges globulaires et une petite queue écaillée.



Figure 5 : photo de rat *Albino Wistar* .

L'élevage des animaux est fait au niveau de l'animalerie du Département de Biologie, Université de Babezzouar, Alger, où la température moyenne varie entre 20-25°C, avec un cycle photopériodique de 12 heures de lumière/obscurité. Les rats sont logés dans des cages en plastique et recevant la nourriture et l'eau à volonté. La litière utilisée est la sciure, renouvelées trois fois par semaine pour assurer le bon état hygiénique des animaux.

Trois lots sont utilisés pour l'étude de l'activité cicatrisante à raison de 3 rats par lot à un poids de 160-190g.

❖ Les micro-organismes étudiés

Le choix des micro-organismes a été porté sur 5 souches bactériennes provenant essentiellement du laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences de l'Université de M'hamed Bougara (U.M.B.B) de Boumerdès (tableau 5).

Tableau V : les souches de bactéries testées.

Souche bactérienne	Gram	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	ATCC 48300
<i>Entérocoque sp.</i>	+	ATCC 0497P(7080)
<i>Escherichia coli</i>	-	ATCC 29922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	ATCC 27853
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	ATCC 4352

I.1.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé pour cette étude est composé de verreries, d'appareillages, d'un ensemble de réactifs et de produits chimiques (Annexe1).

I.2. Méthodes d'études

L'ensemble des étapes de ce travail est représenté dans le diagramme suivant (figure 6).

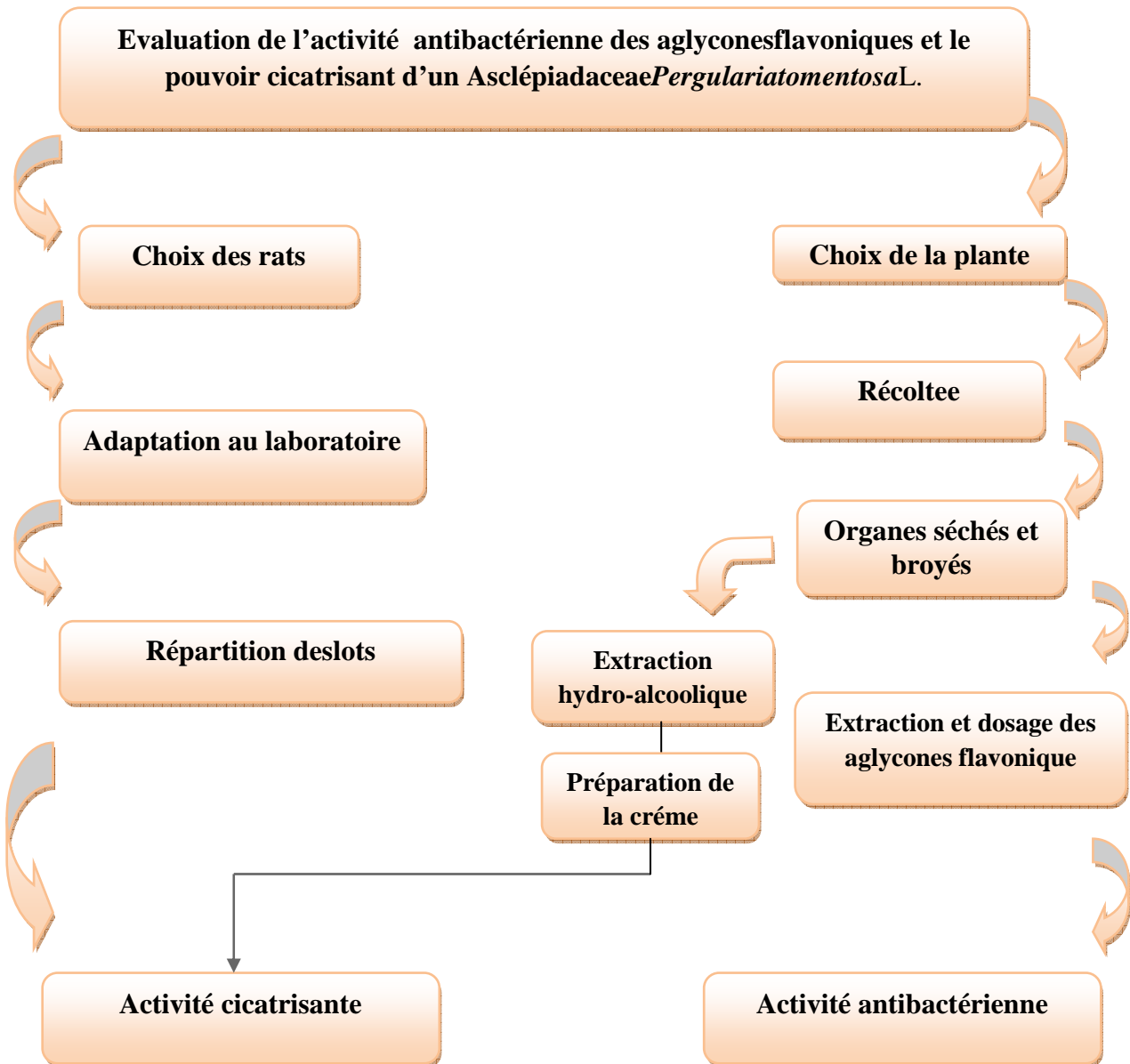


Figure 6 : schéma récapitulatif des différentes étapes du travail.

I. 2.1.Méthodes de récolte, séchage, broyage

❖ Récolte

Il est préférable de procéder à la récolte par temps sec et chaud où la teneur en principes actifs est à son point optimal. Les plantes mouillées par les pluies ou de rosée s'altèrent, moisissent, fermentent et perdent toute leur valeur thérapeutique. Durant la cueillette, il est nécessaire de prendre garde à ne pas écraser, ni comprimer les plantes car celles-ci risquent de se faner.

❖ Séchage

L'étape de séchage de la plante récoltée a pour but d'abaisser la teneur en eau des organes récoltés afin d'éviter toutes réactions d'altération et de prolifération des micro-organismes. Les plantes récoltées sont bien étalées sur un papier absorbant, sec, propre et renouvelé périodiquement, elles sont séchées naturellement à température ambiante et à l'abri de la lumière puis à l'étuve à 30°C pendant deux jours.

❖ Broyage

La plante sont transformées en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique à hélice. Les poudres obtenues sont conservées à l'abri de l'air et de la lumière dans des flacons en verre hermétiquement fermés.

I.2.2.Méthode Extraction et dosage des aglycones flavoniques

D'après les résultats de Hassan *et al.*, (2007) qui montrent l'existence des flavonoïdes dans cette plante qu'on a effectuée notre teste.

❖ Principe

Le protocole d'analyse selon Lebreton *et al.*, (1967), repose sur l'hydrolyse acide des hétérosides du matériel végétal, suivie d'une analyse des aglycones. Cette technique permet la séparation des anthocyanes et les aglycones flavonique.

L'extraction des flavonoïdes a été réalisée à partir de la MVS contenue dans 2g de (feuilles, tiges, racines, graines et péricarpes).

Les MVS (feuilles, tiges, racines, graines et péricarpes) sont broyés à sec puis l'hydrolyse est réalisée par 160 ml d'HCL à 2N dans un bain-Marie pendant 40 min à 60°C avec une insufflation d'oxygène toutes les 10 min qui permet l'oxydation des pro-anthocyanes correspondantes.

Après l'addition de 40 ml d'éther diéthylique, deux phases se forment :

- la phase supérieure ou la phase étherée contenant les aglycones flavoniques.
- la phase inférieure ou la phase aqueuse qui contient les anthocyanes.

La phase étherée est évaporée à sec, le résidu est repris dans 5 ml d'éthanol pour le dosage.

Les étapes précédentes sont illustrées dans le diagramme ci- dessous :

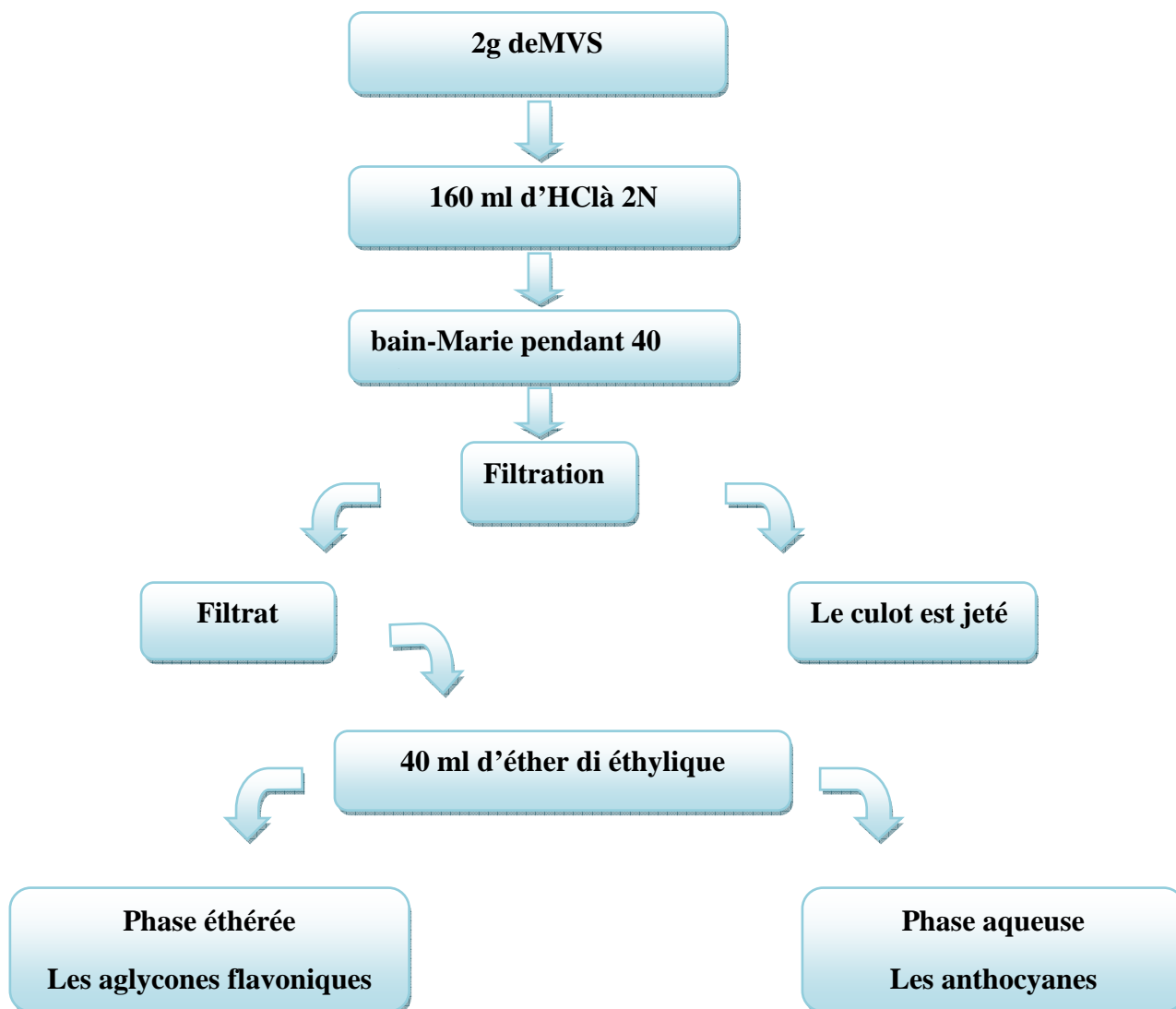


Figure7 : protocole simplifié de l'extraction de flavonoïde selon Lebreton *et al.*, (1967)

A partir du résidu sec étheré repris dans 5ml d'éthanol à 95°, nous réalisons une dilution d'une part avec l'éthanol 95° (cuve de référence) et d'autre part avec une solution alcoolique de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 1% (cuve de mesure), après réaction avec le $AlCl_3$ pendant 15 min, la lecture des aglycones flavoniques se fera à 420 nm, au spectrophotomètre type UV/Visible (SHIMADSU).

❖ Méthodes de calcul

La teneur en aglycones flavoniques s'exprime comme équivalent Quercétine, elle est calculée selon la formule suivante :

$$T \text{ (en \% ou mg/g)} = \Delta DO / \varepsilon \times M \times V \times d/p$$

ΔDO : densité optique du pic différentiel à 420nm pour aglycones flavoniques .

ε : coefficient d'absorption molaire de la Quercétine égal à 23 000 au pic différentiel.

M : masse molaire de la Quercétine égale à 302g.

V : volume de la solution éthanolique égal à 5 ml.

d : facteur de dilution.

P : poids sec du matériel végétal hydrolysé en g.

T : teneur différentielle des aglycones flavoniques exprimée en mg de Quercétine par g de M.V.S.

Après application numérique, selon la relation :

$$T \text{ (en mg/g)} = 1,3 \times 10^{-2} \times \Delta DO \times V \times d/p$$

I.2.3. Les activités biologiques

I.2.3.1. Activité antibactérienne

Test de l'antibiogramme

❖ Principe :

La technique utilisée pour ce test est celle décrite par Marie *et al.*, (1998). Il s'agit de la diffusion sur gélose (méthodes des disques) dont le principe est la détermination de la sensibilité ou la résistance des souches microbiennes vis-à-vis des différents extraits.

Cette méthode s'effectue par un dépôt des disques stériles de 6 mm de diamètre, imbibés de l'extrait à tester, sur une gélose préalablement coulée dans une boîte de Pétri etensemencée par 10UFC/ml du micro-organisme à tester.

Après incubation l'évaluation du pouvoir antibactérien de l'extrait se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition, qui se traduit par un halo clair autour du disque absorbant.

❖ Revivification des souches bactériennes

La revivification des souches est une étape nécessaire avant leur utilisation car leur activité biologique est nulle. Donc, elle a pour but l'obtention d'une culture jeune et pure. Elle consiste à ensemencer en stries la surface de la gélose nutritive préalablement coulée et

solidifiée dans les boîtes de Pétri quelques colonies des souches conservées à 4°C (milieu gélose nutritif pour les bactéries).

Les boîtes de Pétri renfermant chacune une souche de bactéries sont incubées à 37°C pendant 24 h (Joly et Reynaud, 2003).

❖ Préparation des disques

Des disques de 6 mm de diamètre sont découpés du papier Wattman et stérilisés dans 10 ml d'eau distillée dans un autoclave pendant 20 min à 120°C, après ils sont séchés dans l'étuve.

❖ Préparation de l'inoculum

A partir des cultures jeunes préparées, on prélève quelques colonies des bactéries dans 5 ml d'eau physiologique stérile. On agite ensuite les tubes au vortex pendant quelques secondes. Puis, on réalise une lecture de la densité de chacune des suspensions bactériennes préparées à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625 nm. Donc la densité optique obtenue doit être comprise entre 0,22 et 0,32 pour les bactéries, qui correspondent à une concentration de 10^8 germes /ml. (Chabbert *et al.*, 2002).



Figure 8 : Préparation de l'inoculum

❖ Préparation des milieux de culture avec des suspensions bactériennes

Cette étape consiste à liquéfier le milieu de culture Mueller-Hilton dans un bain marie, puis, on coule aseptiquement les milieux en surfusion dans des boîtes de Pétri à raison de 15ml par boîte. On laisse refroidir et solidifier sur la paillasse puis, on réalise l'ensemencement par écouvillonnage à l'aide d'un coton-tige stérile contenue des suspensions microbiennes et on verse en tournant la boîte.

❖ Dépôt de disques

Une fois le milieu de culture qui contient les suspensions microbiennes est solidifié, on prélève aseptiquement à l'aide d'une pince stérile un disque absorbant stérile de 6 mm et on

l'imbibe avec 20 μ l de l'extrait à tester, puis on le dépose sur la gélose préalablement préparée. Les boîtes de Pétrie sont laissées au moins 8h au réfrigérateur pour une bonne diffusion de l'extrait (Rozman et Jersek, 2009).

❖ Incubation

On incube les boîtes de Pétri à 37°C pendant 24h pour les bactéries (Joly et Reynaud, 2003).



Figure 9 : Incubation

❖ Lecture des résultats

L'absence de croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque.

La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre à l'aide d'une règle en mm (Baser et Buchbauer, 2010). (Annexe 2)

I.2.3.2. Activité cicatrisante

❖ Méthode d'extraction

L'extrait de *Pergulariatomentosa* utilisé a été préparé par macération de la matière végétale réduit en poudre dans une solution hydro-alcolique (9:1 v/v), pendant 12 heures sous agitation. La solution est ensuite filtrée et mise dans l'étuve à 40°C pendant 48 heures pour permettre l'évaporation totale du solvant.

❖ Préparation de crème

Une crème contenant 1% d'extrait de feuille de *Pergulariatomentosa* préalablement séché à l'air ambiant et à l'abri de la lumière a été préparée au laboratoire en utilisant la Vaseline comme véhicule.

❖ Expérimentation animale

Après avoir les lots de rats (animaux marqués, et épilés, cages étiquetées), les animaux sont mis à jeun la veille de l'expérimentation qui sera suivie de ces différentes étapes,

- Tous les rats sont sédatisés quelques minutes par les vapeurs d'éther éthylique dans une cloche.



Figure 10 : Sédation des rats dans une cloche.

- Les rats ont été ensuite anesthésiés par une injection intra-musculaire de Kétamine à raison de 50mg/kg.



Figure 11 : Injection intra musculaire de l'anesthésiekétamine .

- La peau du dos des rats a été rasée par une tondeuse et désinfectées à l'alcool.



Figure 12 : Rasage des dos des rats.

- Tracer la zone à découper, et donner une forme cylindrique de 1.5 cm de surface.



Figure 13: Réalisation de la plaie.

- Découper la zone tracée en utilisant un ciseau stérile et une pince pour enlever la peau coupée.
- Nettoyer les surfaces dépourvues de peau par l'eau physiologique à 0.9%.
- De suite, prendre les empreintes des surfaces des plaies sur papier transparent à partir du premier jour (j1) et après, chaque deux jours.



Figure14 : La réalisation des calques

- Les plaies ensuite étaient traitées :
 - Le premier lot : le témoin négatif (plaie traitée par le vaseline).
 - Le deuxième lot : le témoin positif (plaie traitée par le Madécassol).
 - Le troisième lot : l'essai (plaie traitée par la crème).

Tout au long de la période de l'expérimentation, les traitements ont été appliqués quotidiennement sur les plaies réalisées et ce pendant 17 jours.

- Des calques des plaies ont été réalisés sur des papiers transparents, et les superficies ont ainsi été mesurées tous les trois jours.
- Le dernier jour, tous les rats sont sacrifiés et une biopsie de la peau de dos des rats des trois lots est réalisée. Les biopsies ont été fixées dans une solution du formol à 10% pour l'étude histologique.

II.1. Analyses quantitatives des flavonoïdes

L'extraction des flavonoïdes à partir du broyat des feuilles, racines, tiges, graines et péricarpes séchés de *Pergularia tomentosa* a permis d'obtenir deux classes flavoniques, celles des Anthocyanes et des Aglycones flavoniques. Cependant, on s'est intéressé uniquement au dosage des Aglycones flavoniques présents dans la phase étherée. Les figures suivantes montrent la séparation des deux phases ; étherée, contenant les aglycones flavoniques et aqueuse, contenant les anthocyanes (figure 15).

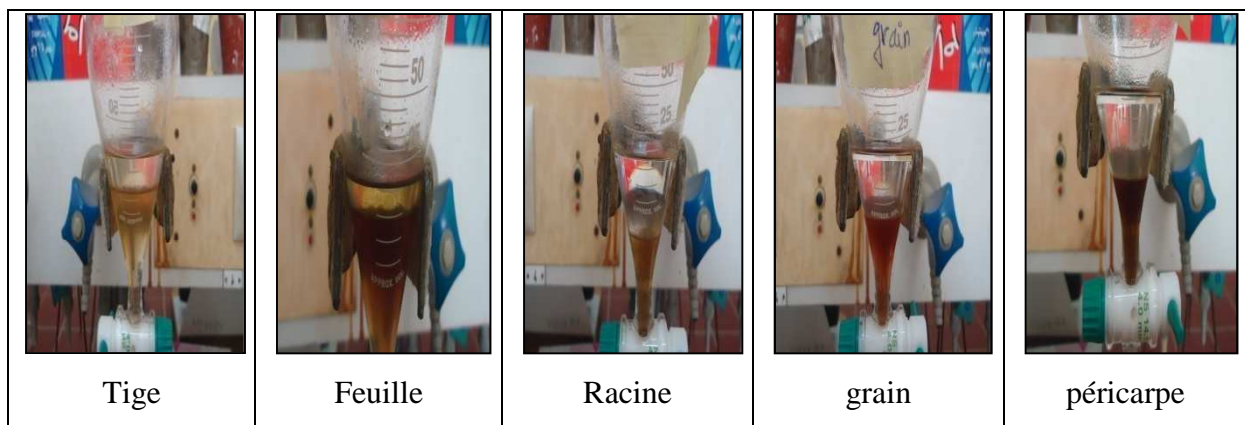


Figure 15 : Séparation les deux phases de flavoniques.

Les résultats de dosage par spectrophotométrie des Aglycones flavoniques des différents organes de la plante sont représentés dans la figure suivante.

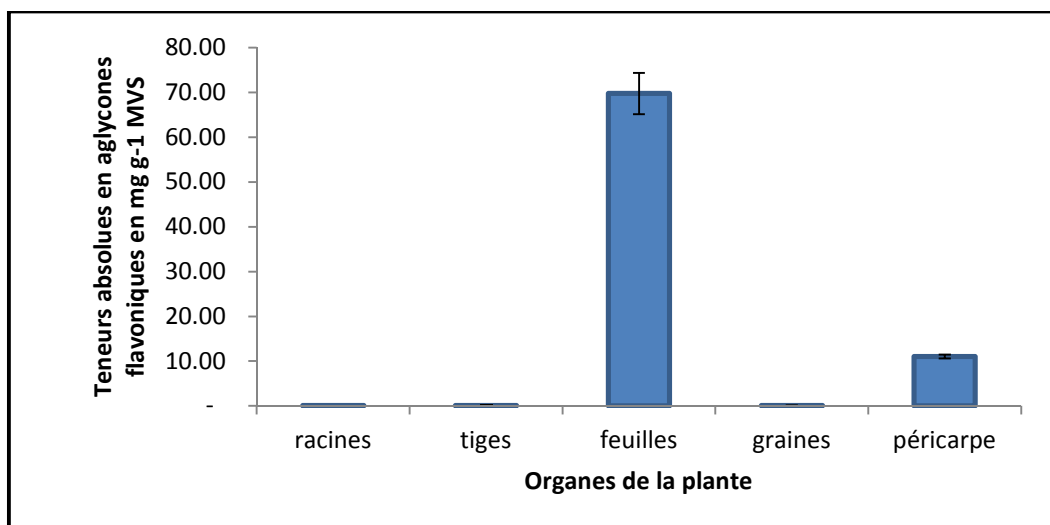


Figure 16: Histogramme des teneurs absolues en Aglycones flavoniques des différents organes de la plante *Pergularia tomentosa*.

Les résultats obtenus lors de cette étude, révèlent une variabilité des teneurs en aglycones flavoniques des différents organes de la plante. En effet ; les feuilles de *Pergularia tomentosa* sont majoritairement les plus riches en Aglycones flavoniques avec une teneur égale à 69,76mg/g de MVS, puis les péricarpes avec une teneur de 11,02mg/g de MVS, alors que, les teneurs absolues des racines, tiges et graines sont très faibles avec des valeurs de (0,01, 0,10 et 0,06) mg/g de MVS respectivement.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de Bouhamdi, (2012) sur la même espèce pour les feuilles mais aucun travail sur les autres organes.

II.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

Nous avons étudié *in vitro*, le pouvoir antibactérien des extraits éthériques (contenant les aglycones flavoniques), des différents organes de *Pergularia tomentosa* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide, Mueller- Hinton pour les bactéries.

L'activité antibactérienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis des germes pathogènes, qui sont : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Entérocoque sp.* et *Klebsiella pneumoniae* (tableau VI).

Tableau VI : diamètres des zones d'inhibition en mm de l'extrait des différents organes de la plante.

		Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait des					
		Feuilles	Racines	péricarpes	tiges	Graine	Solvant
Gram ⁺	<i>S. aureus</i>	8.5	7	7.5	10	10	-
		Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	résistance
Gram ⁺	<i>Entérocoque sp.</i>	7.5	7.5	7.5	7	24.5	-
		Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	résistance
Gram ⁻	<i>E. coli</i>	8.5	8	9	11.5	10.5	-
		Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	résistance
Gram ⁻	<i>P. aeruginosa</i>	9	9.5	10	10	10.5	-
		Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	résistance
Gram ⁻	<i>K. pneumoniae</i>	10	8.5	9	8	10	-
		Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	résistance

La concentration minimale inhibitrice est définie comme étant la concentration la plus basse rapportée pour donner une inhibition complète des bactéries testées après 48 heures d'incubation (Wan *et al.*, 1998 ; Canillac et Mourey, 2001).

L'éther diéthylique a été testé comme solvant, les résultats montrent que ce dernier est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches microbiennes.

Les résultats obtenus indiquent que tous les extraits étherés des organes de *Pergularia tomentosa* se sont révélés actifs envers toutes les souches bactériennes testées, mais avec des degrés différents ; variant entre légèrement à modérément inhibitrices, à l'exception de l'extrait des graines qui s'est manifesté par une activité très fortement inhibitrice vis à vis de *Entérocoque sp* ; leur efficacité a été également remarquée chez d'autre plantes: *Pergularia deamia*, *Oldenlandia bflora L*(N.Sridhar *et al.*, 2012). *Erythraea centaurium* (Benhamaza, 2008).

Ces activités inhibitrices se traduisent comme suite :

- Activité légèrement inhibitrice des extraits des (feuilles, racines et péricarpes) et modérément inhibitrice des extraits des (tiges et des graines) vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*.
- Activité légèrement inhibitrice des l'extraits des (feuilles, racines, péricarpes et tiges) et très fortement inhibitrice de l'extrait des graines vis à vis de *Entérocoque sp*.
- Activité légèrement inhibitrice des l'extraits des (feuilles, racines) et modérément inhibitrice des extraits des (péricarpes, tiges et des graines) vis à vis de la souche d'*Escherichia coli*.
- Activité modérément inhibitrice des extraits des (feuilles, racines, péricarpes, tiges et graines) vis à vis de *Pseudomonas aeruginosa*.
- Activité modérément inhibitrice des extraits des (feuilles, péricarpes et graines) et légèrement inhibitrice de extraits des (racines et tiges) de vis à vis de *Klebsiella pneumoniae*.

Le pouvoir antibactérien des extraits de plantes est tributaire de leurs compositions chimiques, l'inhibition de la croissance bactérienne des souches testées peut être attribuée aux aglycones flavonoïques des extraits étherés qui sont les flavones et flavonoles, constitués principalement d'apéginine, la lutéoline, la quercétine, kaempférol, et la myricétine (Bruneton, 1999 ; Ulanowska *et al.*, 2007). En effet ; de nombreux composés sont doués d'une action antimicrobienne, ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes, les huiles essentielles et les triterpénoïdes (Rojas *et al.*, 1992), Il apparaît que les bactéries à gram positive (*Staphylococcus aureus* et *Entérocoque sp.*) sont les plus sensible par rapport aux bactéries à gram négative ; ceci peut être attribué à la différence structurale entre les bactéries gram positives et les bactéries gram négatives (David et Sudarsanam, 2013).

Du fait que la principale cible de ces composés naturels est la membrane bactérienne, l'activité antibactérienne des substances naturelles s'explique par la lyse de ces membranes.

Les huiles essentielles, flavonoides, alcaloïdes voire même les tanins pourraient induire une fuite d'ions de potassium au niveau de la membrane et par voie de conséquences des lésions irréversibles au niveau de cette membrane. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur mort (Rhayour, 2002).

L'activité antibactérienne s'est manifestée par l'apparition des zones d'inhibition autour des disques imprégnés des extraits éthériques et représenté dans les figures ci-dessous.

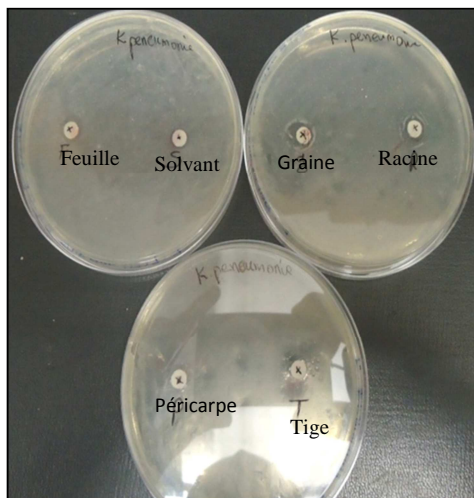


Figure 17 : Activité des différents organes de *Pergularia tomentosa* sur *Klebsiella pneumoniae*

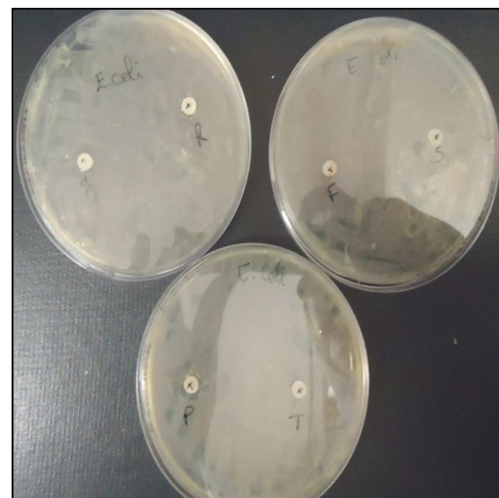


Figure 18 : Activité des différents organes de *Pergularia tomentosa* sur *Escherichia coli*



Figure 19 : Activité des différents organes de *Pergularia tomentosa* sur *Entérocoque sp.*



Figure 20 : Activité des différents organes de *Pergularia tomentosa* sur *Staphylococcus aureus*

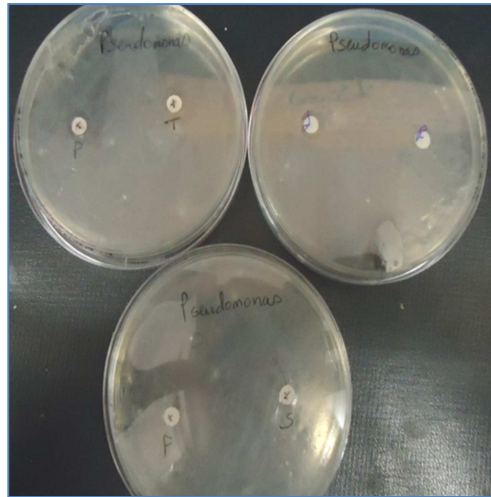








Figure 21: Activité des différents organes de *Pergularia tomentosa* sur *Pseudomonas aeruginosa*

II.3. Evaluation de l'activité cicatrisante

Pergularia tomentosa L. a été préalablement isolée et identifiée comme une plante avec des potentiels de cicatrisation, mais très peu de recherche ont été précédemment rapportés. L'un des rares rapports sur *P. tomentosa* a été publié par Hamed *et al.*, 2002

Au cours de la période de suivie de la cicatrisation (pendant 17 jours), les plaies ont été régulièrement mesurées et photographiés tous les deux jours. L'évaluation de l'évolution de la surface de chaque plaie d'excision est réalisée sur les animaux traités et non traités, la comparaison entre les différents groupes est indiquée dans le Tableau et Figures suivantes.

	Témoin (vaseline pure)	Crème de <i>P. tomentosa</i>	Madécassol
J1			
J3			
J5			
J8			

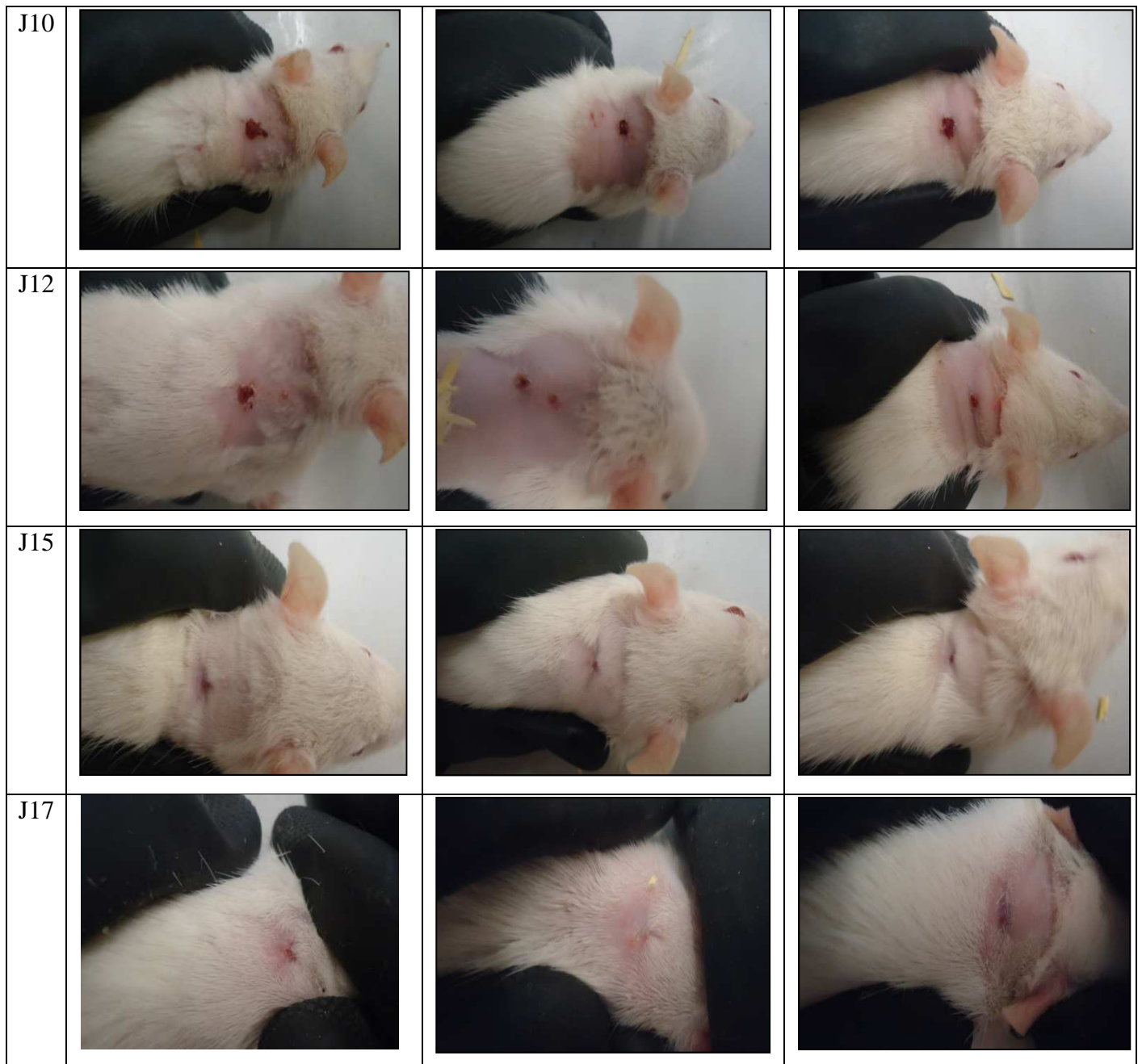


Figure 22: plaies dorsales des rats photographiés chaque 2 jours après l'incision

Le processus de guérison s'est passé par plusieurs phases ; une disparition progressive de l'inflammation (plaies devenaient moins rouges) entre le J1 et J3, une phase de contraction (les plaies devenaient dures et se couvraient de croûtes un peu noirâtres) entre le J3 et J8.

Le traitement a permis d'obtenir une guérison complète des plaies entre le J8 et J17

II.3.1. Etude statistique

Les résultats de l'évolution des superficies des plaies pendant 17 jours sont mentionnés dans le tableau ci-dessous.

Tableau VII : Evaluation des surfaces-moyennes des plaies traitées par MADECASSOL et la crème de *P. tomentosa* et le témoin mesurées chaque deux jours

	J1	J3	J5	J8	J10	J12	J15	J17
Témoin	1,35±0.07	1,05±0	0,97±0.04	0,75±0.14	0,42±0.11	0,35±0.07	0,17±0.04	0.12±0
Crème de <i>P. tomentosa</i>	1.42±0.18	1.22±0.04	1±0	0.65±0	0.32±0.04	0.21±0.09	0.1±0	0.0
Mdecassol	1.47±0.04	1.12±0.04	1.02±0.11	0.7±0.07	0.35±0.07	0.21±0.01	0.15±0	0.075±0.04

Les résultats obtenus montrent que l'évolution des surfaces moyennes des plaies traitées par MADECASSOL est meilleure par rapport à celles traitées par la vaseline (le témoin).

On remarque que l'évaluation des plaies traitées par la crème de *P. tomentosa* est très rapide (efficace) par rapport à celles traitées par la vaseline et MADECASSOL.

Selon Sharifa Amur Hamad AL Jabri, 2013, l'étude réalisée sur l'extrait brut de *P. tomentosa* et ses fractions démontre qu'elle contient une sélection de types de composés phénoliques différents, ces derniers présentent des potentiels antioxydants qui peuvent agir sur le plan thérapeutique, comme des antioxydants. Toutefois, les résultats de ces études fournissent un appui scientifique à l'utilisation traditionnelle de cette plante dans la cicatrisation des plaies et d'autres troubles de la peau dans différentes parties du monde, y compris Oman en vertu de leur le potentiel anti-oxydant justifiant ainsi son utilisation traditionnelle contre le cancer et les maladies de la peau.

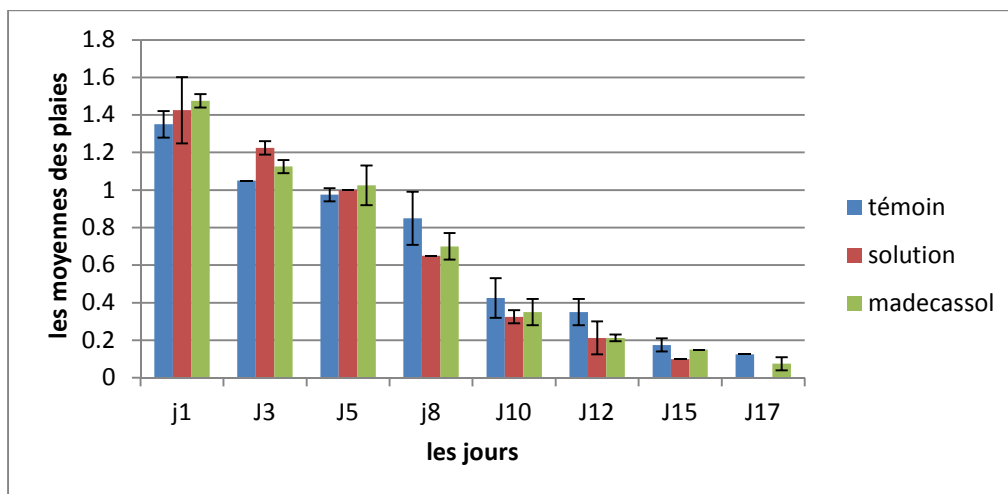


Figure23 : Histogrammes de l'évolution des surfaces des trois lots étudiés pendant 17 jours.

- AJ0 : la surface moyenne des plaies semble identique pour les trois lots.
- J1-J5 : une diminution est observée pour la surface moyenne des plaies des trois lots.
- J5-J12 : une diminution importante des surfaces moyennes est observée pour le lot de Madécassol et le lot de la crème de *P. tomentosa* respectivement par a pour au lot témoin.
- J12-J17 : le lot traité par la crème de *P. tomentosa* présente une diminution accélérée des surfaces des plaies suivies par le lot de Madécassol, contre une diminution graduelle et lente pour le lot témoin.

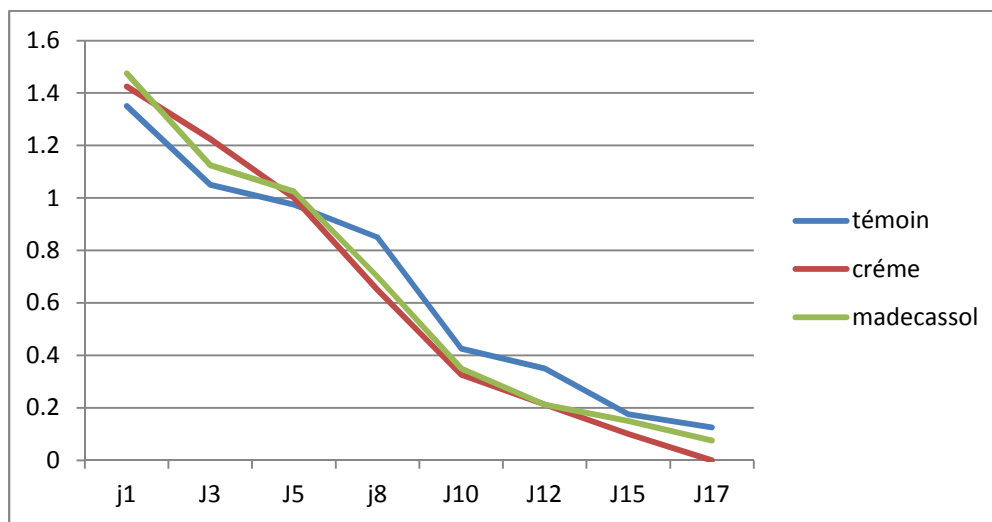


Figure 24: Courbes représentatives de la diminution des surfaces moyennes des plaies en fonction du temps.

❖ Interprétation des résultats obtenus

L'analyse et l'interprétation des courbes de la figure 22 laisse supposer que le tissu de granulation des plaies traitées est probablement plus important (meilleure qualité) que celui des plaies témoins véhicule et positif. En effet, les courbes représentatives de la diminution des surfaces moyennes des plaies en fonction de temps présentent des pentes semblables et peuvent être divisées en trois segments qui correspondent à :

-A la phase de détersion pour la période J0-J3. La pente du lot traité avec la crème de *Pergularia tomentosa* semble identique avec celle du lot Madecassol par rapport au lot véhicule. Ceci pourrait être attribuée à la richesse de la plante en composés phénoliques et flavonoïdes qui possèdent des activités astringentes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et

anti-oxydantes qui modulent et favorisent le développement d'une réaction inflammatoire appropriée.

- La phase de formation du tissu de granulation pour la période de J3-J9. Celle-ci montre une pente plus importante en ce qui concerne le lot traité avec la crème de *Pergularia*. Elle traduirait l'activité anti-oxydante des composés phénolique de la plante qui sont connues pour réduire la peroxydation lipidique, augmenter la viabilité des fibrilles de collagène en augmentant la force des fibres de collagène, réduire les altérations cellulaires en ralentissant ou empêcher la nécrose et favoriser la néovascularisation et la migration fibroblastique.

-La phase d'épithélialisation pour la période de J9 à J17. Les segments des courbes du lot positif et *Pergularia* redeviennent parallèles, la pente de celui des plaies de *Pergularia* est la plus élevée ce qui serait dû à un glissement épithélial plus facile sur un tissu de granulation de bonne qualité et un taux plus élevé d'épithélialisation grâce à sa grande teneur en composés phénoliques et flavonoïdes (Roupé *et al.*, 2010).

Le sud algérien est riche en plantes médicinales qui peuvent avoir des propriétés thérapeutiques, à titre d'exemple *Pergularia tomentosa* L. qui pousse à l'état spontané dans la région de Tamenrasset, cette plante est fréquemment employée pour ses vertus médicinales, car elle contient des principes actifs qui agissent sur l'organisme.

De nombreuses études ont été réalisées pour analyser les différentes propriétés des différentes parties de *Pergularia tomentosa*. Elles ont mis en évidence que ces différentes parties possèdent un grand nombre de propriétés pharmacologiques : anti-inflammatoire, antimicrobienne, antioxydants pour cette raison on s'est intéressé à l'étude de l'activité antibactérienne des aglycone flavonique et l'activité cicatrisante des extraits hydro-alcoolique de feuilles de la plante.

Les résultats des analyses quantitatives par spectrophotométrie des aglycones flavoniques des différents organes de *Pergularia tomentosa* montrent qu'ils sont majoritairement présents dans les feuilles avec une teneur de 69.76 mg/g de MVS, après les péricarpes avec une valeur de 11.02 mg/g de MVS, alors que les teneurs absolues des racines, tiges, et graines sont très faibles avec des valeurs de (0,01, 0,10 et 0,06) mg/g de MVS respectivement.

L'étude de l'activité antibactérienne des extraits flavonique des différentes parties de *Pergularia tomentosa* sur des microorganismes pathogènes s'est avérée importante, vu que cette plante a révélé une activité importante sur les 5 souches testées.

L'activité antibactérienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de souches testées qui sont : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Entérocoque sp* et *Klebsiella pneumoniae*.

Les souches testées ont montré une grande sensibilité aux extraits des différentes parties de la plantes avec des diamètres de zones d'inhibition variant entre 7 à 24.5 mm, mais ces extraits sont plus efficaces vis-à-vis les bactéries Gram positive que les bactéries Gram négative.

Les résultats de L'évaluation des propriétés cicatrisantes montrent que l'évolution des surfaces moyennes des plaies traitées par le MADECASSOL est meilleur par rapport à celles traitées par la vaseline pure, ainsi nous remarquons que l'évaluation des surfaces moyennes des plaies traitées par la crème à base d'extrait hydro-alcoolique de *Pergularai tomentosa* est

beaucoup plus rapide (très efficace) par rapport à celles traitées par la vasline ainsi meilleure que celles traitées par le MADECASSOL.

Ces résultats (de l'activité antibactérienne et l'activité cicatrisants) nous ont confirmé que *Pergularia tomentosa* est une plante médicinale qui élabore une importance non négligeable en médecine, En effet, les différentes parties utilisées de la plante possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques, Aussi on peut dire que cette plante peut être utilisée comme une source d'agents antimicrobiens et cicatrisants ce qui ouvre des perspectives intéressantes, eu testant d'autres doses pour un résultat meilleur.

Par le biais de ce travail, nous espérons avoir apporté tant soit peu à la médecine traditionnelle pour parvenir à mettre à la disposition de la population des médicaments à base de plantes médicinales efficaces et accessibles et nous envisageons de passer à des essais cliniques sur l'homme.

Anti-inflammatoire : qui fait dégonfler et diminuer l'irritation. La plupart des anti-inflammatoires sont aussi des antidouleurs.

Arbrisseau : Végétal ligneux (lilas, laurier-rose, etc.) de taille généralement médiocre, et dont la tige se ramifie le plus souvent dès la base

bisexués : Se dit d'un individu appartenant à une espèce monoïque, qui produit simultanément ou successivement des gamètes des deux sexes ou d'une spore qui donne naissance à un individu producteur des deux types de gamètes

Buissonnantes : Qui se présente sous forme de buisson.

Caillot : Petite masse coagulée dans le sang.

Cicatrice : Tissu fibreux remplaçant à titre définitif ou très prolongé un tissu normal après une lésion

Herbacé : ayant la consistance molle de l'herbe (non ligneux)

Endémique : Espèce endémique ou peu elle endémique. Espèce (animale ou végétale) localisée dans une aire restreinte

Ethnobotanique : Partie de l'ethnobiologie traitant des rapports entre un groupe humain et la flore.

Glycosides cardiotoniques : ou digitalique, est une classe thérapeutique de médicament utilisée en cardiologie. Le digitalique est une substance apparentée à la digitaline, issue de la digitale (plante).

Homéostasie : Tendance de l'organisme à maintenir ou à ramener les différentes constantes physiologiques (température, débit sanguin, tension artérielle, etc.) à des degrés qui ne s'écartent pas de la normale.

Inflorescence : manière dont les fleurs sont disposées sur la plante.

Orbiculaires : se dit d'un organe dont la surface se rapproche de la surface d'un cercle.

Parfumées : Remplir, imprégner d'une odeur agréable.

Plaie : Une plaie se définit par une rupture de la continuité des tissus de l'enveloppe corporelle, qui est généralement associée à une perte de substance

Plante vivace : Qui est doté d'une forte vitalité, qui est bâti pour vivre longtemps.

Pubescent : Qui est couvert d'un duvet de poils fins et courts. *Feuille, tige pubescente.*

Quercétine : La quercétine ou quercétol est un flavonoïde de type flavonol présent chez les plantes comme métabolite secondaire.

Annexe 1 :

Le matériel utilisé est indiqué dans le tableau suivant :

Tableau 1: Matériel non biologique.

Appareillage	Verreries et autres	Réactifs et solutions	Milieux de cultures
-Dispositif d'extraction (distillateur)	-Becher	-Eau physiologique	-Muller-Hinton
-Balance de précision	-Tubes à essai stériles	- Chlorure de sodium	-Gélose nutritive
-Support	-Pipette graduée	- Eau de javel	
-Réfrigérant	-Boîtes de pétri	-Eau distillée	
-Bain marie	-Papier filme	-Ether di-éthylique	
- Etuves	-pipette pasteur	-Ethanol à 95°	
-Bec benzène	-ballon en verre Pyrex	- Chlorure d'aluminium	
-spectrophotomètre	-Coton- tige	-Alcool	
-collecteur	- Coton	-Ketamile	
-autoclave	-pince	- Madécassol	
-vortex	- Cages en plastique	- Vaseline	
	- Serang		
	- Ciseau		
	- Les cages		
	- Cloche		

Annexe 2 :**Tableau 2 :** lecteur de zone d'inhibition (Baser et Buchbauer,2010).

Zone d'inhibition	La résistante
$Q < 6mm$	résistante
$6 mm < Q < 10mm$	Légèrement inhibitrice
$10mm < Q < 15mm$	Modérément inhibitrice
$15mm < Q < 20 mm$	Fortement inhibitrice
$Q > 20 mm$	Très Fortement inhibitrice

Annexe 3 :***Gélose Mueller Hinton (MH)**

Formule-type (g/L)

Infusion de viande de boeuf déshydratée.....300g

Hydrolysate de caséine.....	17.5
Amidon de maïs.....	15g
Agar-agar.....	18g
Eau distillé.....	1000ml
PH finale.....	7.3€0.1à2 ⁹ C

Stérilisation à 121/15nm.après refroidissement ,5ml de l'additif hectoen sont rajoutés au 225ml de la gélose hectoen

***Gélose Nnutritive**

FORMULE-type (g-L)

Peptone	10g
Extrait de viande	3g
Extrait de levure	3g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar-agar.....	18g
PH Final.....	1000ml

Stérilisation à 121⁰C-15mn.

Annaxe 4 :

Tableau.3 :Teneurs absolues deAglycones flavonoides des différentes parties de la plante *Pergulariatomentosa*.

	Moyenne	Ecart type
racines	0,01	0,00
tiges	0,10	0,01
feuilles	69,76	4,64
graines	0,06	0,06
péricarpe	11,02	0,43

Annexe 5

Liste des souches microbiennes testées

Klebsiella pneumoniae

Position taxonomique :

Règne : Eubacteria

Embranchement : Proteobacteria

Classe : Gamma proteobacteria

Ordre : Enterobacteriales

Famille : Enterobacteriaceae

Genre : Klebsiella

Espèce : *Klebsiella pneumoniae*



Description et pathogénéicité :

C'est un bacille Gram négatif. C'est une espèce isolée dans l'environnement à partir d'échantillon de sol, d'eaux de surface, d'eaux usées, de végétaux et de muqueuses des mammifères, en particulier la flore fécale. Elle est responsable d'infections broncho-pulmonaires et intra-abdominales (Carpentier, 1990). C'est surtout actuellement un agent d'infections néonatales (Posdcun et Ullman, 1998)

Staphylococcus aureus

Position taxonomique :

Règne : Eubacteria

Embranchement : Fimicutes.

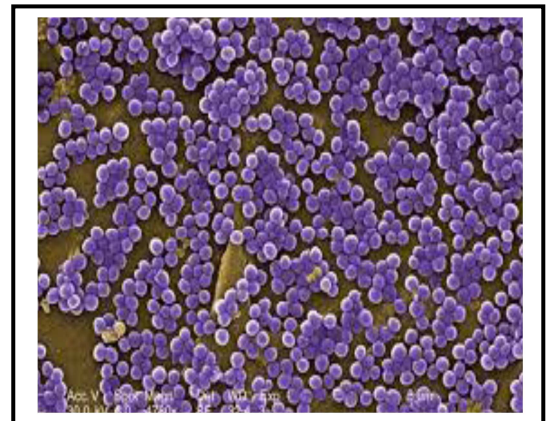
Classe : Bacilles.

Ordre : Bacillales.

Famille : Stphylococcaceae

Genre : Staphylococcus

Espèce : *Staphylococcus aureus*



Description et pathogénéicité :

C'est une bactérie de forme arrondie, groupée en grappe de raisin. Elle est gram positif et facultativement anaérobie. Elle se développe généralement sur les muqueuses nasales et la peau, dans les appariés gastro-intestinal et urinaire des animaux a sang chaud. Contrairement aux autres staphylocoques communs, S, aureus produit une coagulas qui est une enzyme responsable de la coagulation du sang.

S. aureus est l'agent pathogène le plus important chez l'homme, il cause des abcès, l'infection des blessures, des pneumonies, des empoisonnement alimentaires et d'autres maladies (Klein,1995).

Escherichia coli

Position taxonomique :

Règne : Bacteria

Embranchement : Proteobacteria

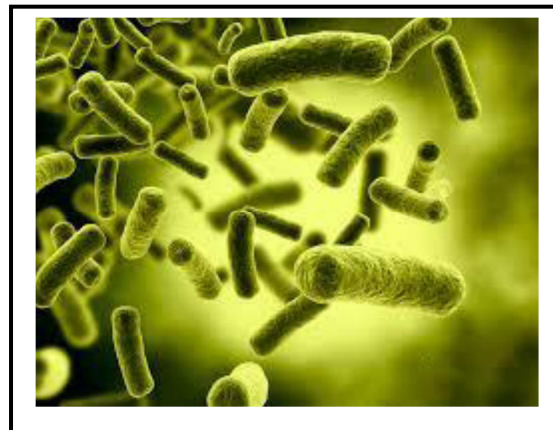
Classe : Gamma Proteobacteria

Ordre : Enterobacteriales

Famille : Enterobacteriaceae

Genre : Escherichia

Espèce : *Escherichia coli*



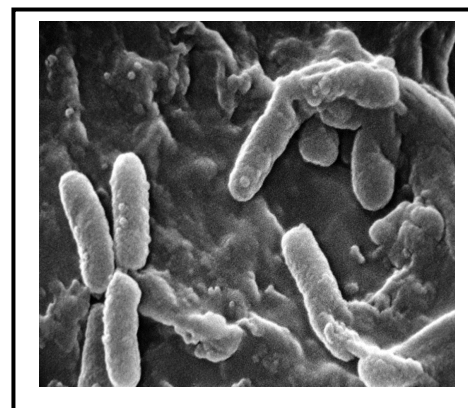
Description et pathogénéicité :

Escherichia coli, également appelée colibacille et abrégée en *E. coli*, est une bactérie intestinale (Gram négatif) des Mammifères, très commune chez l'être humain. En effet, elle compose environ 80 % de notre flore intestinale aérobie. Découverte en 1885 par Theodor Escherich, dans des selles de chèvres, c'est un coliforme fécal généralement commensal. Cependant, certaines souches d'*E. Coli* peuvent être pathogènes, entraînant alors des gastro-entérites, infections urinaires, méningites (Cryz *et al* 1984).

Pseudomonas aeruginosa

Position taxonomique

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



Description et pathogénéicité

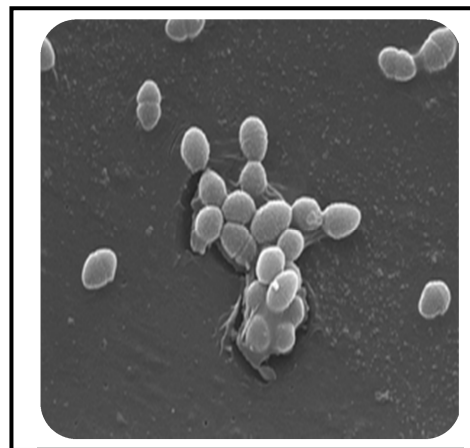
est une bactérie gram-négative du genre *Pseudomonas*. Les bacilles sont fins, droits et très mobiles grâce à un flagelle polaire : ciliature monotriche, dépourvus de spores et de capsules. Ils apparaissent la plupart du temps isolés ou en diplobacilles.

Elle peut, dans certaines conditions, être pathogène. Très résistante, elle est avec d'autres bactéries à gram-négatif de plus en plus souvent responsable d'infections nosocomiales. C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement. Le taux de mortalité atteint 50 % chez les patients vulnérables (immunodéprimés).

Enterococcus sp

Position taxonomique

Règne	<i>Bacteria</i>
Division	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Lactobacillales</i>
Famille	<i>Enterococcaceae</i>
genre	<i>Enterococcus</i>
Espés	<i>Enterococcus sp</i>



Description et pathogénéicité

Les entérocoques sont des coques à métabolisme aéro-anaérobie, dites cocci à Gram positif, se présentant habituellement sous forme de chaînettes. Ce sont des pathogènes opportunistes causant des septicémies, infections urinaires, ou abdominales d'origine intestinale. Ils sont la cause de plus de 10 % des infections nosocomiales.

Résumé

Le présent travail été orienté vers la recherche de nouveaux agents antibactériens naturels, et l'étude des propriétés cicatrisantes à partir des extraits d'une Asclepiadaceae ; plante qui pousse à l'état spontané au sud Algérien (Tamanraset).

Les résultats des dosages spectrophotométriques des Aglycones flavoniques des différents organes (feuilles, racine, tige, fruit et péricarpe) de notre plante , montrent que les feuilles sont majoritairement les plus riches en Aglycones flavoniques avec une teneur de 69,76mg/g de MVS, puis les péricarpes avec une teneur de 11,02mg/g de MVS, alors que, les teneurs absolues des racines, tiges et graines sont très faibles avec des valeurs de (0,01, 0,10 et 0,06) mg/g de MVS respectivement.

L'étude de l'activité antibactérienne a été effectuée sur 5 souches bactériennes par la méthode de diffusion sur disque. Les résultats obtenus indiquent que tous les extraits étherés des organes de *Pergularia tomentosa* se sont révélés activement inhibitrices vis à vis les souches testées, et sont beaucoup plus actives sur les bactéries à Gram positif et peu actives sur les bactéries à Gram négatif.

L'évaluation des propriétés cicatrisantes sur des rats blancs Winstar, montre que la crème préparée à base de 1% de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Pergularia tomentosa* réduit la surface des plaies mieux que la vaseline (témoin négatif), et le MADECASSOL (témoin positif). Les résultats obtenus montrent que *Pergularia tomentosa* posséderait une activité cicatrisante évidente qui concorde avec l'efficacité qui lui est reconnue dans la médecine populaire.

Les mots clés : plante médicinale, *Pergularia tomentosa*, activité antibactérienne, activité cicatrisantes.

Summary

This work was oriented towards the search for new natural antibacterial agents, and studying the healing properties from extracts of Asclepiadaceae; plant found growing wild in southern Algeria (Tamanraset).

The results of spectrophotometric assays flavonoid aglycone of different organs (leaves, root, stem, fruit and pericarp) of our plant, show that the leaves are mostly the richest in flavonoid aglycone with a grade of 69,76mg / g of MVS, then the pericarp with a content of 11,02mg / g MVS, while, the absolute concentrations of the roots, stems and seeds are very low, with values of (0.01, 0.10 and 0.06) mg / g MVS respectively.

The study of antibacterial activity was performed on 5 strains of bacteria by disc diffusion method. The results indicate that all of the ether extracts *Pergularia tomentosa* bodies were found actively inhibiting vis -a vis the strains tested, and are much more active against Gram positive bacteria and less active against Gram negative bacteria.

The evaluation of healing properties on Wistar white rats, shows that the cream prepared with 1% of the hydroalcoholic extract of leaves of *Pergularia tomentosa* reduced wound surface better than the vasline (negative control), and MADECASSOL (positive control). The results show that *Pergularia tomentosa* would possess an obvious healing activity consistent with the efficacy which it enjoys in folk medicine.

Keywords: herb, *Pergularia tomentosa*, antibacterial, wound healing activity.

ملخص:

لقد وجهنا هذا العمل نحو البحث عن عوامل مضادة للبكتيريا طبيعية و جديدة و كذا دراسة خصائص الشفاء من مستخلصات النباتات الخضراء Asclepiadaceae التي تنمو في جنوب الجزائر (تمنراست).

لدينا نتائج فحوصات الطيف الجزئي لـ aglycons flavoniques لمختلف مكونات النبتة (الأوراق، الجذور، السيقان، البذور والقشرة) بينت أن الأوراق هي الأغنى بقيمة 69,79 مغ/غ يليها تركيز القشرة بقيمة 11,02 مغ/غ بينما التركيزات المطلقة للجذور، السيقان والبذور منخفضة جدا بقيمة (0,01- 0,10- 0,06) على التوالي

تم إجراء دراسة النشاط المضاد للبكتيريا علي 5 سلالات عن طريق الانتشار القرصي و تشير النتائج الي أن جميع خلاصات أعضاء النبتة لها فعالية ضد سلالات البكتيريا المجربة . و كذا ان نشاطها ضد البكتيريا Gram+ فعال أكثر من نشاطها علي البكتيريا - Gram .

تقييم الخصائص العلاجية على الفئران البيضاء ويستار، يدل على أن الكريم أعدت مع 1% من الخلاصة كحولية من أوراق *Pergularia tomentosa* خفضت سطح الجرح أفضل من المراقبة الإيجابية (MADECASSOL) و (المراقبة السلبية) Vasline وأظهرت النتائج أن *Pergularia tomentosa* تمتلك نشاطا الشفاء واضح يتفق مع فعالية الذي يتمتع به في الطب الشعبي

الكلمات المفتاحية : النباتات الطبية، *Pergularia tomentosa*، aglycone flavonoique، مضاد للجراثيم، النشاط الشفاء