

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Ghardaïa



جامعة غرداية

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

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض  
قسم العلوم الفلاحية

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de  
Master académique en Sciences Agronomiques  
Spécialité : Protection des végétaux

## THEME

# *Recherche de l'activité antimicrobienne des extraits de quelques plantes Sahariennes*

Soutenu publiquement le : 18/06/2014

Présenté par : HOUARI Amina

### Membres du jury

M. SADINE Salah Eddine

M. BEN BRAHIM Fouzi

M. KEMASSI Abdellah

### Grade

Maître assistant B.

Maître assistant A.

Maître assistant A.

Président

Encadreur

Examineur

JUIN 2014



## *Dédicace*

*Merci Allah (mon Dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et du bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire « Ya Kayoum »*

*Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour ma réussite et mon bonheur, à ma chère maman. A mon père, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie.*

*Je n'oublierai jamais mes chers grands-parents et leur domicile du savoir et de la bonne éducation où j'ai ouvert mes yeux pour la première fois, mes tantes : Aicha, Sabrina, Habiba, Lamia, mes oncles et mes frères : Yazid, Amine et mon adorable sœur Sarah.*

*A tous ceux qui m'aiment,*

*A tous ceux que j'aime*

*Je dédie mon travail.*

*HOUARIA Amina*



## Remerciement

En préambule à ce mémoire, je souhaitais adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Je tiens à remercier sincèrement Monsieur BENBRAHIM Fouzi, qui, s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu me consacrer et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur SADINE Salah Eddine, Maitre assistant à l'université de Ghardaïa, d'avoir honoré et présider mon jury ; Monsieur KAMASSI Abdallah, Maitre assistant à l'université de Ghardaïa, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

J'exprime ma gratitude au personnel de laboratoire de microbiologie « hôpital de Sidi Abbaz » lors des recherches effectuées et qui ont accepté de m'accueillir et de répondre à mes questions avec gentillesse.

Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à tous ceux et celles qui, patiemment et efficacement, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Merci à tous et à toutes.

**Liste des tableaux**

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
Tableau 1	Coordonnées de la région de prélèvement	12
Tableau 2	Différentes parties utilisées pour l'extraction	25
Tableau 3	Diamètre des zones d'inhibition à différentes concentrations	31
Tableau 4	Diamètre des zones d'inhibition	34
Tableau 5	Diamètre des zones d'inhibition à différentes concentrations	38

---

---

**Liste des figures**

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
Figure 1	Squelette de base des flavonoïdes	5
Figure 2	<i>Pergularia tomentosa</i> L.	14
Figure 3	<i>Pituranthos chloranthus</i> BENTH. & HOOK.	16
Figure 4	Observation macroscopique de <i>Candida albicans</i>	18
Figure 5	Observation macroscopique de <i>Penicillium spp.</i>	19
Figure 6	Observation microscopique de <i>Penicillium spp.</i>	20
Figure 7	Observation microscopique d' <i>Alternaria spp.</i>	21
Figure 8	Observation macroscopique d' <i>Alternaria spp.</i>	22
Figure 9	Observation microscopique de <i>Staphylococcus spp.</i>	23
Figure 10	Observation microscopique de <i>Proteus spp.</i>	24
Figure 11	Montage d'extraction par reflux	26
Figure 12	Montage de Rotorvapor	26
Figure 13	Différentes concentrations d'extrait végétal obtenues par dilution	27
Figure 14	Principe de la méthode de diffusion par disque	28
Figure 15	Diamètre des zones d'inhibition de <i>P. tomentosa</i> relatif aux différentes souches fongiques	31
Figure 16	Diamètre des zones d'inhibition de <i>P. tomentosa</i> relatif aux différentes souches fongiques	32
Figure 17	Diamètre des zones d'inhibition de l'HF de <i>P. tomentosa</i> relatif aux différentes souches fongiques	34
Figure 18	Diamètre des zones d'inhibition de l'HF de <i>P. chloranthus</i> relatif aux différentes souches fongiques	35
Figure 19	Diamètre des zones d'inhibition de <i>P. tomentosa</i> relatif aux différentes souches bactériennes	38
Figure 20	Diamètre des zones d'inhibition de <i>P. chloranthus</i> relatif aux différentes souches bactériennes	39
Figure 21	Fruits de <i>Pergularia tomentosa</i> L.	55

---

---

Figure 22	Fleurs de <i>Pergularia tomentosa</i> L.	55
Figure 23	Différentes étapes de préparation des grains des plantes	57
Figure 24	Macération des grains à l'acétone	57
Figure 25	Boîtes de Pétri de <i>Candida albicans</i> traitée par l'extrait aqueux de <i>P. tomentosa</i> et <i>P. chloranthus</i> à différentes concentrations	58
Figure 26	Boîtes de Pétri de <i>Alternaria spp.</i> traitée par l'extrait aqueux de <i>P. tomentosa</i> et <i>P. chloranthus</i> à différentes concentrations	58
Figure 27	Boîtes de Pétri de <i>Penicillium spp.</i> traitée par l'extrait aqueux de <i>P. tomentosa</i> et <i>P. chloranthus</i> à différentes concentrations	58
Figure 28	Différentes zones d'inhibition	59
Figure 29	Boîtes de Pétri de <i>Staphylococcus spp.</i> traitée par l'extrait aqueux des plantes à différentes concentrations	59
Figure 30	Boîtes de Pétri de <i>Staphylococcus spp.</i> traitée par l'extrait aqueux des plantes à différentes concentrations	59
Figure 31	Préparation de milieu de culture	60

---

**Liste des abréviations**

<b>AFNOR</b>	: Association Française de Normalisation
<b><i>C. albicans</i></b>	: <i>Candida albicans</i>
<b>CMI</b>	: Concentration minimal inhibitrice
<b>Fig.</b>	: Figure
<b>HES</b>	: Huile essentielle
<b>HF</b>	: Huile fixe
<b>I.S.O</b>	: Organisation internationale de normalisation
<b>I.T.A.B.</b>	: Institut Technique de l'Agriculture Biologique
<b>I.T.E.I.P.M.A.I.</b>	: Institut Technique Interprofessionnel des Plantes à Parfum, Médicinales et Aromatiques
<b>g</b>	: Gramme
<b>L</b>	: Litre
<b>ml</b>	: Millilitre
<b>mm</b>	: Millimètre
<b>AMH</b>	: Agar Mueller Hinton
<b><i>P. tomentosa</i></b>	: <i>Pergularia tomentosa</i>
<b><i>P. chloranthus</i></b>	: <i>Pituranthos chloranthus</i>
<b>PDA</b>	: Potatose Dextrose Agar
<b>PO<sup>2</sup>N</b>	: Pesticides Organiques d'Origine Naturelle

---



➤ Pouvoir pathogène.....	21
➤ Aspect microscopique.....	21
➤ Aspect macroscopique.....	22
1.2.1.4. <i>Staphylococcus spp</i> .....	22
➤ Position systématique.....	22
➤ Habitat.....	23
➤ Pouvoir pathogène.....	23
1.2.1.5. <i>Proteus spp</i> .....	23
➤ Position systématique.....	23
➤ Habitat.....	24
➤ Pouvoir pathogène.....	24
➤ Caractères principaux.....	24
1.2.2. Choix de milieu de culture.....	24
2. Méthodes.....	25
2.1. Extraction des principes actifs.....	25
2.2. Protocole d'extraction.....	25
2.2.1. Macération à l'acétone.....	25
2.2.2. Préparation des extraits aqueux.....	26
2.2.3. Choix des concentrations.....	27
2.3. Méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	27
2.3.1. Test en milieu solide.....	27
2.4. Techniques d'étude.....	28
2.4.1. Préparation du milieu de culture.....	28
➤ Préparation du milieu PDA.....	28
➤ Préparation du milieu MH.....	28
2.4.2. Préparation de l'inoculum.....	29
2.4.3. Ensemencement.....	29
2.4.4. Dépôt des disques.....	29
2.4.5. Incubation.....	29
2.4.6. Lecture.....	29
2.5. Pourcentage d'efficacité.....	30
2.6. Analyse statistique.....	30
<b>Troisième partie : Résultats et discussions</b>	
<b>Chapitre III : Résultats et discussions.....</b>	<b>31</b>
1. Effet antifongique des extraits aqueux.....	31
2. Effet antifongique des huiles fixes.....	34
3. Discussion.....	36
4. Effet antibactérien des extraits aqueux.....	38
5. Discussion.....	41
<b>Conclusion.....</b>	<b>43</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>45</b>
<b>Annexe.....</b>	<b>55</b>

---

## **Introduction**

Depuis plus de 2000 ans, l'homme a eu recours à des produits naturels pour protéger ses cultures ;

- Ainsi, en 460 av. J.C., Démocrite d'Abdène conseillait de faire tremper les graines dans des sucres de sédum (*Calotropis procera*) avant leur ensemencement afin de protéger les plantes de maladies ;
- À Rome, Pine l'ancien (79 av. J.C.) suggérait d'utiliser des cendres de feuilles de cyprès finement broyées pour lutter contre certaines maladies ;

C'est à partir du 19<sup>e</sup> siècle, lorsque l'Irlande fut frappée par une épidémie majeure qui décima la totalité des récoltes de pomme de terre entraînant une famine considérable, que l'utilisation des produits chimiques de synthèse a pris son essor (BENHAMOU, 2012).

Les pesticides chimiques ont certes permis l'amélioration des rendements en agriculture. Cependant leur utilisation abusive pour lutter contre les organismes nuisibles mine l'équilibre naturel de l'écosystème agricole : elle perturbe les populations de parasitoïdes et de prédateurs et provoque ainsi des infestations de ravageurs secondaires (LEWIS, 1997), le développement fréquent de résistance des agents pathogènes aux doses préconisées, l'accumulation de résidus toxiques dans la chaîne alimentaire, qui agit directement sur la santé du consommateur (BENHAMOU, 2012). Les implications à court et à long terme de ces utilisations abusives restent encore difficiles à évaluer.

De ce fait, beaucoup de ces pesticides deviennent inefficaces, voir obsolètes ; la recherche continue de nouveaux produits reste donc une nécessité à laquelle il faut répondre.

Depuis quelques années, la protection biologique connaît un regain d'intérêt, alimenté par le souci croissant d'une meilleure protection de l'environnement, et par le désir de qualité des produits imposée par les consommateurs. L'utilisation d'agents de lutte biologique est devenue une réalité en agriculture en particulier pour le contrôle des microorganismes pathogènes, avec l'emploi d'extraits de plantes. Le choix de lutte biologique à travers l'utilisation de ces derniers ou bien de leurs produits majoritaires est une solution prometteuse permettant d'éviter les effets secondaires causés par les produits chimiques (AJOUZ, 2009).

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes : on y trouve plus de 3000 espèces végétales (DURAFFOURD et *al.*, 1997).

A l'instar des autres régions d'Algérie, le Sahara dispose d'une biodiversité floristique exceptionnelle, constituée de 500 espèces, dont on dénombre 162 espèces endémiques dans le Sahara Septentrional seul à laquelle s'ajoute une tradition séculaire de pharmacopée traditionnelle (OZENDA, 1991 ; CHEHMA, 2006). Parmi ces ressources naturelles, les plantes spontanées des zones arides sont considérées comme l'une des ressources phytogénétiques qui présentent un intérêt agronomique, économique, écologique mais aussi stratégique (UNESCO, 1960).

Par ailleurs, beaucoup de plantes sont connues pour leurs grandes potentialités métabolites de substances dites secondaires. Ces composés sont synthétisés dans les différentes parties de la plante (racines, feuilles, tige,...) (HOGAN et *al.*, 2002).

L'utilisation des principes actifs des plantes, en tant qu'agents antimicrobiens présente deux avantages principaux: le premier est leur origine naturelle qui signifie plus de sécurité pour la population et l'environnement et la seconde est qu'elles ont été considérées à faible risque de développement de la résistance par des microorganismes pathogènes (TATSADJIEU et *al.*, 2010).

De notre côté, et dans le cadre de recherche sur les procédés de lutte biologique basée sur l'utilisation des extraits de plantes, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits de quelques plantes sahariennes poussant dans la région de Ghardaïa.

Notre étude consistant à ce travail est divisée en trois parties :

- La première partie est une synthèse bibliographique.
- La deuxième prendra en compte les matériels et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail.
- La troisième partie traitera les résultats obtenus lors de cette étude, et notre travail est achevé par une conclusion et des perspectives.

## **Chapitre I. Métabolites secondaires**

Les plantes synthétisent une gamme très vaste de composés organiques qui sont traditionnellement considérés comme métabolites primaires qui fournissent les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides). Les plantes produisent, en plus, un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés métabolites secondaires (MOHAMMEDI, 2013 ; BOUYANZER et *al.*, 2010).

### **1. Métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires des végétaux peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal. Ces métabolites secondaires exercent cependant une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement. Ils participent ainsi, de manière très efficace, à la tolérance des végétaux à des stress variés (attaques de pathogènes, prédatations d'insectes,..). D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on retrouve chez les plantes médicinales (JUDD et *al.*, 2002 ; MANSOUR, 2009).

Les métabolites secondaires sont également d'un intérêt en raison de leur utilisation comme colorants, fibres, colles, huiles, cires, agents aromatisants, des médicaments et des parfums, et ils sont considérés comme des sources potentielles de nouveaux médicaments naturels, des antibiotiques, insecticides et les herbicides (EDDY et *al.*, 2010 ; KUMPAWAT et *al.*, 2010).

Enfin, les métabolites secondaires constituent un groupe très hétérogène par sa nature chimique comme par sa répartition systématique, sa localisation anatomique et leurs actions physiologiques supposées. Parmi les familles chimiques les plus connues par ces effets biologiques il y a : les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes (PETER, 2003).

## 1.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont une vaste classe de substances organiques cycliques très variées, d'origine secondaire qui dérivent du phénol  $C_6H_5OH$  qui est un monohydroxybenzène. Les composés phénoliques sont fort répandus dans le règne végétal ; on les rencontre dans les racines, les feuilles, les fruits et l'écorce. Dans la nature, ces composés sont généralement dans un état lié sous forme d'esters ou plus généralement d'hétérosides. Ils existent également sous forme de polymères naturels (tanins). Le groupe le plus vaste et plus répandu des phénols est celui des flavonoïdes (WALTON et al., 1999).

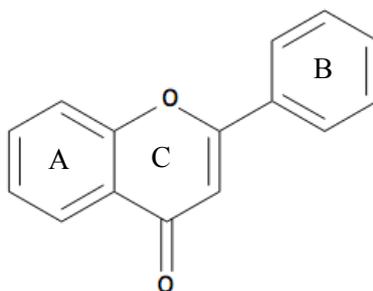
Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans l'utilisation que fait l'homme des végétaux. Il peut en effet intervenir :

- Dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, interaction avec certains microorganismes symbiotiques ou parasite,...) ;
- Dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relation avec les bactéries, les champignons, les insectes,...) ;
- Dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (MACHEIX et al., 2005).

### 1.1.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (RICE-EVANS et al., 1998). Dans la nature, les flavonoïdes sont généralement glycosylés, ces sucres ainsi que les groupes hydroxyles augmentent leur solubilité dans l'eau, d'autres substitutions tels les méthyles et isopentyles, rendent les flavonoïdes lipophiles (CROZIER et al., 2006).

Chez les plantes, les flavonoïdes (Fig. 1) jouent un rôle dans la protection de la plante contre les UV et de défense contre les pathogènes et les insectes ravageurs. Elles sont aussi impliquées dans la pigmentation, la stimulation de fixation de l'azote et la résistance aux maladies (RUTHVEN, 1984 ; THOMAS, 1980).



**Figure 1** : Squelette de base des flavonoïdes (BRUNETON, 1999)

Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules dont les plus importantes sont : les flavones, les flavonols, les flavanones, les isoflavones et les anthocyanidines (HARBONE, 1980) (Annexe 3).

### 1.1.2. Tanins

Les tanins sont une famille complexe de principes actifs qu'on trouve dans l'ensemble des végétaux, et dans toutes leurs parties (écorces, racines, feuilles, etc.). Ils ont la capacité de former des complexes avec des macromolécules (les protéines...) et des liaisons entre les fibres de collagènes, d'où leur viennent la plupart de leurs propriétés. Elles sont des métabolites secondaires des plantes, leur conférant une protection contre les prédateurs (herbivores et insectes) (PAOLINI et *al.*, 2003).

En outre, les tanins ont un très grand pouvoir antibactérien (BASSENE et *al.*, 1995 ; BABA MOUSSA, 1998) et antiviral (POUSSET et *al.*, 1993 ; HONG et *al.*, 2000).

## 1.2. Terpénoïdes (terpènes ou isoprénoïdes)

Les terpènes sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux, ils résultent de l'enchaînement de plusieurs unités isoprénique à 5 atomes de carbone  $C_5H_8$  (BHAT et *al.*, 2005).

Sur le plan économique, l'importance des terpènes des plantes ne cesse de croître (LANDOLT, 1993). La culture du matériel végétal spécifiquement pour sa teneur en terpènes est maintenant une activité économique majeure (GABRIELLI et *al.*, 1974).

### **1.2.1. Alcaloïdes**

Les alcaloïdes forment une grande famille hétérogène de métabolites secondaires, qui présentent un intérêt par leurs propriétés pharmacologiques et leurs applications en médecine (MOHAMMEDI, 2013). Elles sont un groupe diversifié de substances organiques azotés d'origine végétale, à caractère alcalin, de faibles poids moléculaires et présentant des structures complexes. La plus part des alcaloïdes sont issus des acides aminés et se trouvent dans environ 20% des espèces végétales (JORCIN, 2007)

Comme métabolites secondaires, les alcaloïdes sont supposés jouer un rôle défensif dans la plante contre les prédateurs (herbivores et carnivores) et à un degré moindre contre les bactéries, les champignons et les virus (BAZZI et *al.*, 2002).

### **1.2.2. Saponosides**

On entend par saponosides (mot latin «sapon», savon ; «saponaire», l'herbe à savon), des hétérosides à aglycones de structure stéroïde ou triterpénique qui tiennent une grande place parmi les substances d'origine végétale (ROBINET, 1951).

Les saponosides ont une activité expectorante, ils rendent un peu moussant la muqueuse des bronches inflammatoires et facilitent l'expectoration. De plus, ils sont de puissants hémolytiques, ils possèdent également des propriétés édulcorantes, largement utilisées dans l'industrie agro-alimentaire (BRUNETON, 1999).

D'autre part les travaux de STEINMETZ et *al.* (1993), ont mis en évidence l'activité antifongique de saponosides triterpéniques extraits du lierre sur les levures et les dermatophytes.

## **1.3. Les huiles essentielles**

### **1.3.1. Généralités**

L'origine des huiles essentielles remonte à l'apparition des méthodes d'extraction, mais ces dernières étant compliquées et améliorées avec le temps, ne permettent pas de suivre l'évolution de différentes découvertes. Il est ainsi difficile d'établir un historique précis (GROSJEAN, 2007).

Au début du XVII<sup>e</sup> siècle, Paracelse médecin Suisse, considéré comme le père de la pharmaco-chimie, étudia l'extraction de « l'âme » des végétaux sous forme de « cinquième essence » à laquelle on donnera le nom « d'esprit » puis « d'essence » et finalement « d'huile essentielle ». Le terme huile provient du fait que les substances volatiles contenues dans le végétal sont visqueuses et hydrophobes. Elles ont la propriété de se solubiliser dans les huiles et les graisses. La domination « essentielle » reflète le caractère principal des plantes à dégager des odeurs agréables (KAMBOUCHE *et al.*, 2003).

### 1.3.2. Définition

En 1965, la pharmacopée française donne une définition officielle des HES : « Produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation » (PHARMACOPÉE FRANÇAISE, 1965).

Selon la monographie de la pharmacopée européenne, la matière première végétale peut être fraîche, flétrie, sèche, entière, à l'exception des fruits du genre Citrus qui sont toujours traités à l'état frais (PHARMACOPÉE EUROPEENNE, 2009).

En général les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles et odorantes qui sont sécrétées par les plantes aromatiques que l'on extrait par divers procédés dont l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation (ISERIN, 2001).

D'après BRUNETON, les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleur, des écorces, des bois, des racines, des rhizomes, des fruits et des graines. Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation (BRUNETON, 1993).

Les huiles essentielles n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Parmi les 1 500 000 espèces végétales, 10% seulement sont dites « aromatiques », c'est-à-dire qu'elles synthétisent et sécrètent des infimes quantités d'essence aromatique (BRUNETON, 1999 ; DEGRYSE *et al.*, 2008).

Les fonctions possibles des huiles essentielles sont multiples (protection contre les prédateurs de la plante, attraction des insectes pollinisateurs, inhibition de la germination et de

la croissance, inhibition de la multiplication des bactéries et des champignons). Il est souvent difficile de les préciser pour chaque cas particulier (RICHTER, 1993).

Il semble donc que certaines huiles, dans la plantes, fassent parties d'un système de protection non spécifique. Une agression peut alors engendrer la production plus importante de l'huile essentielle (COUDERC, 2001).

Plusieurs études sont en cours pour évaluer l'intérêt des huiles essentielles dans la protection des cultures. On peut citer par exemple celles menées par l'ITAB qui, en 2012, a travaillé sur l'inscription de certaines plantes en tant que substances de base, mais aussi celles menées par PO<sup>2</sup>N (Pesticides Organiques d'Origine Naturelle), association qui a pour but de partager les connaissances et faire connaître les différents travaux réalisés dans les pays francophones sur les molécules ou extraits naturels à activité de type pesticide (ITEIPMAI, 2013).

L'utilité des HES pour les plantes désertiques, a été rattachée à la conservation d'une humidité indispensable à la vie des plantes, exposée à des climats désertiques (BELAICHE, 1979).

Les méthodes d'extractions des huiles essentielles obéissent à des normes comme celle de l'AFNOR NF T75-006 qui précise que seul l'entraînement à la vapeur, les procédés mécaniques et la distillation à sec peuvent produire une huile essentielle.

Cependant l'AFNOR et l'ISO ont donné une définition qui prend en compte le mode d'obtention des HES : « sont des produits obtenus d'une matière première végétal, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation à sec, l'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (ISO, 1997 ; AFNOR, 2000).

## **2. Activité biologique des plantes**

Les vertus des plantes médicinales, aromatiques et de leurs huiles essentielles sont connues et utilisées depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des applications et des pratiques traditionnelles sans aucunes bases scientifiques précises. Cependant, durant ces dernières décennies, elles sont devenues sources d'activités antimicrobiennes (LAGHOUTER, 2012).

On attribue aux extraits de plantes aromatiques et notamment aux HE un certain nombre d'activités biologiques potentielles susceptibles de trouver des applications en agroalimentaire (ALITONOU *et al.*, 2008).

L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques (DORMAN *et al.*, 2000 ; ZHIRI, 2006). Ces HES ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (AMARTI, 2009).

Parmi les composants majoritaires des huiles essentielles, nous trouvons les terpénoïdes qui possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteur de la germination, mais aussi lors des interactions Végétal-animal, comme agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes (BEKHECHI *et al.*, 2008).

Plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques des plantes aromatiques et médicinales, en particulier leurs pouvoirs antifongiques (MOLEYAR *et al.*, 1986 ; BADEAA *et al.*, 2002), antibactériens (BOURKHISS *et al.*, 2007), antioxydants (BEN HALIMA *et al.*, 2008) et insecticides (BOUCHIKHI *et al.*, 2012).

## **2.1. Phénomène d'allélopathie**

L'allélopathie est un phénomène impliquant soit des effets directs ou indirects que ce soit positif ou négatif, d'une plante (y compris les micro-organismes) sur une autre plante à travers la libération des substances chimiques dans son environnement (RICE, 1984). Il est donc un phénomène très important quoiqu'elle permette à une plante de conquérir un territoire et de s'y maintenir face à la concurrence des autres espèces (ROBERT *et* CATESSON, 2000).

Les substances rejetées dans le milieu par les plantes supérieures sont des métabolites secondaires (antibiotiques, toxines, inhibiteurs de germination ou de croissance) qui peuvent être synthétisés par les plantes vivantes ou être issues de la décomposition en débris toxiques d'une plante morte (ROMARI, 2004).

## 2.2. Activité antimicrobienne

Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aurait fallu attendre le début du 20<sup>ème</sup> siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (BOUAOUN et *al.*, 2007). De nombreuses études ont prouvé les activités antimicrobiennes de diverses plantes (DORMAN et *al.*, 2000 ; SCHELZ et *al.*, 2006)

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est principalement fonction de leur composition chimique, en particulier de leurs composés volatils majeurs, elle est souvent considérée comme caractéristique des huiles essentielles (BOUHADJERA, 2005 ; YAKHLEF, 2010).

L'essor de la chimie a permis l'apparition de nouvelles substances antimicrobiennes. Ces dernières sont définies comme étant des substances utilisées pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris les antibiotiques et autres agents antibactériens et antifongiques (COMMISSION EUROPEENNE, 2001 in KECHKAR, 2008).

Cependant, en raison du souci croissant des consommateurs aux denrées contenant de tels additifs chimiques, la recherche des additifs naturels, particulièrement d'origine végétale, a notamment augmenté ces dernières années. Par conséquent, le développement des produits naturels possédant une activité antibactérienne s'avère nécessaire et utile (ROZMAN et *al.*, 2009).

### 2.2.1. Action antibactérienne

Beaucoup d'études ont été réalisées au sujet de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes et de leurs huiles essentielles (BOUSBIA, 2004), ces activités sont liées essentiellement à la composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires de ces extraits et à leurs effets synergiques (HERNANDEZ-OCHOA, 2005 ; BOUBRIT et *al.*, 2007).

### 2.2.2. Activité antifongique

De nombreuses plantes, pour se protéger de l'attaque par des champignons, des bactéries ou des virus, synthétisent des substances de défense. Ces dernières peuvent présenter non seulement un intérêt pour l'agrochimie mais également pour la pharmacie (HOSTETTMANN, 1986). Un grand nombre des plantes médicinales ont une action antifongique. Certaines d'entre ces plantes ont fait leurs preuves au laboratoire, d'autres par contre, restent dans les déclarations des utilisateurs, sans aucune vérifications scientifiques (KONGO, 2009).

L'action antifongique des huiles essentielles est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure (MANN et *al.*, 2000).

## Chapitre II. Matériels et méthodes

L'Algérie, de sa position géographique, bénéficie d'une gamme très variée de climats et de sols favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée.

La flore saharienne connue par sa bio-résistance au climat aride est riche en espèces qui poussent à l'état sauvage. A cette richesse naturelle s'oppose cependant une rareté des stratégies adoptées pour sa valorisation. En effet, la majorité des espèces sont encore mal connues et largement sous exploitées (MAKHLOUFI, 2013).

### 1. Matériels utilisés

#### 1.1. Matériel végétal

##### 1.1.1. Choix des plantes

Les plantes constituent une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives. Ainsi, les qualités antimicrobiennes de ces dernières sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20<sup>ième</sup> siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (CAILLET et LACROIX, 2014). Notre choix des plantes est basé sur : Leur toxicité et leur pouvoir allélopathique (ABIOLA et *al.*, 1993 ; MAMAN, 2003 ; IUCN, 2005), leur utilisation en pharmacopée traditionnelles (OZENDA, 1977 ; BENCHELAH et *al.*, 2000 ; CHEHMA, 2006 ; AMANI et *al.*, 2010) et la présence des substances bioactifs qu'ils sont les sources des activités antimicrobiennes (UNESCO, 1960 ; SHINKAFI, 2014).

##### 1.1.2. Période de récolte

Les plantes ont été récoltées dans la région d'Oued Metlili (Ghardaïa) durant le mois de Février 2014.

Les caractéristiques géographiques d'Oued Metlili sont résumées dans le tableau 1

**Tableau 1** : Coordonnées de la région de prélèvement

Latitude	32° 14' Nord
Longitude	3° 47' Est
Altitude	428 m

### 1.1.3. *Pergularia tomentosa* L.

#### 1.1.3.1. Position systématique :

D'après OZENDA 1991, sa position systématique est comme suit :

Embranchement	Spermaphytes
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Rosidae
Ordre	Gentianales
Famille	Asclepiadaceae
Genre	<i>Pergularia</i>
Espèce	<i>Pergularia tomentosa</i> L. (OZANDA, 1991)

#### 1.1.3.2. Description botanique :

C'est une plante herbacée vivace pouvant dépasser 1 m de hauteur. Les jeunes rameaux volubiles s'enroulent fréquemment autour des plus anciens lui donnant un aspect touffu (Fig. 2) (SITOUH, 1989):

- Tige : couverte de courts poils verdâtres, grimpante ou volubile, tomenteuse à l'état jeune;
- Feuilles: Opposées, vert amande, ovales ou arrondies, en cœur à la base;
- Inflorescence: En grappes abondantes au bout de longs pédoncules;
- Fruits: Composés de deux follicules, portent de petites pointes;
- Habitat: Lits d'oued et dépression à fond rocheux;
- Répartition: Assez commun dans tout le Sahara;
- Période de végétation: Floraison en avril (CHEHMA, 2006).



**Figure 2 :** *Pergularia tomentosa* L. à Oued Metlili, Ghardaïa (Février 2014)

### 1.1.3.3. Usages des plantes:

L'ingéniosité des populations a tiré profit des plantes spontanées par de multiples usages qu'il serait trop long à énumérer ici. Leur importance dans l'alimentation humaine est négligeable, mais n'en va même pour celle des animaux domestiques et notamment pour les troupeaux de dromadaire. *Pergularia tomentosa* L., est une plante dite médicinale possédant des propriétés médicamenteuses. Elle est utilisée en pharmacopée traditionnelle de nombreuses populations (CHEHMA, 2006).

*Pergularia tomentosa* L. peut être utilisé comme une source de substances nutritives et antifongiques.

- Feuilles : Utilisation de la sève comme médicament dans le traitement pour les yeux.
- A l'état sec, elle est utile en médecine traditionnelle pour traiter les douleurs dentaires et la fatigue générale et constitue aussi un palliatif alimentaire pour le bétail pendant les moments difficiles de l'année.
- Elle est utilisée en tannerie en milieu rural (BENCHELAH et *al.*, 2000 ; CHEHMA, 2006).

La présence des alcaloïdes, des glycosides, des saponines, des flavonoïdes, des tanins et anthraquinones dans les extraits de cette plante du Sahara peut être attribuée à des actions antifongiques et antimicrobiennes de *Pergularia tomentosa* (UNESCO, 1960).

### **1.1.4. *Pituranthos chloranthus* BENTH. & HOOK.**

#### **1.1.4.1. Position systématique :**

Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicotylédones
Sous-classe	Melophyta Choripetalae
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	<i>Pituranthos</i>
Espèce	<i>Pituranthos chloranthus</i> BENTH. & HOOK., 1894

#### **1.1.4.2. Description botanique :**

Selon OZENDA, est une plante dont les tiges sont ramifiées dès la base, plus ou moins dichotomes et portant des ombelles longuement pédonculées; pétales verdâtres à nervures dorsales pubescentes et larges, fruits poilus (Fig. 3) (OZENDA, 1977).

C'est une plante vivace, de 0,5 à 1 mètre de haut :

- Tige : vert jaunâtre, en forme de joncs, ramifiées dès la base ;
- Feuille : petite (réduit à des écailles) rapidement caduque ;
- Inflorescence : en ombelles disposées aux sommets des tiges ;
- Fleur : verte, à pétale large portant des poils sur leur nervure dorsale ;
- Fruit : akène ovoïde, de 1 à 2 mm de diamètre, poilues (CHEHMA, 2006).



**Figure 3 :** *Pituranthos chloranthus* BENTH. & HOOK. à Oued Metlili, Ghardaïa (Février 2014)

#### **1.1.4.3. Usage des plantes:**

*Pituranthos chloranthus*, appelée localement Guezzeh, est une plante aromatique dont les feuilles et les fleurs utilisées en infusion ou en décoction pour soigner les indigestions, les maux d'estomac ainsi que les maux du bas ventre, en cataplasme sur la tête, contre les céphalées. Elle est commun dans tout le Sahara septentrional et occidental jusqu'à EL Golea et au Tademaït au sud (CHEHMA, 2006 et OZENDA, 1977).

#### **1.1.4.4. Toxicité des plantes:**

Les nomades connaissent le haut pouvoir allergisant des plantes du genre *Pituranthos* pour les animaux, en période de leur floraison.

En effet, le pollen de l'espèce *P. chloranthus* engendre des ophtalmies graves, quand il pénètre dans les yeux des animaux. Le dromadaire en particulier y est très sensible. Très allergisant, ce pollen rend les animaux aveugles pendant plusieurs jours. Les nomades traitent ces ophtalmies en instillant dans les yeux du dromadaire, du jus de tabac ou en introduisant du sel sous les paupières (BELLAKHDAR, 1997 ; IUCN, 2005).

## 1.2. Matériel microbien

### 1.2.1. Origine et choix des souches microbiennes

Les souches fongiques choisies dans cette étude sont des champignons telluriques sur la base de leurs implications fréquentes dans la contamination et l'altération des denrées alimentaires. Les souches testées sont : *Alternaria spp.*, *Penicillium spp.* et une levure *Candida albicans*

Les souches bactériennes choisies sont des bactéries pathogènes et impliquées fréquemment dans la contamination des denrées alimentaires et donc sur le corps humain. Deux bactéries ont été utilisées *Staphylococcus spp.* et *Proteus spp.*, ces souches ont été isolées par le service de microbiologie au laboratoire central de « l'Hôpital de SIDI ABBAZ » (GHARDAIA).

#### 1.2.1.1. *Candida albicans*

➤ **Position systématique**

Règne	Fungi
Division	Ascomycota
Classe	Saccharomycetes
Ordre	Saccharomycetales
Famille	Saccharomycetaceae
Genre	<i>Candida</i>
Espèce	<i>Candida albicans</i>

➤ **Habitat**

*Candida albicans* est une levure ovoïde cosmopolite. Chez l'homme, elle est rencontrée en nombre limité comme commensal des muqueuses de la bouche, du pharynx, des intestins et du vagin. *C. albicans* n'est présent que sporadiquement dans l'environnement (sol, fruit, légumes, etc) (GOUBAU et al., 2000).

➤ **Caractères principaux**

*Candida albicans* est l'espèce de levure la plus connue. Au laboratoire médical, la culture en boîte pétri donne des colonies qui sont grandes, rondes, de couleur blanche ou crème, elles poussent bien sur milieu de sabouraud ou sur gélose au sang (Fig. 4) (CHAKOU et BASSOU, 2005).



**Figure 4 :** Observation macroscopique de *Candida albicans*

➤ **Pouvoir pathogène**

Le principal agent pathogène est *Candida albicans* responsable d'infections superficielles aussi bien que systémiques. Ces dernières ne sont souvent que chez des individus immunodéprimés. Il fait partie de la flore normale de l'intestin, les infections superficielles comprennent le muguet (sur la muqueuse buccale), des vulvo-vaginites. La pathogénicité de *Candida albicans* est liée à la phase filamenteuse. Cette levure peut provoquer des infections du vagin, de la bouche ou des poumons (CHAKOU et *al.*, 2005).

### 1.2.1.2. *Penicillium sp.*

#### ➤ Position systématique

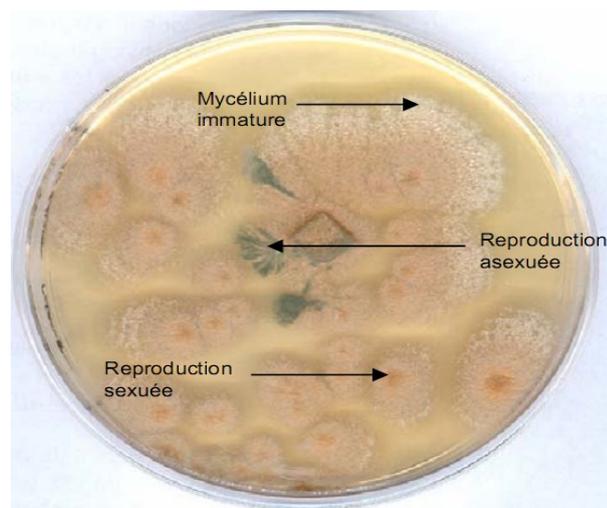
Règne	Fungi
Division	Ascomycota
Classe	Euascmycetes
Ordre	Eurotiales
Famille	Trichomaceae
Genre	<i>Penicillium</i>
Espèce	<i>Penicillium sp.</i>

#### ➤ Habitats

Les *Penicillium*s sont largement répandus dans les sols, sur les végétaux en décomposition et dans l'air. Ils sont également utilisés comme ferments dans la fabrication de certains fromages (CRIQUET et CALVERT, 2008).

#### ➤ Aspect macroscopique

Les colonies de *Penicillium spp.* ont une croissance rapide. Le mycélium a un port aplati et une texture poudreuse. La couleur des colonies peut être blanche (mycélium immature), verte (reproduction anamorphe) ou rose (reproduction téléomorphe) (Fig. 5) (CRIQUET et CALVERT, 2008).



**Figure 5 :** Observation macroscopique de *Penicillium spp.* (CRIQUET et CALVERT, 2008)

➤ **Aspect microscopique**

Les hyphes sont septées et les deux types de reproduction peuvent être observés. La reproduction asexuée (anamorphe) est caractérisée par la présence de « penicilli » constitués de conidiophores, de métules, de phialides et de conidies. La reproduction sexuée (téléomorphe) diffère dans les ascus des ascospores. Les ascus sont contenus dans des ascocarpes appelés cléistothèces (Fig. 6) (CRIQUET et CALVERT, 2008).



**Figure 6 :** Observation microscopique de *Penicillium spp.* (CRIQUET et CALVERT, 2008)

**1.2.1.3. *Alternaria spp.***

➤ **Position systématique**

Règne	Fungi
Division	Ascomycota
Classe	Dothideomycetes
Ordre	Pleosporales
Famille	Pleosporaceae
Genre	<i>Alternaria</i>
Espèce	<i>Alternaria spp.</i>

➤ **Habitat**

Les *Alternaria spp.* peuvent être isolés toute l'année et partout, entre autres sur : les plantes, les produits alimentaires (fruits, légumes, céréales, etc.) et le sol (KONIG, 2013).

➤ **Pouvoir pathogène**

Plusieurs espèces d'*Alternaria* (Fig. 7) sont responsables de maladies de plantes cultivées ou non, ces maladies sont parfois regroupées sous le terme d'alternariose (KONIG, 2004 ; ANAISSIE et *al.*, 1989). Se sont parmi les moisissures qui peuvent également être responsables de mycoses opportunistes, à l'origine d'infections localisées ou invasives, d'allergies ou de mycotoxicoses (ANONYME, 2014).

➤ **Aspect microscopique**

Les hyphes sont septées, les conidiophores sont bruns, septés et ont souvent l'aspect de « zigzags ». Ils portent des conidies simples ou ramifiées. Ces derniers présentent des cloisonnements transversaux et longitudinaux et sont caractéristiques du genre *Alternaria*. Des tubes germinateurs peuvent également être observés à la surface des conidies (CRIQUET et CALVERT, 2008 ; COLLIER et *al.*, 1998).



**Figure 7** : Observation microscopique d'*Alternaria spp.* (KONIG, 2004)

➤ **Aspect macroscopique**

Les colonies d'*Alternaria* (Fig. 8) ont une croissance rapide et un aspect cotonneux. La surface des colonies est souvent hétérogène, présentant des zones blanches constituées exclusivement d'hyphes aériennes et des zones sombres rasantes renfermant les spores asexuées mélanisées (CRIQUET et CALVERT, 2008).



**Figure 8** : Observation macroscopique d'*Alternaria spp.* (CRIQUET et CALVERT, 2008)

**1.2.1.4. *Staphylococcus spp.***

➤ **Position systématique**

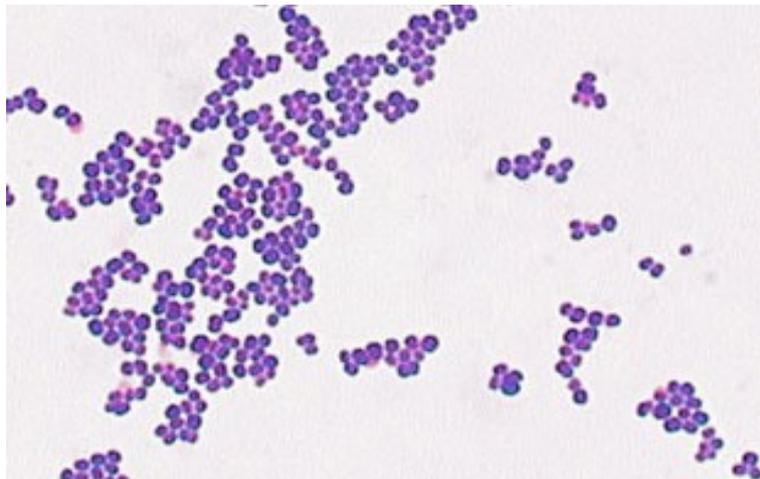
Règne	Bacteria
Division	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	Staphylococcaceae
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Espèce	<i>Staphylococcus spp.</i>

➤ **Habitat**

Elles sont largement disséminés dans l'environnement, retrouvés dans le sol, les poussières (l'air), l'eau et dans certains produits alimentaires (laitages, conserves salées) (SHIMELD et *al.*, 1999).

➤ **Pouvoir pathogène**

Il s'agit de germes ubiquitaires (Fig. 9), les staphylocoques sont des bactéries gram positif, commensales de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. Chez l'homme, les staphylocoques en particulier les espèces *S. aureus* et *S. epidermidis* font partie de la flore résidente cutanée de nombreux individus qui sont des «porteurs asymptomatiques» (NAGASE et *al.*, 2002 ; QUINN et *al.*, 2011).



**Figure 9** : Observation microscopique de *Staphylococcus spp.* (KELHI, 2013)

**1.2.1.5. *Proteus spp.***

➤ **Position systématique**

Règne	Bacteria
Division	Proteobacteria
Classe	Gamma Proteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	<i>Proteus</i>
Espèce	<i>Proteus spp.</i>

➤ **Habitat**

Les espèces du genre *Proteus* sont largement répandues dans la nature et elles sont isolées du sol, de l'eau, de l'intestin de l'homme et de l'intestin de nombreuses espèces animales (souris, chiens,...). Dans le milieu extérieur, ces bactéries jouent un rôle important dans la dégradation des matières organiques d'origine animale (MURRAY, 2007).

➤ **Pouvoir pathogène**

Les proteus sont souvent en cause dans des infections urinaires, infections de plaie, surinfections diverses : (tumeurs, voies respiratoires,...) (DONGYOU, 2009).

➤ **Caractères principaux**

Les *Proteus spp.* sont des bacilles à Gram négatif, très généralement mobiles, polymorphes, mesurant de 0,4 à 0,8  $\mu\text{m}$  de diamètre sur 1,0  $\mu\text{m}$  à 80  $\mu\text{m}$  de longueur (Fig. 10).



**Figure 10** : Observation microscopique de *Proteus sp.* (KELHI, 2013)

### 1.2.2. Choix de milieu de culture

Les milieux utilisés pour cette étude sont le milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*) qui est un milieu de culture propice pour la croissance d'une large gamme des champignons phytopathogènes à étudier (SINGH et *al.*, 2006 ; CHENG et *al.*, 2006) et l'Agar Mueller

Hinton pour étudier l'activité antibactérienne parce que c'est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens .

L'extraction et l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits ont été réalisées aux niveaux des laboratoires de l'université de Ghardaïa.

## 2. Méthodes

### 2.1. Extraction des principes actifs

Les différentes parties des plantes utilisées pour l'extraction des principes actifs sont représentés dans le tableau (2).

**Tableau 2** : Différentes parties utilisées pour l'extraction

Espèces	familles	Parties utilisées
<i>Pergularia tomentosa L.</i>	Asclepiadaceae	- feuilles - tiges - graines
<i>Pituranthos chloranthus</i>	Ombellifères	- feuilles - tiges - graines

### 2.2. Protocole d'extraction

#### 2.2.1. Macération à l'acétone

L'extraction des huiles par macération est une extraction à froid. C'est un simple contact entre le support solide et solvant, la séparation se fait par filtration (BOUDJEMAA et *al.*, 2010). Elle consiste à prendre 50 g de poudre des grains, on les macérés dans 100 ml d'acétone pendant 2 heures. A l'aide d'un entonnoir on fait la filtration ensuite on met le mélange à la congélation pendant 1 h ou plus, après la congélation on observe une couche blanchâtre en dessous du mélange. On conserve cette couche et on élimine l'acétone.

### 2.2.2. Préparation des extraits aqueux

Une fois que la matière végétale est récoltée, la partie aérienne de la plante est récupérée, triée et nettoyée, ensuite séchée à l'air libre et ensuite broyées, avant d'être réduits en poudre fine, puis tamisée dans un tamis de  $\text{Ø}=1\text{mm}$  (DISADILA, 2013).

L'extraction a été répétée 4 fois. Pour chaque extraction, cent grammes de poudre de la partie aérienne ont été portés à reflux pendant 6 heures dans un mélange méthanol-eau (2:1) (Fig. 11), puis filtrés. Ce filtrat a ensuite été évaporé à sec sous pression réduite à  $60^{\circ}\text{C}$  au Rotorvapor (Fig. 12).

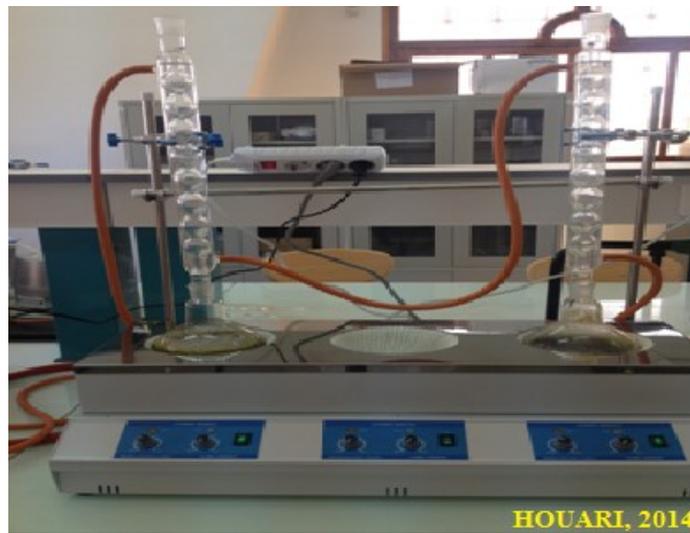


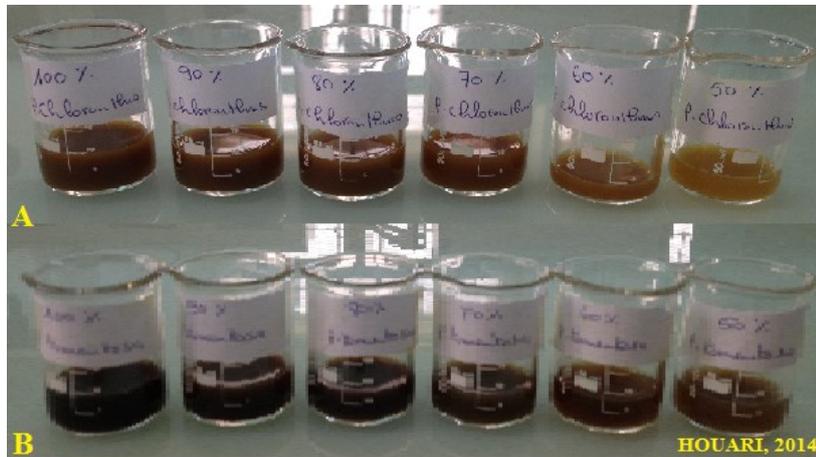
Figure 11 : Montage d'extraction par reflux



Figure 12 : Montage de Rotorvapor

### 2.2.3. Choix des concentrations

Dans l'objectif de trouver la concentration efficace, nous avons choisis six (06) concentrations pour chaque extrait aqueux soient à 100%, 90%, 80%, 70%, 60% et 50%.

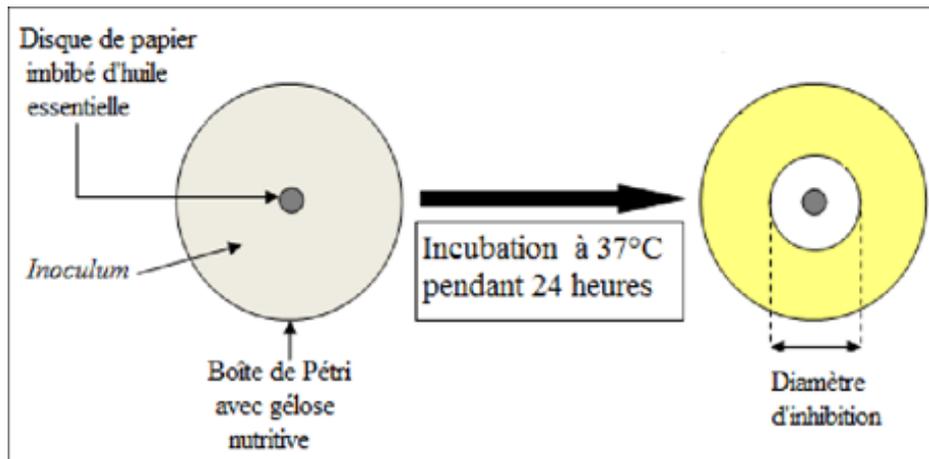


**Figure 13 :** Différentes concentrations d'extrait végétal obtenues par dilution.  
**A :** Concentrations de *P. chloranthus* ; **B :** Concentrations de *P. tomentosa*

## 2.3. Méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne

### 2.3.1. Test en milieu solide (méthode de la diffusion sur milieu gélosé)

Un ou plusieurs disques (3 disques/ boîte) de papier sont imprégnés par une quantité connue de substances à analyser et disposés sur un milieu gélosé (boîte de Pétri). La gélose estensemencée par suspension de champignon. Ces boîtes sont alors incubées pendant plusieurs jours. Les substances antifongiques diffusent dans la gélose créant une zone d'inhibition de croissance du champignon autour du disque dont le diamètre d'inhibition de la pousse du champignon permet de calculer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et d'évaluer le pourcentage par rapport à l'activité d'un antifongique de référence (DELAHOUSSE, 2003).



**Figure 14 :** Principe de la méthode de diffusion par disque (GUINOISEAU, 2010)

Généralement, plus la zone d'inhibition est importante, plus la concentration d'antimicrobien nécessaire pour inhiber la croissance bactérienne des organismes est faible. La mesure manuelle des zones d'inhibition peut prendre du temps. Les dispositifs automatisés avec une zone de lecture sont disponibles et peuvent être intégrés avec le rapport de laboratoire et les systèmes de manipulation de données. Les disques devraient être distribués également de sorte que les zones d'inhibition autour des disques antimicrobiens dans l'essai de diffusion en disque ne se chevauchent pas et qu'ainsi la zone d'inhibition puisse être déterminée (EL KALAMOUNI, 2010).

## 2.4. Techniques d'étude

### 2.4.1. Préparation du milieu de culture

#### ➤ Préparation du milieu PDA

- 39 g de poudre de PDA par 1 litre d'eau distillée.
- Stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes.
- Verser aseptiquement une première couche de milieu dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre à raison de 20 ml par boîte.
- Laisser les refroidir et solidifier sur la paillasse.

#### ➤ Préparation de l'Agar Mueller Hinton

- 37 g de poudre de MH par 1 litre d'eau distillée.
- Stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes.
- Verser aseptiquement une première couche de milieu dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre à raison de 20 ml par boîte.

- Laisser refroidir et solidifier sur la paille.

#### **2.4.2. Préparation de l'inoculum**

On prélève à l'aide d'une pipette pasteur des colonies pures et bien isolées qu'on décharge dans un tube contenant 10 ml d'eau distillée stérile.

#### **2.4.3. Ensemencement**

Sur des boîtes contenant le milieu PDA, on introduit 2 à 3 ml de l'inoculum. On obtient ainsi, un étalement uniforme en nappe et l'excès du liquide est rejeté dans un bac d'eau de javel ; les boîtes sont mises à sécher quelque minute.

On a trempé un écouvillon dans la suspension bactérienne et on a étalé la surface entière avec la gélose MH à trois reprises. Après chaque application, on a tourné la boîte de 60° en vue d'assurer une distribution homogène de l'inoculum. Enfin, on a écouvillonné partout autour du bord de la surface de la gélose.

#### **2.4.4. Dépôt des disques**

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques (3 disques/boîte) imbibés de l'extrait aqueux des deux plantes ont été déposés sur l'agar, qui a été précédemment inoculé avec les souches à tester. Les mêmes étapes ont été répétées pour les huiles fixes. On a considéré les boîtes traitées par des disques imprégnées dans l'eau distillée comme témoin négative.

#### **2.4.5. Incubation**

Les boîtes sont incubées pendant 24 à 48 heures à 37°C.

#### **2.4.6. Lecture**

L'absence de la croissance mycélienne se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (y compris le diamètre de disque), les résultats sont exprimés en mm (RASOOLI et *al.*, 2008).

## 2.5. Pourcentage d'efficacité

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'efficacité (PE) (PRESCOTT et *al.*, 2003) :

$$PE = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A : Diamètre moyen de la zone d'inhibition en présence de l'extrait à tester.

B : Diamètre moyen de la zone d'inhibition sur milieu témoin.

## 2.6. Analyse statistique

Les analyses statistiques ont porté sur les statistiques descriptives et l'analyse de variance (ANOVA). Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel « MINITAB, 13.31.FR- copyright 2000»

La valeur  $p \leq 0.001$  est considérée très hautement significative.

### Chapitre III. Résultats et discussions

L'activité fongicide des extraits de *P. tomentosa* et *P. chloranthus* sur les souches fongiques a été étudiée via l'estimation du diamètre de la zone d'inhibition observée et le calcul du taux d'efficacité avec la réalisation d'une analyse de variance.

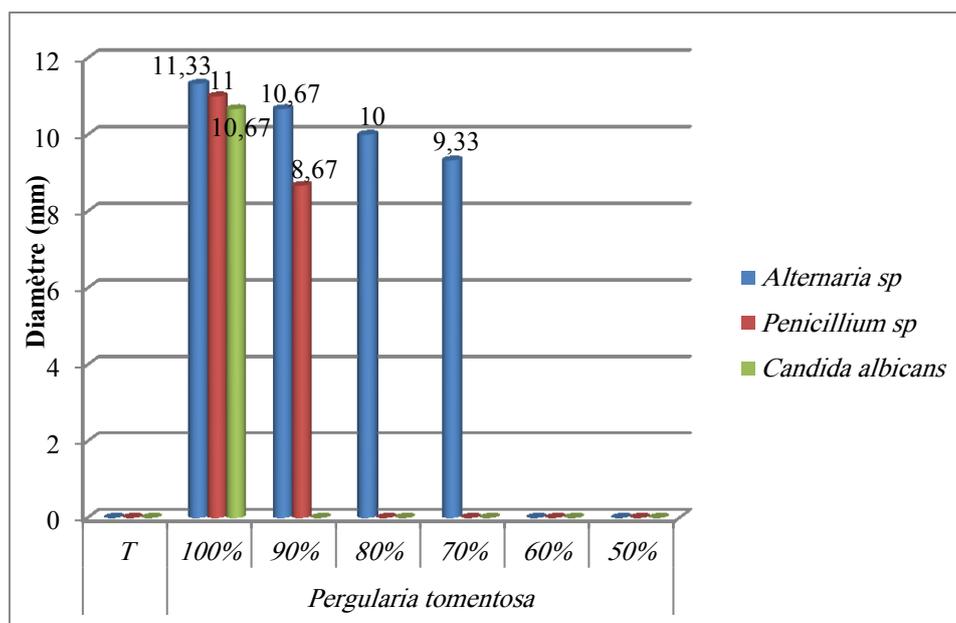
#### 1. Effet antifongique des extraits aqueux

Les résultats obtenus dans le cas d'utilisation des différentes concentrations des extraits aqueux des deux plantes sont indiqués en moyenne dans le tableau (3).

**Tableau 3 :** Diamètre des zones d'inhibition à différentes concentrations

		<i>Alternaria spp.</i>	<i>Penicillium spp.</i>	<i>Candida albicans</i>
Témoin		0	0	0
<i>Pergularia tomentosa</i>	C1 (100%)	11,33±0,58	11,00±0,00	10,67±0,58
	C2 (90%)	10,67±0,58	8,67±0,58	0
	C3 (80%)	10,00±0,00	0	0
	C4 (70%)	9,33±0,58	0	0
	C5 (60%)	0	0	0
	C6 (50%)	0	0	0
<i>Pituranthos chloranthus</i>	C1 (100%)	11,33±0,58	0	11,00±0,00
	C2 (90%)	6,67±5,77	0	10,67±0,58
	C3 (80%)	0	0	10,67±0,58
	C4 (70%)	0	0	9,00±0,00
	C5 (60%)	0	0	0
	C6 (50%)	0	0	0

D'après le tableau 3, nous constatons facilement que les extraits aqueux de *P. tomentosa* et *P. chloranthus* agissent différemment sur les souches testées.



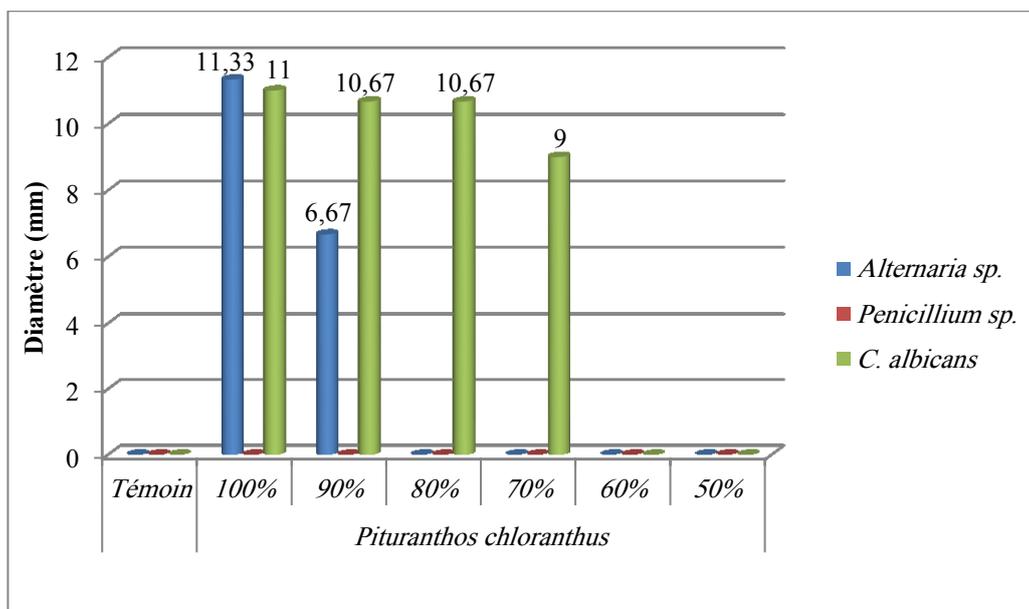
**Figure 15** : Diamètre des zones d'inhibition de *P. tomentosa* relatif aux différentes souches fongiques

La figure (15), montre que l'extrait aqueux de *P. tomentosa* est efficace sur les trois souches mais à des concentrations différentes ; son impact sur l'*Alternaria spp.* commence à partir d'une concentration de 70 % avec une augmentation progressive de la zone d'inhibition en fonction des doses. L'efficacité de l'extrait sur le *Penicillium spp.* commence à partir de la concentration 90% avec un effet progressive en fonction des doses. En ce qui concerne *Candida albicans*, l'extrait n'est efficace qu'à une dose de 100%.

Le pouvoir inhibiteur de l'extrait aqueux de *P. tomentosa* sur *Alternaria spp.* est très hautement significative ( $F=648,44$  ;  $P=0,000$ ), il est de 100% pour les concentrations de 100%, 90%, 80%, 70% avec des zones d'inhibition de  $11,33\pm 0,58$  à  $9,33\pm 0,58$  mm et 0% pour les concentrations de 60% et 50%.

L'analyse de variance a montré que les valeurs enregistrées aux niveaux des boîtes de Pétri traitées par l'extrait aqueux de *P. tomentosa* sur *Penicillium spp.* avec les doses 100% et 90% sont très hautement significative ( $F=1479,00$  ;  $P=0,000$ ) comparativement à celles enregistrées aux niveaux des boîtes de Pétri témoins avec des diamètre de zone d'inhibition de  $11,00\pm 0,00$  et  $8,67\pm 0,58$  mm respectivement.

L'effet l'extrait aqueux de *P. tomentosa* sur *C. albicans* a montré une activité antifongique seulement pour la dose 100% avec un diamètre d'inhibition de  $10,67 \pm 0,58$  mm et l'analyse de variance à 1 facteur contrôlé a montré que les valeurs enregistrées au tableau (3) sont très hautement significative ( $F=1024,00$ ;  $P=0,000$ ) comparativement à celles enregistrées aux niveaux des boîtes de Pétri témoins.



**Figure 16** : Diamètre des zones d'inhibition de *P. chloranthus* relatif aux différentes souches fongiques

D'après la figure (16), l'extrait aqueux de *P. chloranthus* est efficace sur les deux souches mais à des concentrations différentes ; son impact sur l'*Alternaria spp.* commence à partir d'une concentration de 90 % avec un effet progressive de la zone d'inhibition en fonction des doses. L'efficacité de l'extrait sur *Candida albicans* commence à partir de la concentration de 70 % avec une augmentation progressive en fonction des doses. En ce qui concerne *Penicillium spp.*, l'extrait n'a montré aucune efficacité.

L'analyse de la variance à 1 facteur contrôlé a montré que le pouvoir inhibiteur de l'extrait aqueux de *P. chloranthus* sur *Alternaria spp.* est très hautement significative ( $F=13,16$  ;  $P=0,000$ ). Il est de 100% pour les concentrations 100% et 90% avec des diamètres de la zone d'inhibition de  $11,33\pm 0,58$  et  $6,67\pm 5,77$  mm respectivement; les autres concentrations n'ont mentionné aucune activité sur la souche.

Aucune activité n'est par ailleurs notée sur *Penicillium spp.* traité par l'extrait aqueux de *P. chloranthus*.

L'analyse de variance à 1 facteur contrôlé a montré que les valeurs enregistrées aux niveaux des boîtes de Pétri traitées par l'extrait aqueux de *P. chloranthus* avec les doses à 100%, 90%, 80% et 70% sur la levure *C. albicans* sont très hautement significative ( $F=1905,00$ ;  $P=0,000$ ) comparativement à celles enregistrées aux niveaux des boîtes de Pétri témoins, le pourcentage d'efficacité de l'extrait est de 100% avec des diamètres des zones d'inhibition de  $11,00\pm 0,00$  à  $9,00\pm 0,00$  mm, par rapport aux doses 60% et 50% dont le taux d'efficacité est de 0%.

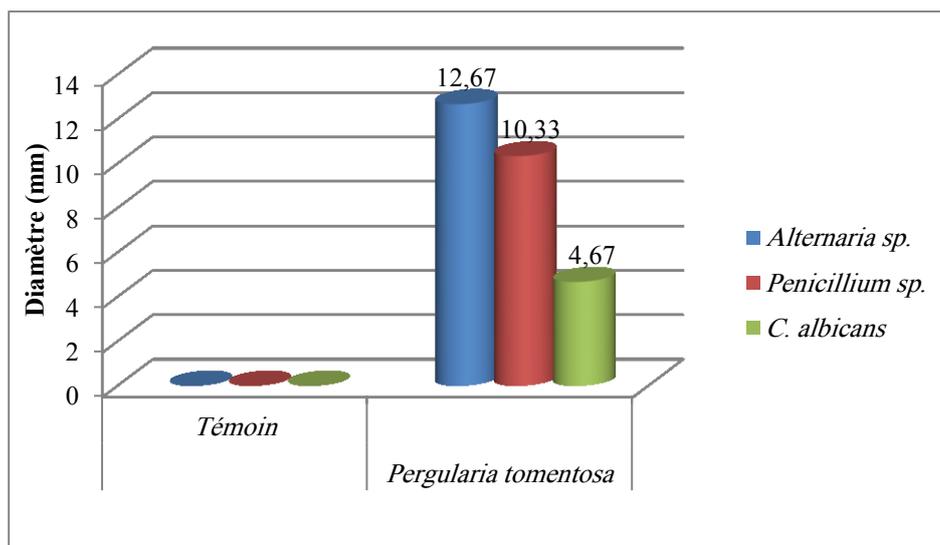
## 2. Effet antifongique des huiles fixes

Le tableau 4, présente les diamètres d'inhibition des souches traité par les huiles fixes des deux plantes.

**Tableau 4 :** Diamètre des zones d'inhibition

		<i>Alternaria spp.</i>	<i>Penicillium spp.</i>	<i>C. albicans</i>
	Témoin	0	0	0
<i>Pergularia tomentosa</i>		$12,67\pm 0,58$	$10,33\pm 1,15$	$4,67\pm 4,04$
<i>Pituranthos chloranthus</i>		$11,33\pm 0,58$	$7,33\pm 0,58$	0

Les résultats enregistrés dans le tableau 4, ont montré que les huiles fixes de *P. tomentosa* et *P. chloranthus* agissent différemment sur les souches testées.

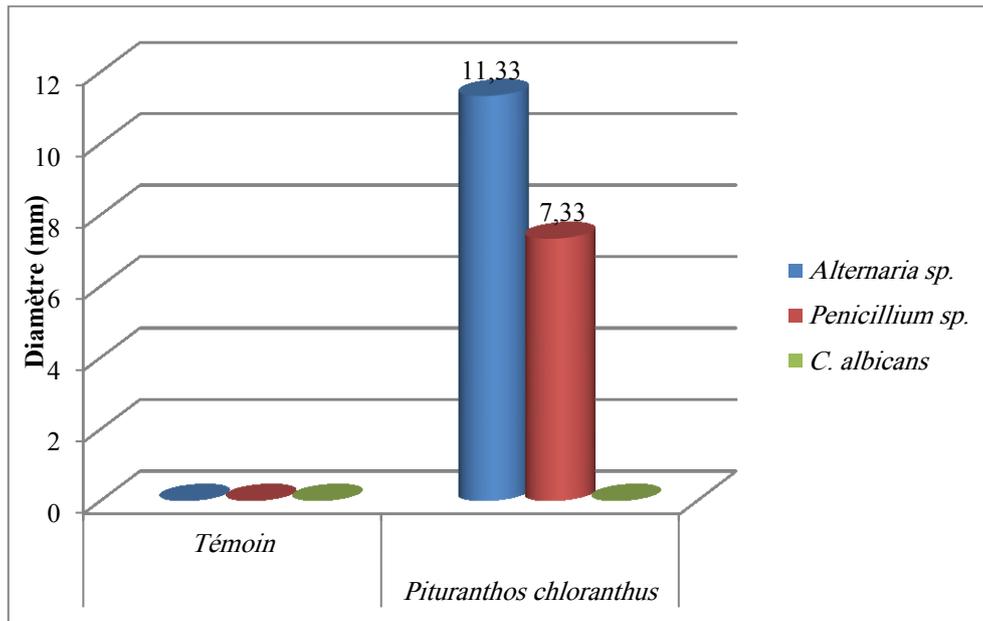


**Figure 17** : Diamètre des zones d'inhibition de l'HF de *P. tomentosa* relatif aux différentes souches fongiques

D'après la figure (17), l'huile fixe de *P. tomentosa* semble avoir une action inhibitrice sur la croissance de toutes les souches testées.

Le taux d'efficacité d'HF de *P. tomentosa* sur les souches *Alternaria spp.*, *Penicillium spp.* et *C. albicans* est 100% avec des diamètres d'inhibition de  $12,67 \pm 0,58$ ,  $10,33 \pm 1,15$  et  $4,67 \pm 4,04$  mm respectivement.

L'analyse de variance à 1 facteur contrôlé a montré que les valeurs enregistrées aux niveaux des boîtes de Pétri des souches *Alternaria spp.* et *Penicillium spp.* traitées par l'HF de *P. tomentosa* sont très hautement significatives ( $F=1444,00$  ;  $P=0,000$ ) et ( $F=240,25$  ;  $P=0,000$ ) respectivement. Cependant, l'analyse de variance à 1 facteur contrôlé a montré que les valeurs enregistrées pour la souche *C. albicans* sont non significatives.



**Figure 18** : Diamètre des zones d'inhibition de l'HF de *P. chloranthus* relatif aux différentes souches fongiques

D'après la figure (18), on remarque que l'HF de *P. chloranthus* a un effet antifongique sur les deux souches *Alternaria spp.* et *Penicillium spp.* ; Tandis que l'HF de *P. chloranthus* n'a montré aucun effet sur *C. albicans*.

Le taux d'efficacité d'HF de *P. chloranthus* sur les souches *Alternaria spp.* et *Penicillium spp.* est de 100% avec respectivement  $11,33 \pm 0,58$  et  $7,33 \pm 0,58$  mm de diamètre d'inhibition. L'analyse de variance à 1 facteur contrôlé a montré que cet effet est très hautement significative avec ( $F=1156,00$  ;  $P=0,000$ ) et ( $F=484,00$  ;  $P=0,000$ ) respectivement. Aucune activité n'a enregistré sur la levure *C. albicans*.

### 3. Discussion

A la lumière des résultats trouvés, l'extrait aqueux de *P. tomentosa* a un effet antifongique sur les différentes souches testés, cela confirme les résultats obtenus par BOULENOUAR et al. (2009) qui ont montré que l'extrait hexanique de *P. tomentosa* et l'extrait méthanolique de *Citrullus colocynthis* L. (Cucurbitaceae) et *Nerium oleander* L. (Apocynaceae) sur *Fusarium oxysporum f. sp. Albedinis* sont les plus importants avec une zone d'inhibition ( $\varnothing = 20$  mm) ; les résultats de HASSAN et al. (2007) ont montré l'effet antifongique de l'extrait aqueux et les solvants organiques de différentes parties de *P. tomentosa* sur *Trichophyton rubrum*, *Microsporium gypseum*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus* avec des pourcentages d'inhibition de  $41,90 \pm 5,63$  à  $97,52 \pm 0,28\%$ .

Dans la même optique, SCHMELZER et *al.* (2013) ont prouvé que les extraits aqueux de *P. tomentosa* et à plusieurs solvants organiques des feuilles, des tiges et des racines ont montré une activité antifongique contre plusieurs souches de champignons pathogène ; des effets bactéricides ont également été répertoriés.

Selon les résultats de BELYAGOUBI (2006), le *Penicillium* est sensible aux huiles essentielles de *Thymus capitatus* (80%) que celui d'*Origanum glandulosum* L. (Lamiaceae) (37,78%) avec une concentration fongicide de 0,625 µl/ml. Par contre l'*Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae) représente l'huile la moins inhibitrice de la croissance avec 72,68% pour une concentration de 2,5µl/ml. Les huiles d'*O. glandulosum* et de *T. capitatus* L. (Lamiaceae) ont presque la même action sur *Alternaria* et à faible concentration (4 µl/20ml), il apparait un effet fongicide. Pour *E. globulus*, elle est la moins efficace et à 50µl/ml l'indice antifongique est de 67,28%. On outre, les résultats de MOHAMMADI et *al.*, (2001) ont montré que le pouvoir antifongique de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. (Lamiaceae) sur *Penicillium* et *Alternaria* est efficace avec les concentrations 4 µg/ml et 4.5 µg/ml respectivement.

Plusieurs études ont montrés la résistance de la levure *C. albicans* à des huiles essentielles tels : huile essentielle de *Ruta chalepensis* L. (Rutaceae) (ATTOU, 2011), *Securidaca longepedunculata* Fres. (Polygalaceae) et *Guiera senegalensis* J.F. (Combretaceae) (SOUZA et *al.*, 1995). D'autre travaux ont montré la sensibilité de la souche vis-à-vis les différents extraits *Cassia alata* L. (Fabaceae), *Piliostigma thonningii* Schum. (Fabaceae) et *Maranthochloa cuspidata* R. (Mrantaceae) (AGBAN et *al.*, 2013) *Terminalia ivorensis* A. (Combretaceae) (ZIRIHI et *al.*, 2008).

Des études sur la composition chimique de *P. tomentosa* ont montré la présence des alcaloïdes, des glycosides, des saponines, des flavonoïdes, des tanins et anthraquinones dans les extraits de cette plante qui peuvent être des sources d'action antifongique et antimicrobienne (UNESCO, 1960 ; SHINKAFI, 2014).

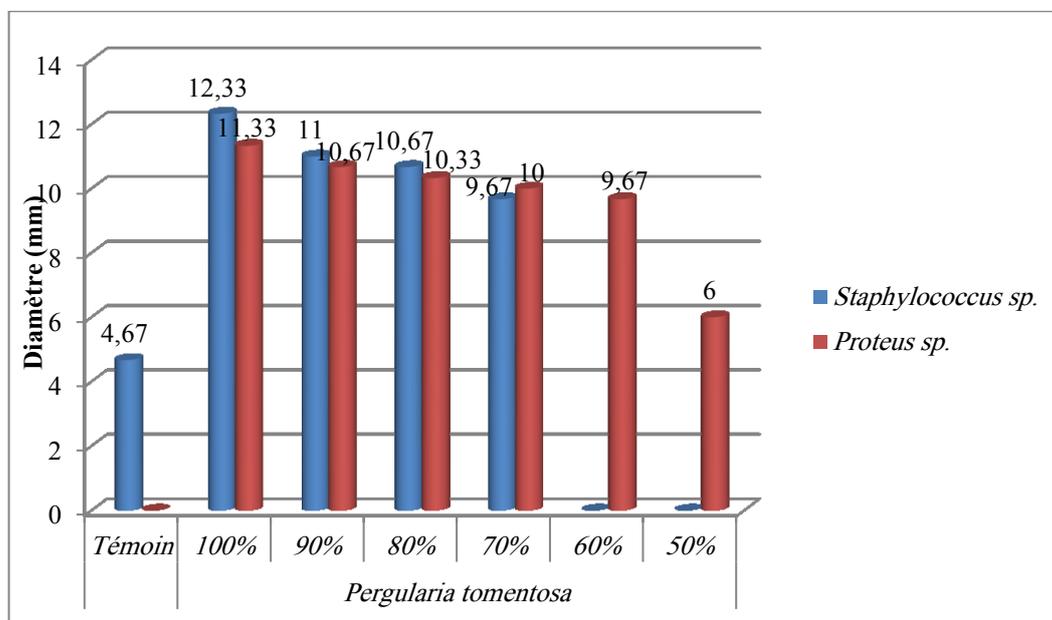
#### 4. Effet antibactérien des extraits aqueux

Les résultats obtenus dans le cas d'utilisation des différentes concentrations des extraits aqueux des deux plantes sont indiqués en moyenne dans le tableau (5).

**Tableau 5 :** Diamètre des zones d'inhibition à différentes concentrations

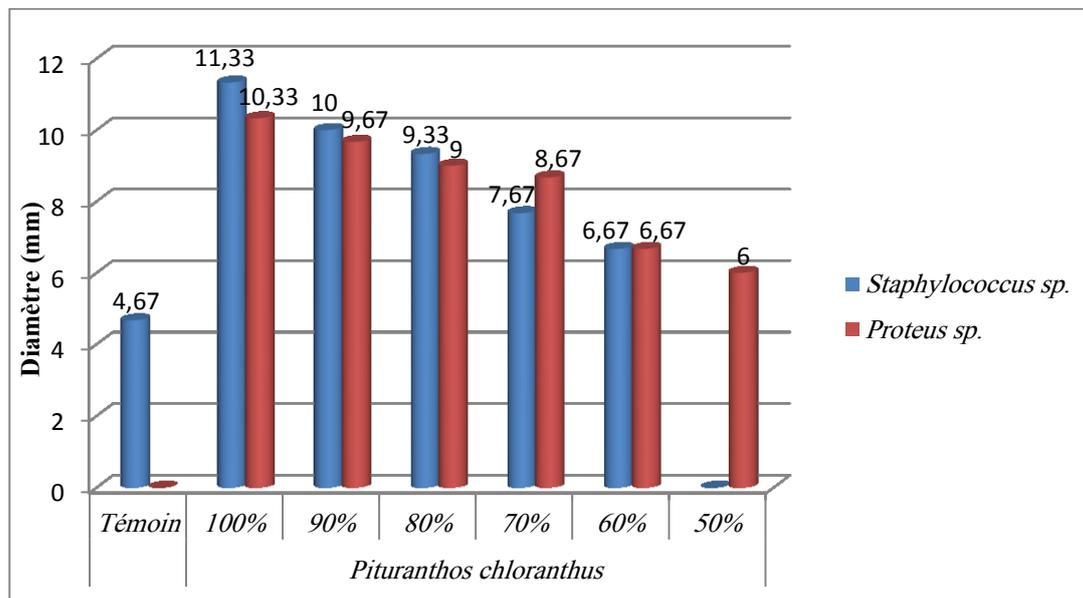
		<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Proteus spp.</i>
Témoin		4,67±4,04	0
<i>Pergularia tomentosa</i>	C1 (100%)	12,33±1,15	11,33±0,58
	C2 (90%)	11±0,00	10,67±0,58
	C3 (80%)	10,67±0,58	10,33±1,15
	C4 (70%)	9,67±0,58	10±0,00
	C5 (60%)	0	9,67±0,58
	C6 (50%)	0	6±5,20
<i>Pituranthos chloranthus</i>	C1 (100%)	11,33±1,15	10,33±1,15
	C2 (90%)	10±0,00	9,67±0,58
	C3 (80%)	9,33±0,58	9±0,00
	C4 (70%)	7,67±0,58	8,67±0,58
	C5 (60%)	6,67±5,77	6,67±5,77
	C6 (50%)	0	6±5,20

La figure (19) rapporte les résultats du pouvoir bactéricide des extraits aqueux de *P. tomentosa* vis-à-vis les trois souches bactériennes



**Figure 19** : Diamètre des zones d'inhibition de *P. tomentosa* relatif aux différentes souches bactériennes

Les résultats obtenus dans la figure (19), ont montré l'efficacité de l'extrait aqueux de *P. tomentosa* sur les deux souches bactériennes mais à différentes concentrations. Son effet sur *Staphylococcus spp.* commence à partir d'une concentration de 70 % avec une augmentation progressive de la zone d'inhibition en fonction des doses. L'extrait est efficace sur *Proteus spp.* à toutes les concentrations avec une augmentation progressive des zones d'inhibition.



**Figure 20** : Diamètre des zones d'inhibition de *P. chloranthus* relatif aux différentes souches bactériennes

La figure (20), montre que l'extrait aqueux de *P. chloranthus* est efficace sur les deux souches mais à des concentrations différentes ; son impact sur *Staphylococcus spp.* commence à partir d'une concentration de 60 % avec une augmentation progressive de la zone d'inhibition en fonction des doses. L'extrait est efficace sur *Proteus spp.* à toutes les concentrations avec une augmentation progressive des zones d'inhibition.

Les résultats révèlent que l'extrait aqueux de *P. tomentosa* et *P. chloranthus* à différentes concentrations exerce un effet antibactérien sur *Proteus spp.* L'analyse de variance à 1 facteur a montré que les valeurs enregistrées aux niveaux des boîtes de Pétri de *Proteus spp.* sont très hautement significatives ( $F=11,68$  ;  $P=0,000$ ) comparativement à celles enregistrées aux niveaux des boîtes de Pétri témoins, avec des diamètres des zones d'inhibition de  $10,67 \pm 0,58$  à  $6 \pm 5,20$  mm et hautement significatives ( $F=4,20$ ;  $P=0,01$ ) avec des diamètres de la zone d'inhibition de  $10,33 \pm 1,15$  à  $8,67 \pm 0,58$  mm successivement.

L'extrait aqueux de *P. tomentosa* a révélé une activité antibactérienne élevée dans les concentrations 100%, 90%, 80% et 70% sur *Staphylococcus spp.* avec des diamètres des zones d'inhibition de  $12,33 \pm 1,15$  à  $11 \pm 0,00$  mm respectivement par rapport aux diamètres de la zone d'inhibition enregistrées aux niveaux des boîtes de Pétri témoins  $4,67 \pm 4,04$  mm. L'analyse de variance à 1 facteur contrôlé a montré que les valeurs enregistrées aux niveaux des boîtes de Pétri traitées par l'extrait aqueux de *P. tomentosa* sont très hautement significative ( $F=32,15$  ;  $P=0,000$ ).

L'extrait aqueux de *P. chloranthus* a montré une activité antibactérienne élevée dans les concentrations 100%, 90%, 80%, 70% et 60% sur *Staphylococcus spp.* avec des diamètres de la zone d'inhibition de  $11,33 \pm 1,15$  à  $7,67 \pm 0,58$  mm respectivement par rapport à celles enregistrées aux niveaux des boîtes témoin ( $4,67 \pm 4,04$  mm). L'analyse de variance à 1 facteur contrôlé a montré que les valeurs enregistrées aux niveaux des boîtes de Pétri traitées par l'extrait aqueux de *P. chloranthus* sont très hautement significative ( $F=12,83$  ;  $P=0,000$ ) par rapport à celles enregistrées aux niveaux des boîtes de Pétri témoins.

## 5. Discussion

Selon les résultats obtenus, *P. tomentosa* a un effet antibactérien sur les souches testées. Cependant, très peu de recherches se sont intéressées à l'étude de l'activité antimicrobienne de *P. chloranthus*. Une seule a été trouvée en littérature à ce sujet réalisé par YANGUI et al. (2009), ont évalué l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *P. chloranthus* sur des souches bactériennes et fongiques et les concentrations 1.87-3.75 et 7.5 mg/l respectivement ont montré une activité bactéricide et fongicide de l'HE.

Plusieurs études ont montré l'efficacité d'autres extraits de plantes sur les souches bactériennes tel que l'extrait aqueux de *Zea mays L.* (Poaceae), *Allium sativum L.* (Liliaceae), *Zingiber officinale R.* (Zingiberaceae) et *Eugenia aromatica L.* (Myrtaceae) sur la souche de référence *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (SOUZA et al., 1995).

Certains travaux ont prouvés la résistance de *Proteus* et *Staphylococcus aureus* vis-à-vis les huiles essentielles de menthe (Lamiaceae) diluée, tandis que l'HE de menthe pure a montré une bonne activité contre *Proteus* (40 mm) (LAGHOUTER, 2012), d'autres travaux (KIZIL et al., 2010 ; SINGH et al., 2011 ; JEYAKUMAR et al., 2011 ; HUSSAIN, 2009) affirment l'inefficacité d'HE de menthe ; et ça tout dépend des composés d'HE de chaque un

plutôt le composé majeur de chaque HE et la méthode utilisé pour l'évaluation de cette activité en plus des conditions de travail (LAGHOUITER, 2012).

En revanche, ALI-SHTAYEH et *al.* (1998) ont montré que la résistance des souches est due à la différence de la structure de la paroi cellulaire entre les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif. Ainsi les travaux de SOUZA et *al.*, (1995), ont montré la résistance de la souche *S. aureus* vis-à-vis *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae), *Guiera senegalensis* J.F. (Cobretaceae), *Cassia siamea* Lam. (Fabaceae) et *Gomphrena celosioides* Mart. (Amaranthaceae), ils ont prouvé que l'intensité des effets bactéricide et/ou fongicide sur la croissance des germes étudiés parmi (*Staphylococcus aureus*, *C. albicans*, *Penicillium sp.* etc) varie en fonction de la plante et du type de microorganisme ; Une relation dose-effet a été observée dans tous les cas. Ces résultats sont similaires à celles de YAMEOGO (2003) qu'il a expliqué que l'activité antibactérienne varie d'une plante à une autre et d'un germe à l'autre.

## Conclusion

L'activité antimicrobienne des extraits de *Pergularia tomentosa* et *Pituranthos chloranthus*, sujet de notre travail, a été effectuée en utilisant la technique de diffusion en milieu gélosé. Ce test est réalisé sur cinq souches microbiennes dont trois souches fongiques (*Alternaria spp.*, *Penicillium spp.* et *Candida albicans*) et deux souches bactériennes (*Staphylococcus spp.* et *Proteus spp.*).

Par ailleurs, l'étude du pouvoir fongicide des extraits aqueux de *P. tomentosa* vis-à-vis les trois souches fongiques a permis de visualiser une action inhibitrice sur *Alternaria spp.* (11,33±0,58 mm), *Penicillium spp.* (11 mm) et *C. albicans* (10,67±0,58 mm)

Les résultats ont montré aussi que l'huile fixe de *P. tomentosa* a une activité antifongique sur *Alternaria spp.* (12,67±0,58 mm), *Penicillium spp.* (10,33±1,15 mm) et *C. albicans* (4,67±4,04 mm).

L'extrait aqueux de *P. chloranthus* a aussi une activité antifongique mais seulement sur deux souches fongiques *Alternaria spp.* (11,33±0,58 mm) et *C. albicans* (11 mm), tandis que sur *Penicillium spp.* aucune activité n'est mentionnée.

Concernant l'huile fixe de *P. chloranthus*, les résultats obtenus rapportent un effet antifongique sur *Alternaria spp.* (11,33±0,58 mm), *Penicillium spp.* (7,33±0,58 mm) et aucune activité n'est enregistrée sur la levure *C. albicans*.

L'étude du pouvoir antibactérien de l'extrait aqueux de *P. tomentosa* a révélé un effet antibactérien sur les souches *Staphylococcus spp.* et *Proteus spp.* avec des diamètres d'inhibition de 12,33±1,15 mm et 11,33±1,15 mm respectivement.

En ce qui concerne le pouvoir antibactérien de l'extrait aqueux de *P. chloranthus*, nos résultats montrent un effet antibactérien sur les mêmes souches à savoir *Staphylococcus spp.* et *Proteus spp.* avec des diamètres d'inhibition de 11,33±0,58 mm et 10,33±1,15 respectivement.

Cette étude peut être considérée comme une première source d'information sur les propriétés antimicrobiennes des extraits de plantes étudiées. En perspective, pour une meilleure poursuite de la recherche des molécules actives des deux plantes du Sahara septentrional, de la présente étude, il est souhaitable de :

- Tester leurs efficacités sur d'autres microorganismes phytopathogènes.
- Poursuivre les tests biologiques par des tests de caractérisation et d'identification phytochimique des extraits végétaux ou bien des huiles essentielles pour identifier les principes actifs et pour comprendre l'évaluation des composés présentant l'activité antimicrobienne.
- Une recherche supplémentaire sur d'autres propriétés (antivirale, antiparasitaires, insecticides, ...) des extraits aqueux et des huiles fixes des plantes pour répondre aux exigences de l'agriculture biologique en développement des biopesticides d'origine végétale.

**Références bibliographiques**

**ABIOLA F.A. ; ALOGNINOUBA T. ; EL BAHRI L. ; ALI M. et FAYOMI B., 1993 :** Etude expérimentale de l'intoxication des caprins par *Pergularia tomentosa* L. Revue d'élevage et de méd. Vét. des pays tropicaux. Vol. 46, pp 591-595.

**AFNOR., 2000 :** Huiles essentielles. Monographie relative aux huiles essentielles. Tom 2. 6<sup>ème</sup> Ed. AFNOR, Paris, pp 661-663.

**AGBAN A. ; GBOGBO K.A. ; HOEKOU Y.P. ; ATCHOU K. ; TCHACONDO T. ; BATAWILA K. ; DE SOUZA C. et GBEASSOR M., 2013 :** Évaluation de l'activité antifongique des extraits de *Cassia alata* L. et de *Piliostigma thonningii* (Schumach.) Milne Redh. (Fabaceae) sur *Candida albicans*. Int. J. Biol. Chem. Sci. 7(3), pp 1041-1047.

**AJOUZ S., 2009 :** Estimation du potentiel de résistance de *Botrytis cinerea* à des biofongicides. Thèse de doctorat. Univ. d'AVIGNON, 198p.

**ALI-SHTAYEH M.S. ; YAGHMOUR R.M. et FAIDI Y.R., 1998 :** Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. J. Ethnopharmacol., 60(3), pp 265-71.

**ALITONOU G.A. ; AVLESSI F. ; SOHOUNHLOUE K.C. et ALLISNET D., 2008 :** Aromathérapie. Les huiles essentielles, un pouvoir antimicrobien avéré. Fondation pour le Libre Choix.

**AMANI A. et BARMO S., 2010 :** Contribution à l'état des connaissances de quelques plantes envahissantes au Niger. PNUD., CNEDD. 34p.

**AMARTI F., 2009 :** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *thymus algeriensis* et *thymus ciliatus* du Maroc. Biotechnol. Agron. Soc. Environ 14(1), pp 141-148.

**ANAISSE E.J. ; BODEY G.P. et RINALDI M.G., 1989 :** Emerging fungal pathogens. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 8, pp 323-330.

**ANONYME, 2002 :** Contaminations fongiques en milieux intérieurs diagnostic effets sur la santé respiratoire conduites à tenir. Conseil Supérieur d'hygiène Publique de France, 101p.

**ANONYME, 2014 :** Aspergilloses et autres champignons filamenteux opportunistes. ANOFEL. Univ. Médicale Virtuelle Francophone, 19p.

**ATTOU A., 2011 :** Contribution à l'étude photochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Mém. mag. Univ. Tlemcen, 119p.

**BABA MOUSSA F. ; AKPAGANA K. et BOUCHET P.H., 1998 :** Comparaison de l'activité antifongique des feuilles et écorces de tronc de *Pteleopsis suberosa* G. Don (Combretaceae). Acta botanica gallica, 145(3), pp 223-288.

**BADEAA R.I. et SOLIMAN K.M., 2002** : Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi, food chem. Toxicol. 40, pp 1669-1675.

**BASSENE E. ; MAHAMAT B. ; LO M. ; BOYE C.S.B. et FAYE B., 1995** : Comparaison de l'activité antibactérienne de trois Combretaceae: *C. micranthum*, *Guiera senegalensis* et *Terminalia avicennioides*. Fitoterapia, 66(1), pp 86-87.

**BAZZI L. ; SALGHI R. ; ZINE E. ; EL ISSAMI S. ; KERTIT S. et HAMMOUTI B., 2002** : Inhibition de la corrosion de l'alliage d'aluminium 6063 au moyen de composés inorganiques dans une solution de chlorure de sodium à 3 %. Canadian journal chemistry 80(1), pp 106-112.

**BEKHECHI C. ; ABDELOUAHID D.E. et ATIK- BEKKARA F., 2008** : Composition et activité antibactérienne des HE d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. Phytothérapie ; Vol. 6, pp153-159.

**BELLAKHDAR J., 1997** : Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires. La pharmacopée marocaine traditionnelle, ibis Press, 764p.

**BENCHELAH A.C. ; BOUZIANE H. ; MAKHA M. et OUHÈS C., 2000** : Fleurs du Sahara. Voyage ethnobotanique avec les Touaregs du Tassili. Ed. Ibis press. Paris, 255p.

**BEN HALIMA M. ; BOUZOUTA N. ; KACHOURI F. et CHAABOUNI M.M., 2008** : Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*, J. Soc. Chim. Tunis., pp 119-125.

**BENHAMOU N., 2012** : Stimulateurs des défenses naturelles des plantes : une nouvelle stratégie phytosanitaire dans un contexte d'écoproduction durable. Vol. 92(1), 1-23p.

**BELAICHE P., 1979** : Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome I. Paris, 204p.

**BELYAGOUBI L., 2006** : Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Mém. Mag. Univ. Tlemcen, 110p.

**BHAT S.V. ; NAGASAMPIGI B.A. et SIVAKUMAR M., 2005** : Chemistry of Natural Products. Ed. 1, NAROSA, SPRINGER; pp 115-252.

**BOUAOUN D. ; HILAN C. et GARABETH, F., 2007** : Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'une plante sauvage *Prangos asperula* Bioss. Phytothérapie ; Vol. 5, pp 129-134.

**BOUBRIT S. et BOUSSAD N., 2007** : Détermination "in vitro " du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'eucalyptus, myrte, clous de girofle et sarriette, et leur application à la conservation de la viande fraîche type hachée. Ing. en biologie, Univ. Tizi-Ouzou, 130p.

**BOUCHIKHI TANI Z. ; KHELIL M.A. et BENDAHOU M., 2012** : Activité biologique des huiles essentielles extraites de trois plantes aromatiques sur la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera, Tineidae). 3<sup>ème</sup> Congrès de Zoologie et d'Ichtyologie. Marrakech, pp 55-68.

**BOUDJEMAA N.E. et BEN GUEGUA H., 2010 :** L'effet antibactérien de *Nigella sativa*. Ing. En microbiologie. Univ. Ouargla, 60p.

**BOUHADJERA K., 2005 :** Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *oudneya africana R.BR.* et *aristida pungens L.* Thèse doctorat. Univ. Tlemcen, 143p.

**BOULENOUAR N. ; MAROUF A. et CHERITI A., 2009 :** Effect of some poisonous plants extracts on F.o.a. J. Biol. Sci., 9(6), pp 594- 600.

**BOURKHISS B. ; HNACH M. ; BOURKHISS M. ; OUHSSINE M. et CHAOUCH A., 2007 :** Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc, Afrique Science, 3(2), pp 232-242.

**BOUSBIA N., 2004 :** Extraction et identification de quelques huiles essentielles (nigelle, coriandre, origan, thym, romarin), étude de leurs activités antimicrobiennes. Thèse de Magistère, option Sciences Alimentaires, INA. Alger, 130p.

**BOUYANZER A.; HAMMOUTI B.; MAJIDI L. et HALOUI B., 2010 :** Testing natural Fenugreek as an ecofriendly inhibitor for steel corrosion in 1 M HCl. Portug. Electrochim. Acta. Vol. 28, pp 165-172.

**BRUNETON J., 1993 :** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Tec. et doc. 2<sup>ème</sup> Ed. Lavoisier, Paris, 916p.

**BRUNETON J., 1999 :** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Tec. et doc. 3<sup>ème</sup> Ed. Lavoisier, 1120p.

**CAILLET S. et LACROIX M., 2014 :** Les huiles essentielles. Leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaires. Laboratoire de recherche en sciences appliquées à l'alimentation. Canada, 8p.

**COMMISSION EUROPÉENNE, 2001 :** Proposition de la commission en matière de lutte contre la résistance microbienne. Bruxelles. In KECHKAR M., 2008. Extraction de Silymarine et étude de son activité antimicrobienne. Mém. de magister. Univ. Mentouri Constantine, 99p.

**CHAKOU M. et BASSOU K., 2005 :** Efficacité antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles obtenues par extraction de la menthe verte *Mentha Spicata* L. issue de la région de Ouargla sur quelques germes pathogènes: *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*. Mém. D.E.S. Univ. Kasdi Merbah Ouargla, pp 14-27.

**CHEHMA A., 2006 :** Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional Algérien. Laboratoire de protection des écosystèmes en zone arides et semi arides, Univ. Kasdi Merbah, Ouargla, pp 14-16, 140 p.

**CHENG S.S. ; LIU J.Y. ; HSUI Y.R. et CHANG S.T., 2006 :** Chemical polymorphism and antifungal activity of essential oils from leaves of different provenances of indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*). Bioresource Technol. Vol. 97, pp 306-312.

- CHRISTENSEN C.M. ; MERONUK R.A. et SAUER D.B., 1982** : Storage of cereal grains and their products, pp 219-240.
- COUDERC V., 2001** : Toxicité des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Univ. Toulouse, pp 6-61p.
- CRQUET S. et CALVERT V., 2008** : Planche TP mycologie IMEP UMR CNRS 6116. publié sur internet le 03/03/2008, 8p.
- CROZIER A. ; CLIFFORD M.N. et ASHIHARA H., 2006** : Plant Secondary Metabolites; Ed. Oxford BLACKWELL, pp102-105.
- DAAYF F. et LATTANZID V., 2008** : Recent Advances in Poly phenol Research 1; Ed. WILEY-BLACKWELL, pp 1- 24.
- DEGRYSE A. et DELPLA A.C., 2008** : Atelier santé environnement : Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Mém. Ing, EHESP. 94p.
- DELAHOUSSE G., 2003** : Les plantes à propriétés antifongiques. Thèse de doctorat. Univ. Nantes, 109p.
- DISADILA D., 2013** : Etude de sensibilité de streptococcus mutans aux extraits totaux de *khaya nyasica*. Thèse de doctorat. Univ. Congo, 64p.
- DONGYOU L., 2009** : Molecular detection of foodborne pathogens. Ed. CRC Press Inc. 905p.
- DORMAN H.J.D. et DEANS S.G., 2000** : Antimicrobial agents from plants. Antibacterial activity of plant volatile oil, Journal of applied microbiology, pp 308-316.
- DUPLICATE S. et RACHEL H., 1977** : Mycotoxins and Animal Foods. Academic press. London, 633p.
- DURAFFOURD C. ; LAPRAZ J.C. et CHEMLI R., 1997** : La plante médicinale de la tradition à la science. 1<sup>er</sup> congrès Intercont. Tunis. Ed. Granche. Paris, 222p.
- EDDY N.O., 2010**: Adsorption and inhibitive properties of ethanol extract of *Garcinia kola* and *Cola nitida* for the corrosion of mild steel in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Pigm.Resin Technol. 39, pp 348-354.
- EL KALAMOUNI C., 2010** : Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de doctorat. Univ. Toulouse, 375p.
- FURET A. et BELLENOT D., 2013** : ITEIPMAI « Les huiles essentielles dans la protection des cultures : Une voie en cours d'exploration ».
- GABRIELLI C. et KEDDAM M., 1974** : Progres recents dans la mesure des impedances electrochimiques en regime sinusoidal. Electrochimica Acta. Vol. 19, pp 355-362.

**GOUBAU P. et PELLEGRIMS E., 2000** : Repère en microbiologie. 3<sup>ème</sup> ED. Garant, pp 250, 384p.

**GROSJEAN N., 2007** : L'aromathérapie. ED. Eyrolles, 456p.

**GUINOISEAU E., 2010** : Molécules antibactériennes issues des huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat. Univ. Corse, pp 64-143p.

**HARBONE J.B., 1988** : The flavonoids, advances in research since. Ed. Chappman et Hall. London, 676p.

**HASSAN S. ; UMAR R.A. ; LADAN M.J. ; NYEMIKE P. ; WASAGU R.S.U. ; LAWAL M. et EBBO A.A., 2007** : Nutritive value, phytochemical and antifungal properties of *Pergularia tomentosa* L. Int. J. Pharmacology, 3(4), pp 334-340.

**HERNANDEZ-OCHOA L.R., 2005** : Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné « Solvant/ Actif » d'origine végétale. Thèse de Doctorat, Institut. Nat. Polytech. Toulouse, France. 224p.

**HOGAN D. et KOLTER R., 2002** : Why are bacteria refractory to antimicrobials ? Current opinion in Microbiology. 5(4) 272 p.

**HONG X.Y. ; WAN M. ; DONG H. ; BUT P.P.H. ; et FOO L., 2000** : Inhibitory activity of flavonoids and tannins against HIV-1 protease. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 23(9), pp 1072-1076.

**HOSTETTMANN K., 1986** : à la recherche de principes actifs de plantes médicinales. Bull. Soc. Pharma. Strasbourg, Vol. 29, pp 39-50.

**HUANG C. ; CHENG, S.S. ; CHEN Y.J. ; YU J.J. ; CHEN W.J. ; CHANG S.T., 2009** : Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species, Bioresour. Technol. pp 452-456.

**HUSSAIN A.I., 2009** : Characterization and biological activities of essential oils of some species of Lamiaceae. Thèse doctorat philosophie en chimie, Univ. Agriculture, Pakistan, 101p.

**INSPQ, 2002** : Les risques à la santé associés à la présence de moisissures en milieu intérieur. I.N.S.P.Q., 166p.

**ISERIN P., 2001** : Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Ed. Larousse, pp14-335p.

**ISO, 1997** : Norme ISO 9235 : Matières premières d'origine naturelle. Vocab., 2p.

**JEYAKUMAR E. ; LAWRENCE R. et PAL T., 2011** : Comparative evaluation in the efficacy of peppermint (*Mentha piperita*) oil with standards antibiotics against selected bacterial pathogens. Institut d'Agriculture Technologie & science, India, Asian Pacific Journal of tropical Biomédecine, pp 253-257.

**JORCIN J. B., 2007** : Spectroscopie d'impédance électrochimique locale : caractérisation de la delamination des peintures et de la corrosion des alliages Al-Cu. Thèse doctorat. Institut National Polytech. Toulouse, 117p.

**JUDD W.S. ; CAMPBELL C.S. ; KELLOGG E.A. et STEVENS P., 2002** : Botanique systématique : une perspective phylogénétique. Ed. 1, DEBOECK, pp 84-336.

**KAMBOUCHE N. et EL ABED D., 2003** : Composition of the volatile oil from the aerial parts of *Trachyspermum ammi* L. Sprague from Oran (Algeria), J. Essent. Oil Res. Vol. 15, pp 39-40.

**KELHI A., 2013** : Bacteria slides : Aerobic, Gram-negative. 4p.

**KIZIL S. ; HASIMI N. ; TOLAN V. ; KILINC E. et YUKSEL U., 2010** : Mineral content, essential oil components and biological activity of two *Mentha* species (*M. piperita* L., *M. spicata* L.). Turkish Journal of Field Corps. 15(2), pp 148-153.

**KONIG C., 2004** : Guides des bonnes pratiques hygiéniques. J. officiels, Paris, 45p.

**KONGO-NZUZI Y., 2009** : Evaluation in vitro des pouvoirs antifongique des extraits de feuille de papayer sur des souches de *Candida albicans*. Tech. de laboratoire. ISTM. Kinshasa, 120p.

**KUMPAWAT N. ; CHATURVEDI A. ; UPADHYAY R.K., 2010** : A comparative study of corrosion inhibition efficiency of stem and leaves extract of *Ocimum sanctum* (Holy Basil) for mild steel in HCl solution. Protect. Metals Phys. Chem. Surf. 46(2), pp 267-270.

**LAGHOUITER O.K., 2012** : Etude des activités biologiques des huiles essentielles de menthe de la région de Ghardaïa. Mém. mag. Univ. Laghouat, 126p.

**LAKHANPAL P. et RAI D.K., 2007** : A versatile flavonoid. Journal of Medical. Vol. 2, pp 22-37.

**LANDOLT P.J., 1993** : Effects of host plant leaf damage on cabbage looper moth attraction and oviposition. Entomol. Exp. Appl. Vol. 67, pp 79-85.

**LEROUX P. et GREDET A., 1978** : Document sur l'étude de l'activité des fongicides. Versailles : INRA, 26 p.

**LEWIS W.J. ; VAN LENTEREN J.C. ; PHATAK S.C. et TUMLINSON J.H., 1997** : A total system approach to sustainable pest management. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 94, pp 12243-12248.

**MACHEIX J.J. ; FLEURIET A. et SARNI-MANCHADO P., 2005** : Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques. 192p.

**MAGAN N. et LACEY J., 1988** : Ecological determination of mould growth in stored grain. International Journal of food microbiology. Elsevier 7(3), pp 245-256.

**MAKHLOUFI A., 2013** : Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* Desf. et *Rosmarinus officinalis* L.) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat. Univ. Tlemcen, 136p.

**MAMAN S., 2003** : Contribution à l'étude de l'écologie de *Pergularia tomentosa* et son impact sur les ressources sylvopastorales au niveau du massif forestier de Daddaria (Mainé Soroa). Mém. d'Ingénieur IPR/IFRA de Katibougou. Mali, 61p.

**MANSOUR A., 2009** : Investigation phytochimique de l'extrait n-Butanol de l'espèce *Centaurea Africana*. Mém. mag. Univ. Constantine, 114p.

**MOHAMMEDI Z., 2013** : Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat. Univ. Tlemcen, 170p.

**MOHAMMEDI Z. et ATIK F., 2012** : Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. Rev. Nature & Technologie. N° 06, pp 34-39.

**MOLEYAR V. et NARASIMHAM P., 1986** : Antifungal activity of some essential oil components. Food microbiology, pp 331-336.

**MURRAY P.R. ; MURRAY P.R. ; BARON E.J. ; JORGENSEN J.H. ; PFALLER M.A. et LANDRY M.L., 2007** : Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae. Manual of Clinical Microbiology, 9<sup>th</sup> Ed. Washington, USA, pp 698-711.

**NAGASE N. ; SHIMIZU J. ; KAWANO K. ; YAMASHITA H. ; YOSHIMURA M. ; ISHIMARA et KAWAMO A., 2002** : Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis in Japan. J. Vet. Med. Sci. 64(12), pp 1169-1172.

**OLSSSEN J., 2000** : Modern methods in cereal grain mycology. Doctoral thesis, Swidish univ. of agricultural sciences. Agraria 241, 37p.

**OZENDA P., 1977** : Flore du Sahara. 2<sup>ème</sup> Ed. CNRS, Paris, 622p.

**OZENDA P., 1991** : Flore et végétation du Sahara. 3<sup>ème</sup> Ed. CNRS, Paris, 662p.

**PAOLINI V. ; DORCHIES P.H. et HOSTE H., 2003** : Effet des tanins condensés et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. Alter. Agri., pp 17-19.

**PETER H., 2003** : Biology of plants. 6<sup>th</sup> edition in New York, 927p.

**PHARMACOPÉE EUROPEENNE, 2009** : Huiles essentielles. 6<sup>ème</sup> Ed. Strasbourg, Codex. France.

**PHARMACOPÉE FRANÇAISE, 2012** : Moisissures pour produits allergènes. ANSM, 3p.

**POUSSET J.L. ; REY J.P. ; LEVESQUE J. ; CORSAGET P. et GALEN FX., 1993 :** Hepatitis B surface antigen (HBs Ag) inactivation and angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibition in vitro by *Combretum glutinosum perr.*(Combretaceae), extracts. *Phytotherapy Research*, 7(1), pp 101-102.

**PRESCOTT L. M. ; HARLEY J. P. et KLEIN D. A., 2003 :** Microbiologie, 2<sup>e</sup> édition française, traduction de la 5<sup>e</sup> édition américaine, Ed. De Boeck, 1137 p.

**QUINN P.J. ; MARKEY B.K. ; LEONARD F.C. ; HARTIGAN P. ; FANNING S. et FITZPATRICK E.S., 2011:** *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. ED. Blackwell science, USA, 893p.

**RASOOLI L. ; FAKOOR M.H. ; YADEGARINIA D. ; GACHKAR L. ; ALLAMEH A. et REZAEI M.B., 2008 :** Antimycotoxic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *Food Chemistry*, pp 135-140.

**RICHTER G., 1993 :** Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie. Ed. Presses. Polytechniques et universitaires romandes. 526p.

**RICE-EVANS C.A. et PACKER L., 1998 :** Flavonoids in Health and Disease. Ed. MARCEL DEKKER, pp 61-160.

**RICE E., 1984 :** Allelopathy. Physiological ecology. Academic Press Inc. 413p.

**ROBERT D. et CATESSON A.M., 2000 :** Organisation végétative « biologie végétale ». Tome 2, 352p.

**ROBINET F.G., 1951 :** Saponosides stéroïdes et triterpéniques de synthèse. Thèse Doctorat des Sciences Techniques. Ecole Polytechnique Fédérale, Zurich, Suisse, 83p.

**ROZMAN T. et JERSEK B., 2009 :** Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) against different species of *Listeria*. *Acta agriculturae Slovenica*, 93(1), pp 51-58.

**RUTHVEN D. M., 1984:** Principles of absorption and adsorption processes. John Wiley. New York, 433p.

**SHELZ Z. ; MOLNAR J. et HOHMANN J., 2006 :** Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia* ; Vol. 77, pp279-285.

**SCHMELZER G.H. et GURIB-FAKIM A., 2013 :** Plantes médicinales 2. Ed. PROTA. Wageningen, 417p.

**SHIMELD L.A. et RODGERS A.T., 1999 :** Essentials of diagnostic microbiology. Ed. Delmar, New York, pp 106.

**SINGH G. ; MAURYA S. ; DE LAMPASONA M.P. et CATALAN C., 2006 :** Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. *Food Control*, Vol. 17, pp 745-752.

**SINGH R. ; SHUSHNI M.A.M. et BELKHEIR A., 2011:** Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. Arabian J. of Chemistry. Univ. Libye.

**SHINKAFI S.A., 2014 :** Phytochemical analysis and chromatographic studies of *Pergularia tomentosa* L. and *Mitracarpus scaber* Zucc. British Microbiology Research Journal. 4(5), pp 551-559.

**SITOUH M., 1989 :** Les plantes utiles du Sahara. Ann. Inst. Nat. Agro. El Harrach, Alger ; 13(2), pp 583-658.

**SOUZA C. ; KOUMAGLO K. et GBEASSOR M., 1995 :** Evaluation des propriétés antimicrobiennes des extraits aqueux totaux de quelques plantes médicinales. Méd. Tra. Afro, pp 103-112.

**STEINMETZ M.D. ; ELIAS R. ; MAILLARD C. ; BOUDON G. ; REGLI P. ; BALANSARD G. et GHASTIN C., 1993 :** Recherche d'une activité antitumorale de saponosides triterpéniques. Médicaments et Aliments : L'Approche Ethnopharmacol., pp 331-332.

**TABUC C., 2007 :** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de doctorat. Univ. Toulouse, 190p.

**TATSADJIEU N. ; JAZET M. ; NGASSOUM M.B. ; ETOA X. ; MBOFUNG MF., 2010 :** Investigations on the essential oil of *Lippia rugosa* from Cameroon for its potential use as antifungal agent against *Aspergillus flavus* Link ex. Fries. Food Control, 5, pp161-166.

**THOMAS J.G.N., 1980 :** 5<sup>th</sup> European Symposium on Corrosion Inhibitors. Univ. Ferrara, Italy, 453p.

**UICN., 2005 :** Union Internationale pour la Conservation de la Nature et de ses ressources : A guide to medicinal plants in North Africa, pp107-256p.

**UNESCO., 1960 :** Les plantes médicinales des régions arides. Recherche sur les zones arides. 7<sup>ème</sup> Ed. UNESCO, Rome, 99p.

**WALTON N.J. et BROWN D.E., 1999 :** Chemical from Plants : Perspectives on plant secondary products. Ed. WORLD SCIENTIFIC, pp 1-14.

**YAMEOGO N., 2003 :** Étude de la contribution de l'aviculture traditionnelle urbaine et périurbaine dans la lutte contre les pathologies aviaires au Burkina Faso. CRDI: Univ. d'Ouagadougou, 65p.

**YANGUI T. ; BOUAZIZ M. ; DHOUIB A. et SAYADI S., 2009 :** Potential use of Tunisian *Pituranthos chloranthus* essential oils as a natural disinfectant. Appl. Microbiol. 48(1), pp 112-7.

**ZHIRI A., 2006 :** Aromathérapie : Nutranews. Ed. Fondation libre choix, pp2-16.

**ZIRIHI N.G. ; BOGNAN A. ; ACKAH A.J. ; KRA M.A.K. et GUÉDÉ-GUINA F., 2008 :**  
Evaluation de l'activité antifongique de TEKAM, un extrait de plante, sur la croissance in vitro de *Candida albicans*. Rev. Ivoir. Sci. Technol., N° 11, pp 119-129.

*Annexes*

**Annexe (1) : Sélection de photos des plantes étudiées**



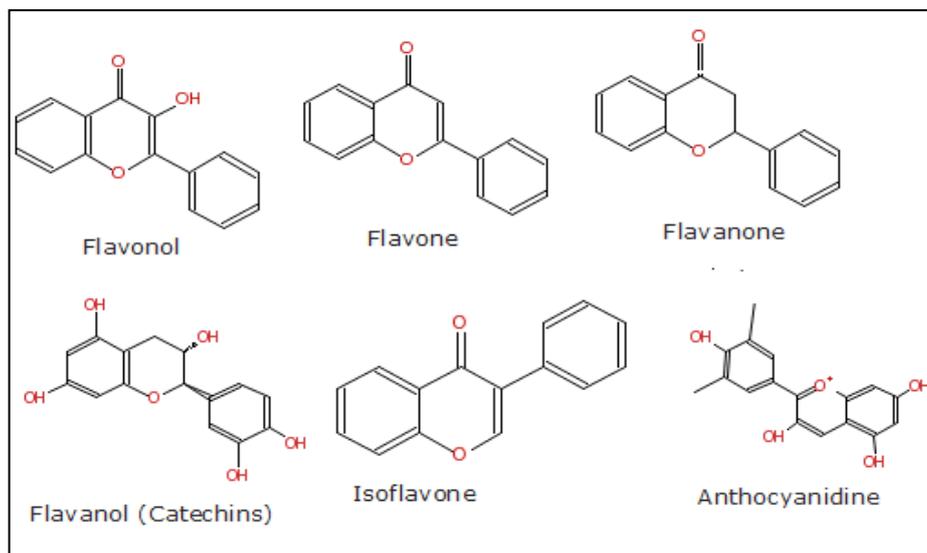
**Figure 21** : Fruits de *Pergularia tomentosa* L. (Anonyme, 2002)



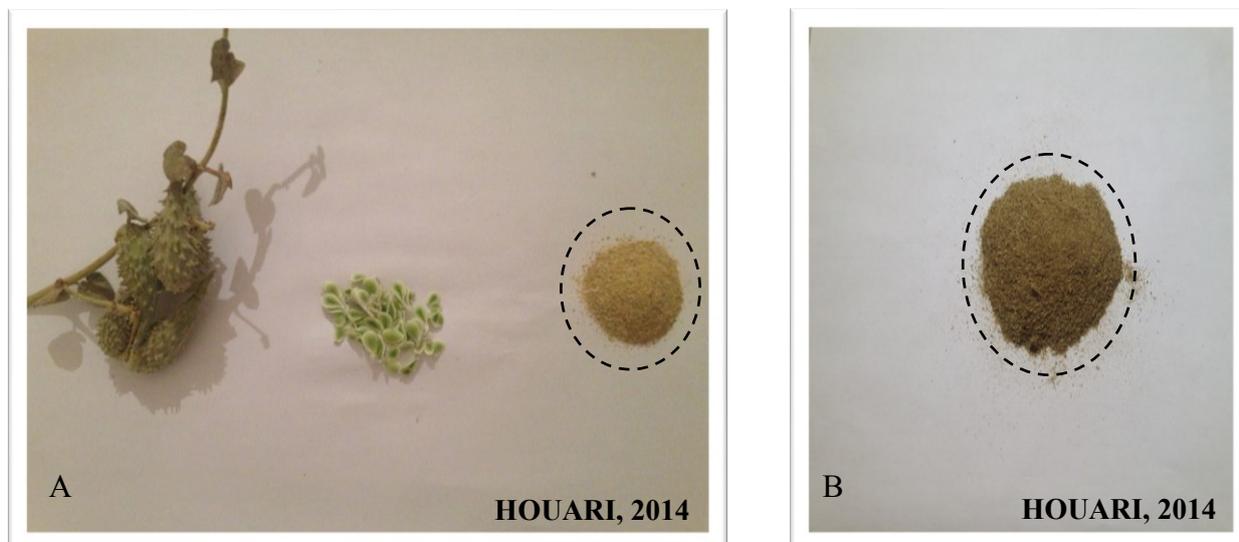
**Photo 22** : Fleurs de *Pergularia tomentosa* L. (Anonyme, 2005)

**Annexe (2) : Les différentes classes des composés phénoliques (DAAYF et al., 2008).**

<i>Squelette carbonée</i>	<i>Classes de composés phénoliques</i>
C <sub>6</sub>	Phénols simples et benzoquinones
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides phénoliques
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acétophénonnes et les acides phenylacétiques
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxy-cinnamiques, coumarines, phénylpropènes, chromons
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphthoquinones
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Xanthones
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes et anthraquinones
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes et isoflavonoïdes
(C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> ) <sub>2</sub>	Tannins hydrolysables
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignanes et néolignanes
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	Biflavonoïdes
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines
(C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Catéchols
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Tannins condensés

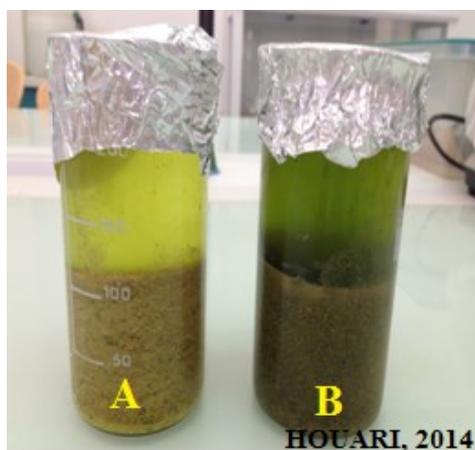
**Annexe (3) : Les différentes classes des flavonoïdes (LAKHANPAL et al., 2007)**

**Annexe (4) : Matériel végétal utilisé**



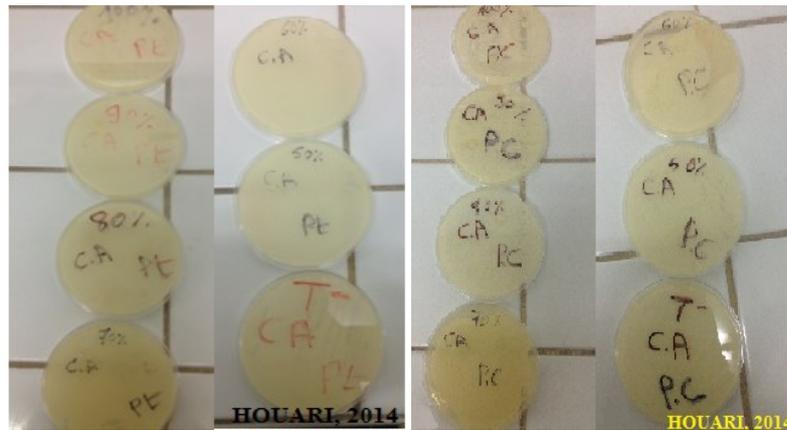
**Figure 23 :** Différentes étapes de préparation des grains des plantes

- A. Poudre des grains de *p. tomentosa*
- B. Poudre des grains de *p. chloranthus*

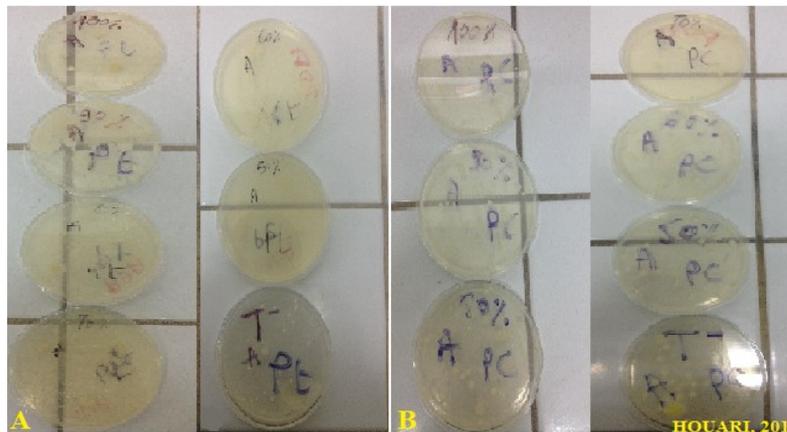


**Figure 24 :** Macération des grains à l'acétone

## Annexe (5) : Matériel biologique utilisé



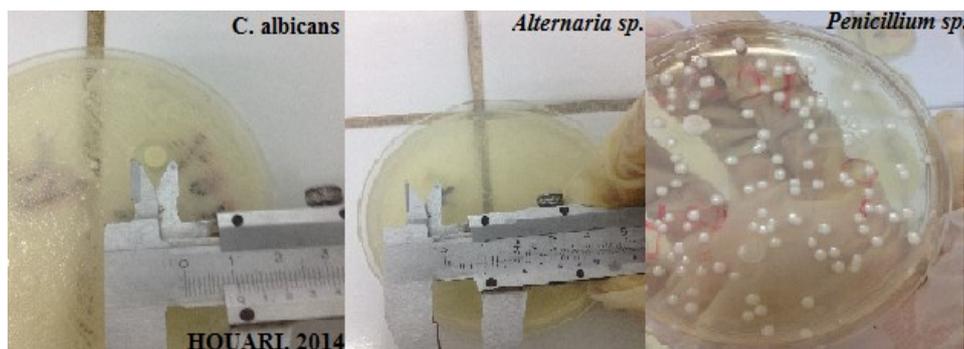
**Figure 25 :** Boîtes de Pétri de *Candida albicans* traitée par l'extrait aqueux de *P. tomentosa* et *P. chloranthus* à différentes concentrations



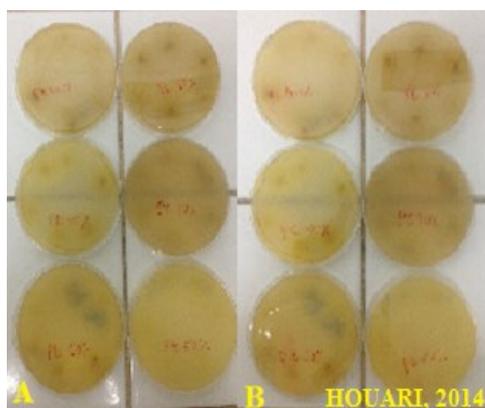
**Figure 26 :** Boîtes de Pétri de *Alternaria sp.* traitée par l'extrait aqueux de *P. tomentosa* et *P. chloranthus* à différentes concentrations



**Figure 27 :** Boîtes de Pétri de *Penicillium sp.* traitée par l'extrait aqueux de *P. tomentosa* et *P. chloranthus* à différentes concentrations

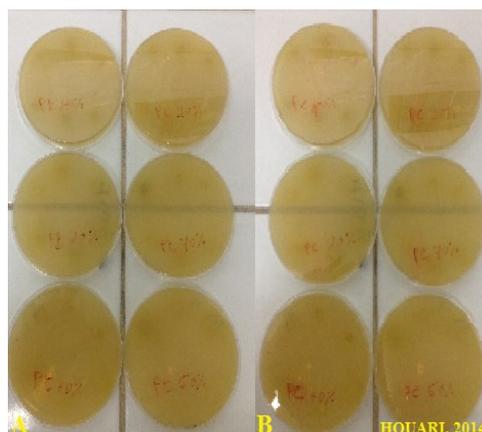


**Figure 28 :** Différentes zones d'inhibition



**Figure 29 :** Boîtes de Pétri de *Staphylococcus sp.* traitée par l'extrait aqueux des plantes à différentes concentrations

A : Traitée par l'extrait de *P. tomentosa* ; B : Traitée par l'extrait de *P. chloranthus*

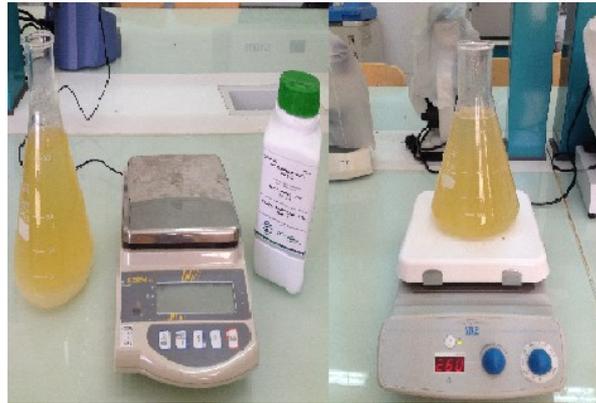


**Figure 30 :** Boîtes de Pétri de *Staphylococcus sp.* traitée par l'extrait aqueux des plantes à différentes concentrations

A : Traitée par l'extrait de *P. tomentosa* ; B : Traitée par l'extrait de *P. chloranthus*

---

**Annexe (6) : Préparation de milieu de culture**



**Figure 31 : Préparation de milieu de culture**

## Résumé : Recherche de l'activité antimicrobienne des extraits de quelques plantes sahariennes

Notre étude porte sur la recherche de l'activité antimicrobienne des extraits de deux plantes présentes au Sahara septentrional *Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadaceae) et *Pituranthos chloranthus* Benth. (Apiaceae). Deux extraits ont été préparés à partir de ces deux espèces l'un aqueux et l'autre huile fixe. Afin de tester son effet antifongique et antibactérien sur les souches microbiennes en utilisant la technique de diffusion en milieu gélosé.

Les résultats ont montré l'effet antifongique de l'extrait aqueux de *P. tomentosa* sur les souches testées à un taux d'efficacité de 100% avec des diamètres d'inhibition d'*Alternaria spp.* (11,33±0,58 mm), *Penicillium spp.* (11 mm) et *C. albicans* (10,67±0,58 mm). Par ailleurs, nous avons constaté que l'extrait aqueux de *P. chloranthus* a montré une activité antifongique seulement sur deux souches *Alternaria spp.* (11,33±0,58 mm) et *C. albicans* (11 mm).

Selon les résultats obtenus, les huiles fixes des deux plantes ont montré une activité antifongique sur les souches testées *Alternaria spp.* (12,67±0,58 mm), *Penicillium spp.* (10,33±1,15 mm) et *C. albicans* (4,67±4,04 mm) traitées par l'huile fixe de *P. tomentosa*.

Un effet antifongique de l'huile fixe de *P. chloranthus*, a été montré sur *Alternaria spp.* (11,33±0,58 mm) et *Penicillium spp.* (7,33±0,58 mm).

En outre, le pouvoir antibactérien de *P. tomentosa* est important sur les souches *Staphylococcus spp.* (12,33±1,15 mm) et *Proteus spp.* (11,33±1,15 mm). Ainsi, que pour l'extrait de *P. chloranthus* sur *Staphylococcus spp.* (11,33±0,58 mm) et *Proteus spp.* (10,33±1,15 mm).

**Mots clés :** Antifongique, antibactérien, extraits, *Pergularia tomentosa* L., *Pituranthos chloranthus* Benth.

**ملخص:** البحث عن التأثير المضاد للميكروبات لمستخلص نباتين تنموان في الجزء الشمالي من الصحراء

إن دراستنا تتمثل في البحث على التأثير المضاد للميكروبات لمستخلص نباتين تنموان في الجزء الشمالي من الصحراء

*Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadaceae) و *Pituranthos chloranthus* Benth. (Apiaceae)

لقد تم تحضير مستخلصين انطلاقاً من كلا النباتين، أحدهما مائي والآخر زيت ثابت ثم قمنا بتجريب أثرهما القاتل للفطريات والبكتيريا وذلك باستعمال تقنية الانتشار في وسط جيلوزي.

أثبتت النتائج التأثير القاتل للمستخلص المائي لـ *P. tomentosa* بنسبة 100 % على كل من *Alternaria spp.* (11,33±0,58 مم) ، *Penicillium spp.* (11 مم) و *C. albicans* (10,67±0,58 مم).

و من جهة أخرى لاحظنا أن المستخلص المائي لنباتة *P. chloranthus* أظهر مفعوله القاتل فقط على *Alternaria spp.* (11,33±0,58 مم) و *C. albicans* (11 مم).

أما فيما يخص النتائج المحصل عليها عند استعمال الزيوت الثابتة لـ *P. tomentosa* فقد كان لها تأثير قاتل على *Alternaria spp.* (12,33±0,58 مم)، *Penicillium spp.* (10,33±1,15 مم) و *C. albicans* (4,67±4,04 مم).

وقد أظهر الزيت الثابت لـ *P. chloranthus* مفعوله على *Alternaria spp.* (11,33±0,58 مم) و *Penicillium spp.* (7,33±0,58 مم).

إضافة إلى ذلك فإن مفعول كل من *P. tomentosa* ظهر على *Staphylococcus spp.* (12,33±1,15 مم) و *Proteus spp.* (11,33±1,15 مم) وكذلك ظهر تأثير *P. chloranthus* على *Staphylococcus spp.* (11,33±0,58 مم) و *Proteus spp.* (10,33±1,15 مم).

**الكلمات المفتاحية:** مضاد فطري، مضاد بكتيري، مستخلص، *Pergularia tomentosa* L.، *Pituranthos chloranthus* Benth.

# *Introduction*

***PARTIE I :***

***Synthèse bibliographique***

***PARTIE II:***

***Matériel et méthodes***

***PARTIE III:***

***Résultats et discussions***

## ***Conclusion***

## *Références bibliographiques*

# *Annexe*