

République Algérienne Démocratique et Populaire
 Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
 Scientifique
 Université Hadj Lakhder- Batna
 Département de Biologie



MEMOIRE
 Pour l'obtention du diplôme de

Magister En Biologie

OPTION

Biochimie appliquée

Présenté par :

ABABSA zine el abidine

Thème

*Etude d'activités biologiques des deux espèces :
 Ammoides atlantica et Ranunculus bulbosus*

Devant le jury :

Président : **Dr YAHIA Mouloud**. Maître de conférences, Université de Batna.

Rapporteur : **Dr BENKIKI Naima**. Maître de conférences, Université de Batna.

Examinateur : **Pr Akkal Salah**. Prof esseur, université de Constantine.

Examinatrice : **Pr HAMBABA Leila**. Prof esseur, université de Batna.

Année Universitaire : 2011-2012

Remerciements

Je remercie le docteur: **Benkiki.N**, d'avoir acceptée d'encadrer mon travail, ainsi pour tous ses: orientations scientifiques, sa patience, ses précieux conseils et notamment son bon foi.

Je remercie le Docteur : **M. YAHIA** qui me fait l'honneur de présider ce jury, et aussi pour tous ses aides du début jusqu'à la fin de la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier aussi le Professeur: **S. Akkal**, pour son soutien, son aide scientifique et technique, et pour son acceptation de juger ce travail.

Je remercie Mme: **L. Hambaba** d'avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie Mr : **K. Medjroubi**, professeur au sein de la faculté des sciences exactes, Université Mentouri-Constantine, pour ses efforts lors de la réalisation de ce travail.

Je remercie Mr : **A. Kalla** enseignant au sein du département de biologie de l'université de Batna, pour son aide et ses disponibilités surtout dans la partie biologique.

Je remercie Mr : **L. Locif**, enseignant au sein du département de biologie de l'université de Batna, pour son aide et ses larges connaissances biologiques.

Je remercie les deux doctorantes : **Ihoual Safia et Karaali Wahiba** pour leurs attributions importantes dans la réalisation des tests biologiques.

Je remercie Dr : **S. Louaâr**, enseignante au sein du département de Chimie, université de Constantine, pour ses attributions à ce travail, et ses orientations, surtout lors de la réalisation de la partie chimique au niveau de son laboratoire.

Liste des figures

Figure1. Antony van Leeuwenhoek et ses microscopes.....	15
Figure 2. Les premières bactéries vues (de la bouche).....	15
Figure 3. Pasteur.....	17
Figure 4. Rob koch.....	17
Figure 5. Morphologie bactérienne.....	19
Figure 6. Structure d'une bactérie avec ses différents éléments: obligatoires et facultatifs.....	20
Figure7. Schéma de la paroi des bactéries à gram négatif.....	21
Figure8. Schéma de la paroi des bactéries à gram positif.....	22
Figure9. Un Pénicillium (forme de pinceau) observé au microscope.....	31
Figure10. Une photo de la plante <i>Ammoides Atlantica</i>	37
Figure11. Chromatographie sur couche mince de l'extrait d'acétates d'Ethyle de l'espèce <i>Ammoides Atlantica</i>	38
Figure12. Chromatographie bidimensionnelle de l'extrait acétates d'Ethyle de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i>	40
Figure13. Chromatographie bidimensionnelle de l'extrait butanolique de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i>	40
Figure14. Photo de la plante <i>Ranunculus bulbosus</i>	41
Figure15. Protocole du test d'activité anti-bactérienne sur milieu liquide.....	55
Figure16. L'extrait méthanolique d' <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Escherichia coli</i>	57
Figure17. L'extrait méthanolique d' <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Figure18. L'extrait méthanolique d' <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	57
Figure19. L'extrait butanolique d' <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	57
Figure20. L'extrait butanolique d' <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Figure21. L'extrait butanolique de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Escherichia coli</i>	57
Figure22. L'extrait d'acétates d'Ethyle d' <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Escherichia coli</i>	57
Figure23. L'extrait d'acétates d'Ethyle d' <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Staphylococcus aureu</i>	57
Figure24. L'extrait d'acétates d'Ethyle d' <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	57
Figure25. L'extrait d'acétates d'Ethyle de <i>Ranunculus bulbosus</i> avec <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	57
Figure26. L'extrait d'acétates d'Ethyle de <i>Ranunculus bulbosus</i> avec <i>Escherichia coli</i>	58
Figure27. L'extrait d'acétates d'Ethyle de <i>Ranunculus bulbosus</i> avec <i>Staphylococcus aureus</i>	58
Figure28. L'extrait butanolique de <i>Ranunculus bulbosus</i> avec <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58
Figure29. L'extrait butanolique de <i>Ranunculus bulbosus</i> avec <i>Staphylococcus aureus</i>	58
Figure30. L'extrait butanolique de <i>Ranunculus bulbosus</i> avec <i>Escherichia coli</i>	58
Figure31. <i>Trichloro cutanum</i> avec les extraits : B ,C et D.....	60
Figure32. <i>Candi allicams</i> avec les extraits : B ,C et D.....	60
Figure33. La courbe qui montre la variation des premiers pourcentages d'inhibitions (I %) en fonction des premières valeurs des concentrations internes.....	64
Figure34. La courbe qui montre la variation des premiers pourcentages d'inhibitions (I %) en fonction des premières valeurs des concentrations internes.....	66
Figure35. La courbe qui montre la variation des moyennes des deux pourcentages d'Inhibition en fonction des concentrations internes.....	68
Figure36. Variation des pourcentages d'Inhibition du quercetine en fonction des concentrations internes.....	69

Liste des histogrammes

Histogramme 01 : variation des pourcentages d'inhibition en fonction des groupes d'animaux qui ont reçu un extrait spécifique.....	51
Histogramme 02 : Histogramme qui montre la variation des premiers pourcentages d'inhibitions (I %) en fonction concentrations internes.....	64
Histogramme 03 : Histogramme qui montre la variation des deuxièmes pourcentages d'inhibitions (I %) en fonction des deuxièmes valeurs des concentrations internes.....	66
Histogramme 04 : Histogramme qui montre la variation des moyennes des deux pourcentages d'Inhibition en fonction des concentrations internes.....	68
Histogramme 05 : variation des pourcentages d'Inhibition du quercetine en fonction des concentrations internes.....	70
Histogramme 06 : les valeurs des IC 50 de l'extrait méthanolique de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i> et celle du quercetine.....	71

Liste des tableaux

Tableau 01 : Identification de l'essai : lot Témoin (eau physiologique).....	47
Tableau 02 : Identification de l'essai : lot de référence (Aspirine).....	48
Tableau 03 : Identification de l'essai: lot 01 (extrait butanolique de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i>).....	48
Tableau 04 : Identification de l'essai lot 02 (extrait Acétates d'éthyle de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i>).....	49
Tableau 05 : Identification de l'essai : lot 03 (extrait Acétates d'éthyle de l'espèce <i>Ranunculus bulbosus</i>).....	50
Tableau 06 : listes des abréviations des tests d'activité antibactérienne.	56
Tableau 07 : listes des abréviations des tests d'activité anti-fongique.....	60
Tableau 08 : les concentrations externes et internes du test sur l'activité anti-oxydante de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i>	62
Tableau 09 : Les premières mesures des absorbances de chaque solution interne du test sur l'activité anti-oxydante de l'extrait méthanolique de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i>	63
Tableau 10 : Les premières mesures des absorbances de chaque solution interne du test sur l'activité anti-oxydante de l'extrait méthanolique de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i>	65
Tableau 11 : Les moyennes des deux mesures des absorbances de chaque solution interne ainsi que leurs écarts types.....	67
Tableau 12 : les concentrations internes (DPPH avec le quercetine) sont représentées avec leurs pourcentages d'inhibition.....	69
Tableau 13 : les valeurs des IC 50.....	70

Liste des schémas

Schéma 1 . Protocole d'extraction de l'espèce « <i>Ammoides atlantica</i> »	39
Schéma 2 . Protocole d'extraction de l'espèce <i>Ranunculus bulbosus</i> ...	43

LE SOMMAIRE

Introduction.....	01
Chap 01 :	
I-1-Introduction.....	4
I-2-Flavonoïdes, Distribution, Classification	5
I-2-1- Classification des flavonoïdes selon la composition chimique	6
-a- Flavones, Flavonols	6
-b- Flavanones et dihydroflavonols	6
-c- Biflavonoïdes	6
-d- Chalcones, aurones	6
-e- Les anthocyanes	6
Références bibliographiques.....	9
Chap 02	
II. 1. L'activité antioxydante des flavonoïdes	10
II.2. L'activité antimicrobienne des flavonoïdes.....	11
II. 3. L'inhibition des enzymes.....	12
II.4. Activité antifongique.....	12
II.5. l'activité antiulcéreux.....	13
II.6. l'activité anticancéreuse.....	13
II.7. l'activité anti-inflammatoire.....	13
II.8. L'activité antibactérienne.....	14
II.8.1- Introduction.....	14
II.8.2- La découverte du monde microbien.....	14
II.8.3- Rôle des microorganismes dans les maladies.....	16
II.8.4- L'infection.....	17
II.8.5- Morphologie et Structure fine des bactéries.....	17
II.8.6- Bactériologie médicale.....	22
II.8.6.a- bactéries à gram négatif.....	22
II.8.6.a-1- Genre <i>Pseudomonas</i>	22
II.8.6.a-2- Genre <i>Acinetobacter</i>	23
II.8.6.a-3- Famille des Entérobactéries.....	24
II.8.6.b-bactéries à gram positif.....	26
II.8.6.b-1- Genre <i>Staphylococcus</i>	26
II.8.6.b-2- Les Streptocoques.....	27
II.8.7- Les Antibiotiques.....	27
II.8.6.1- Introduction.....	27
II.8.6.2- Définition.....	28
II.8.6.3- Une découverte très ancienne.....	29
II.8.6.4- Les premiers agents antibactériens.....	29
II.8.6.5- La pénicilline.....	30
II.8.6.6- Mode d'action des antibiotiques et Résistance bactérienne.....	32
Bibliographie.....	34
Chap 03	
III. L'étude chimique des deux espèces.....	37

III.1. L'étude chimique de l'espèce: <i>Ammoides atlantica</i>	37
III. 1. 1. La matière végétale.....	37
III. 1. 2. Description botanique de la plante.....	37
III. 1. 3. Place dans la systématique.....	37
III. 1.4. Extraction.....	38
III. 1.5. Séparation chromatographique des deux extraits (AcOEt) et butanol.....	40
III. 2. L'étude chimique de l'espèce <i>Ranunculus bulbosus</i>	41
III.2.1. La matière végétale.....	41
III. 2.2 Description botanique de la plante.....	41
III.2.3. Place dans la systématique.....	42
III. 2.4. Extraction.....	42
Bibliographie.....	44
Chap 04	
IV. Tests biologiques.....	45
IV.1. Activité anti inflammatoire.....	45
IV.1.1. Méthode : œdème à la carragénine chez la souris selon Levy.....	45
IV.1.2. Préparation des solutions.....	45
IV.1.2.1. Préparation de l'Acide acétyle Salicylique (ASS).....	45
IV.1.2.2. Préparation de l'eau physiologique.....	45
IV.1.2.3. Préparation de solution de carragénine.....	45
IV.1.3. Protocole expérimental.....	45
IV.1.3.1. Constitution des lots.....	45
IV.1.3.2. les administrations.....	46
IV.1.3.2.1. administrations des substances à tester (lots test).....	46
IV.1.3.2.2. administrations de l'Acide acétyle Salicylique (lots référence).....	46
IV.1.3.2.3. administrations du témoin (lots test).....	46
IV.1.3.2.4. injection de la carragénine (tous les lots).....	46
IV.1.3.2. injection intra plantaire de l'eau physiologique (tous les lots).....	46
IV.1.3.3. sacrifice des animaux.....	46
IV.1.3.4. peser les pattes.....	46
IV.1.3.5. Calcul du pourcentage d'inhibition.....	47
IV.1.3.6. Résultats.....	47
IV.1.3.6.1. Identification de l'essai : lot Témoin.....	47
IV.1.3.6.2. Identification de l'essai : lot de référence.....	47
IV.1.3.6.3. Identification de l'essai: lot 01.....	48
IV.1.3.6.4. Identification de l'essai : lot 02.....	49
IV.1.3.6.5. Identification de l'essai : lot 03.....	50
IV.1.4. Discussions.....	51
IV.2. Activité antibactérienne.....	51
IV.2.1. Protocole du test d'activité antibactérienne des extraits.....	51
IV.2.1.1. Préparation des disques de papiers buvard.....	52
IV.2.1.2. Préparation du témoin.....	52
IV.2.1.3. Préparation de la suspension des souches de référence.....	52
IV.2.1.3.1. Souches cibles utilisées.....	52
IV.2.1.3.2. Origine.....	52
IV.2.1.3.3. Vérification de la pureté des souches.....	52
IV.2.1.4. Inoculum.....	53

IV.2.1.5. Contrôle de l'inoculum.....	53
IV.2.1.6. Ensemencement.....	53
IV.2.1.7. Application des disques.....	54
IV.2.1.8. Lecture.....	55
IV.2.2. Résultats	56
IV.3. Activité antifongique	59
IV.3.1. Protocole du test d'activité antifongique des extraits	59
IV.3.2. Protocole expérimental	59
IV.3.3. Résultats	59
IV.3. Activité anti-oxydante	61
IV.3. 1. Détermination de l'activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique de <i>Ammoides atlantica</i> par la méthode de DPPH (effet scavenger).....	61
IV.3. 1. 1. Le protocole expérimental	61
IV.3. 2. Résultats et discussions	62
Bibliographie.....	72
Conclusion générale.....	73

Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus d'où l'homme puise non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent souvent un bienfait à son organisme parfois affecté de troubles insidieux [1].

La connaissance par l'homme de l'utilisation des plantes, qu'il s'agisse de plantes alimentaires, médicinales ou toxiques, est très ancienne [2]. Alors que se soigner par les plantes est un instinct, qui se retrouve d'ailleurs dans le comportement des animaux. Cette pratique a engendré d'innombrables croyances sur ce qui sauve la vie et sur les forces qui lui sont néfastes. Beaucoup de remèdes phytothérapeutiques sont nés des observations, de l'inspiration et de l'expérience des guérisseurs, devenus des personnages révéérés dans toutes les tribus et chez tous les peuples [3]. Ces notes, observations et applications ont été enregistrées depuis des millénaires dans les diverses parties du monde [4]. Les plus anciens sont des tablettes d'argile gravées de signes cunéiformes, datant de l'époque sumérienne vers le IV^e millénaire, qui représentent des "Recueils de Formules de Plantes Médicinales";

Le Shennong Bencao Jing (2000 ans av. J.C.) considéré comme le premier recueil de " *Matière Médicale*", il contient 365 remèdes d'origine végétale par analogie aux 365 jours de l'année; le Papyrus égyptien d'Ebers (1510 av. J.C.) décrit plusieurs maladies et leurs traitements avec les plantes médicinales; l'Ayurveda ou " *Science de la Vie*" qui regroupe de très anciens textes médicaux indiens [1]. Mais c'est vers 1865 que le docteur Auguste Soins donne le nom de " *Phytothérapie*" pour définir la médecine par les plantes [4].

Les indications données par la phytothérapie ou l'aromathérapie, n'ont pas pour but de faire oublier ou sous-estimer l'importance de toute la profession médicale et de la médecine, à condition que celle-ci soit avant tout humaine et respecte fidèlement le serment d'Hippocrate: "*primum non nocere*": "*d'abord, ne pas nuire*". Les médecines douces ne visent pas à encourager chacun à devenir son propre médecin; en effet, il faut savoir qu'à n'importe quel stade de la maladie, intervient un élément très important: "*Le Diagnostic*", qui ne saurait relever que d'un professionnel [4].

La pensée scientifique occidentale traditionnelle s'attache à expliquer un tout en analysant les propriétés des éléments qui le composent. Ainsi, la botanique expose la "*fonction*" de chaque partie d'une plante, et la chimie analyse ses composants pour "*isoler les principes actifs*". Toutefois, en se fondant sur des hypothèses très circonscrites, les chercheurs occidentaux ont peut être négligé certaines interactions subtiles entre les plantes et l'homme.

Au contraire, les phytothérapeutes soutiennent depuis longtemps que la plante forme un tout et que ses composants actifs n'agissent pas isolément. Aujourd'hui, la physique quantique, qui met l'accent sur les processus naturels plus que sur les éléments, donne une certaine crédibilité à cette théorie en ouvrant la voie à une nouvelle compréhension de la maladie comme "*dysharmonie*" [3].

Une plante agit par l'ensemble de ses constituants, vivifiés et dosés par le végétal lui-même dont c'est le rôle exclusif. Lorsque l'on en extrait une substance unique considérée comme le principe actif, il s'agit en général d'un poison dont l'usage peut être valable, mais il s'agit alors là d'une branche très spéciale de la pharmacopée allopathique [4]. Les herboristes utilisent la plante entière pour préparer des remèdes qui offrent une guérison lente mais plus sereine et plus sûre que les médicaments puissants, fabriqués à partir d'agents isolés, qui provoquent plus d'effets secondaires. Des études américaines ont confirmé la présence de substances diminuant le besoin d'alcool dans le kudzu (*Pueraria lobata*), utilisé depuis longtemps en Chine contre l'alcoolisme. Mais isoler le principe actif d'une plante peut engendrer des effets secondaires qui se manifestent moins, différemment ou pas du tout lorsqu'on utilise la plante entière. Il semble en effet que certains de ses composants équilibrent le principe actif. Dans la médecine chinoise, il est rarement administré une plante seule mais combinée avec d'autres pour renforcer son action et contrecarrer ses effets secondaires. Les Chinois attribuent une valeur thérapeutique à la combinaison de certaines plantes et de certains aliments [3].

Pour cela, le retour vers le naturel est devenu indispensable, et il s'élargit d'un jour à l'autre avec des substances plus puissantes, plus toxiques et plus coûteuses. La condition principale pour ce regain, est une étude scientifique rigoureuse et rationnelle des différentes activités des extraits naturels.

Et dans ce cadre vient notre travail, qui est divisé en quatre chapitres : Dans le premier chapitre, nous aborderons les métabolites secondaires (flavonoïdes, sesquiterpènes, alcaloïdes...) avec ses différentes classes. Dans le deuxième chapitre nous exposerons les activités biologiques des flavonoïdes (anti-inflammatoire, antifongique, anti bactérienne...) ; le troisième chapitre est réservé à l'étude chimique des deux plantes étudiées : *Ammoides atlantica* et *Ranunculus bulbosus* (description des deux plantes, protocole d'extractions, tests chromatographiques...), et nous terminerons avec le quatrième chapitre qui concerne les tests biologiques des différents extraits (méthanolique, acétates d'éthyle et butanolique) des deux espèces.

Références bibliographiques :

[1] Baba-Aissa F., (2000), Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. *EDAS Algérie*.

[2] Sévenet T., Tortora C., (1994), Plantes, molécules et médicaments. Nathan, *CNRS Editions.Paris*.

[3] Bremness L. (1998), Les plantes aromatiques et Médicinales. *Bordas Editions*.

[4] Bernadet M. (2000), Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles, *Editions Dangles*.

CHAPITRE - I -
LES
FLAVONOIDES

I.1. Introduction

Le mot « flavonoïde » a été introduit en 1952 par HINREIER pour désigner tous les pigments ayant un squelette $C_6-C_3-C_6$ analogue à celui des flavones, lui-même dérivant du Latin *flavus* qui signifie jaune [9].

Les flavonoïdes sont presque toujours hydrosolubles, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits, et parfois des feuilles. Tel est le cas des flavonoïdes jaunes (chalcones, aurones, flavonols jaunes), des anthocyanosides rouges, bleus ou violets. Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de co-pigment : tel est le cas des flavones et des flavonols incolores co-pigmentant et protégeant les anthocyanosides [10].

Dans certains cas, la zone d'absorption de la molécule est située dans le proche ultraviolet : la coloration n'est alors perçue que par les insectes qui sont ainsi efficacement attirés et guidés vers le nectar et donc contraints à assurer le transport du pollen, condition de la survie de l'espèce végétale [10].

Les flavonoïdes sont également présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, assurant ainsi la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet.

I.2. Flavonoïdes, Distribution, Classification

L'étude des Flavonoïdes a suscité notre intérêt, du fait de leur intérêt pharmacologique, de leurs nombreuses implications dans des domaines biologiques et de leur diversité structurale (plus de 4000 structures flavoniques identifiées à l'heure actuelle) [11].

Ils constituent l'un des grands groupes de phénols, et sont des constituants caractéristiques des plantes vertes à l'exception des algues [12].

On signale qu'environ 2% du carbone photosynthétique global sont incorporés dans la biosynthèse flavonique [11-12].

Abondants dans les plantes supérieures, on les rencontre essentiellement dans les feuilles et les fleurs. Mais ils sont également signalés dans les racines, le bois, l'écorce, le pollen, le nectar, les baies et les grains [12]. Leur concentration dans la cellule végétale excède souvent 1 μ M [13].

Très répandus dans les végétaux, les flavonoïdes existent sous forme de combinaisons, les plus fréquentes étant les hétérosides [9]. Ainsi, les flavonoïdes glycosylés se trouvent principalement dans les vacuoles et leurs aglycones sont présents dans les zones lipophiles, comme les glandes (à sécrétion) huileuses ou les couches de cire [13], telles les glandes de l'odorat du castor, la propolis (abeilles à sécrétion), et les ailes des papillons. Quant à leurs aglycones O-méthylés on les trouve dans le cytoplasme [14].

On peut les rencontrer aussi dans les chloroplastes des feuilles des plantes supérieures [15]. Comme il est possible de les localiser fixés sur les héli-cellules des parois cellulaires [16].

Les génines sont des dérivés polyhydroxylés, parfois méthoxylés ou méthylés de la chromone ou benzol γ -pyrone, Fig. 1 [17].

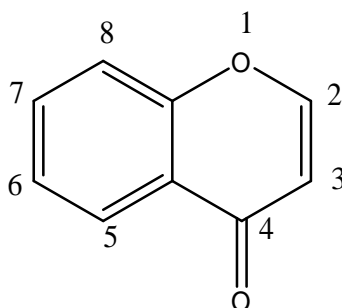


Fig 01 : Benzol γ -pyrone

I.2.1. Classification des flavonoïdes selon la composition chimique

Dans toutes les classes de flavonoïdes mentionnées ci-dessus, la biosynthèse justifie la présence fréquente d'au moins trois hydroxyles phénoliques en C₅-C₇ et C₄.

a- Flavones, Flavonols

Ces molécules représentent la majorité des flavonoïdes connus. Le cycle A est, dans plus de 90% des cas, substitué par deux hydroxyles phénoliques en C₅ et en C₇. Ces hydroxyles peuvent être libres ou étherifiés. Le cycle B est substitué dans 80% des cas en C₄. [10].

b- Flavanones et dihydroflavonols

Ces molécules sont caractérisées par l'absence de double liaison en 2, 3 et par la présence de centres d'asymétrie.

Dans les Flavanones naturelles, le carbone C₂ est normalement de configuration (2S). Si, pour les dihydroflavonols, quatre isomères sont théoriquement possibles, la presque totalité des composés de la série connus à ce jour sont de configuration 2R ou 3R, le phényle et l'hydroxyle étant en *trans* [10].

c- Biflavonoïdes

Les flavonoïdes peuvent se lier les uns aux autres, en particulier par leurs carbones, très réactifs, C₆ ou C₈. La majorité des biflavonoïdes naturels sont des dimères de flavones et de flavanones [10].

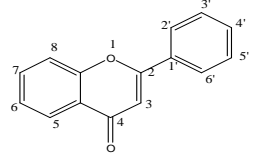
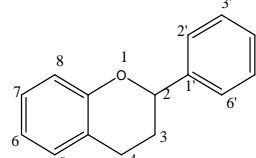
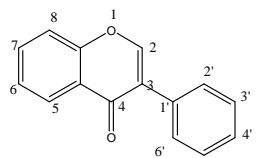
d- Chalcones, aurones

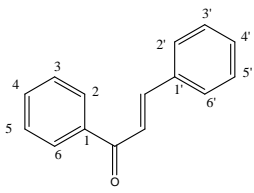
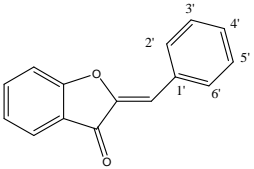
Les chalcones, dépourvus de l'hétérocycle central, sont caractérisés par la présence d'un chaînon tri-carboné cétonique dont la liaison α - β est insaturée [10].

e- Les anthocyanes

Ce sont des pigments rouges en milieu acide, et bleu en milieu basique : ils sont très répandus dans les fleurs et les fruits. Ils ont une structure C₆-C₃-C₆ dans laquelle l'élément en

C₃ est sous forme d'ions pyrilium, alors que l'oxygène a une structure oxonium ionique. Ils sont présents dans la nature sous forme hétérosidique [10].

CLASSES		Nom de la famille	Nom	Hydroxylation
Dérivés	Structure			
Phenyl-2-chromone		Flavone Flavonol Flavanone (C ₂ -C ₃ liaison simple)	Apigénine Myricétine Butine	5, 7, 4' 3, 5, 7, 3', 4', 5' 7, 3', 4'
Phenyl-2-chromone		Catéchines (flavanols-3)	Gallocatechine	5, 7, 3', 4', 5'
Phenyl-3-Chromone		Isoflavone	Genisteine	5, 7, 4'

<p>Chalcone</p>	 <p>The structure shows a chalcone molecule with two phenyl rings. The left ring is numbered 1 to 6, and the right ring is numbered 1' to 6'. The carbonyl group is at position 1, and the double bond is between positions 2 and 2'.</p>	<p>Chalcone</p>	<p>Buteine</p>	<p>3, 4, 2', 4'</p>
<p>Aurone</p>	 <p>The structure shows an aurone molecule. It features a benzofuranone core with a phenyl ring at position 2. The phenyl ring is numbered 1' to 6', and the core is numbered 1 to 6. The carbonyl group is at position 1, and the double bond is between positions 2 and 2'.</p>	<p>Aurone</p>	<p>Aureusidine</p>	<p>4, 6, 3', 4'</p>

Références bibliographiques

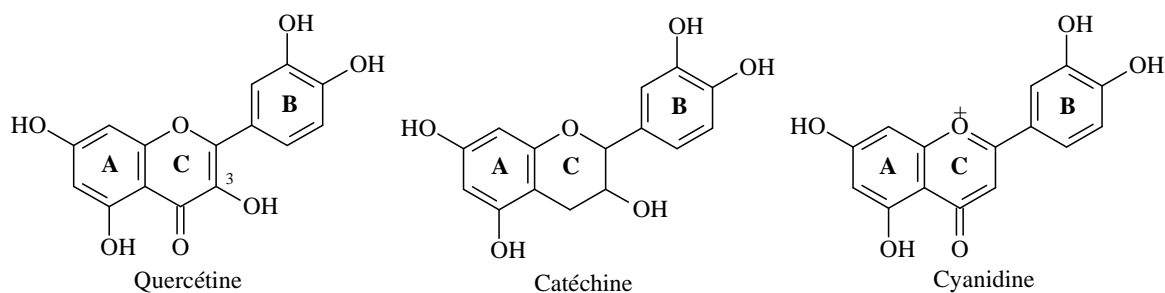
- [1] **J. Menz, R.k. Winkelmann**, contact dermatitis, 1987, 16, p169.
- [2] **F. Bohlmann, S.postulka et J. Ruhuke**. chem.Ber.1988, 91, p1462.
- [3] **P. Aclinou, A. Boukerb, J. Bouquant et G. massiot**, plantes des Aurès, constituants des racines de *Centaurea*, plantes médicinales et phytothérapie, 1982, p303.
- [4] **J. M Viguera, j.sanchez et i.sanchez grassas yaceites**, 1996, 15, p181
- [5] **R.Riberan gayon**, les composés phénoliques des végétaux dunod, paris, 1968.
- [6] **a.g.gonzalez, j.m.ortega, j.bermjo et j.l.breton**. **anales.Soc.Esp.Fis.Quin**, 1971, 67, P1243
- [7] **H. Skaltsa, D. Lazari, C. Panagouleas, E. Georgiadou, B. garcia et M. S. Sokovic**, **Phytochemistry**, 2000, 55(8), p 908.
- [8] **KH. M. Alimov**, Questions of pharmacy and pharmacology, Tashkent, 1973, 1, p 94.
- [9] **P. Ribereau**, Les composés phénoliques des végétaux, 1968.
- [10] **Jean Bruneton**, Pharmacognosie Phytochimie Plante médicinales, 3^{ème} édition, 1993.

CHAPITRE - II -
L'ACTIVITE
BIOLOGIQUE DES
FLAVONOIDES

II. 1. L'activité antioxydante des flavonoïdes

Il a été montré que les flavonoïdes agissent comme des fixateurs de plusieurs espèces oxydantes ; tel que l'anion peroxyde (O_2^-), le radical hydroxyle ou les radicaux peroxydes [1].

Les données de la littérature montrent une mise en évidence de certains rapports entre la structure flavonique et l'activité antioxydante. En outre, la comparaison entre la quercétine, la catéchine et la cyanidine démontre l'importance de la présence de l'hétérocycle (C) [2].



La présence du groupe hydroxyle 3-OH attaché à la double liaison $C_2=C_3$, et son emplacement adjacent au groupement carbonyle de l'hétérocycle (C) en position C_4 est exigé pour la grande efficacité de l'activité antioxydante [3]. Cette activité antioxydante atteint son maximum quand le noyau B est substitué par un système orthodihydroxyle.

La O-méthylation des substituant hydroxyyles du squelette flavonique annule l'activité antioxydante des flavonoïdes [3].

Dans la plupart des articles récents, l'activité antioxydante est mesurée, en utilisant le dosage de la peroxydation lipidique (LPO) [11]. Il existe une relation entre la structure flavonique, et l'inhibition de la peroxydation lipidique :

Le groupement hydroxyle en position 3 de l'hétérocycle (C) :

Il a été trouvé que les flavonoïdes possédant un groupement 3-OH libre tel que : la morine, la myricétine, la quercétine, (+)-Catéchine, la fisétine et d'autre ont une capacité inhibitrice plus grande comparé à ceux qui n'ont pas, tel que les flavones : la diosmétine, l'apigénine et les flavanones : l'héspertine et la naringénine.

2. La double liaison $C_2=C_3$ [4] : La réduction de cette double liaison réduit le potentiel antioxydant.

3. Dans certains cas, la présence du groupement carbonyle en $C_{(4)}$ de l'hétérocycle (C) est essentielle pour le potentiel antioxydant [4] : La catéchine a un potentiel antioxydant plus faible comparé à celui de la quercétine.

4. Le nombre des groupements hydroxyles [5] :

L'activité antioxydante des flavonoïdes augmente avec le nombre des groupes OH substitués sur le noyau B. La myricétine a une activité antioxydante plus grande que celle du kaempférol.

5. Les groupements hydroxyles en position 3, 5, 7, 3', 4' participent dans l'inhibition de la peroxydation lipidique [20].

6. La capacité antioxydante des flavonoïdes revient à leur aptitude à former des chélates métal-ion, par l'ensemble (3-hydroxy, 4-oxo) ou (5-hydroxy, 4-oxo) [6].

7. Les groupes hydroxyles 5-OH, 7-OH, et la double liaison $C_2=C_3$ qui sont des sites potentiels de réactivité, sont essentiels pour l'activité inhibitrice des flavonoïdes de l'enzyme Xanthine oxydase (X.O.) et du radical peroxyde produit par ce dernier [15].

II.2. L'activité antimicrobienne des flavonoïdes

Il est connu que les flavonoïdes sont synthétisés par les plantes lors de l'invasion microbienne [3], il est logique par conséquent, qu'ils soient des substances antimicro-biennes efficaces *in vitro* contre les microorganismes [3,16].

Il a été montré que les composés flavoniques les moins polaires, c'est-à-dire les moins substitués par des groupes OH sur le noyau B, sont les plus actifs vis-à-vis des microorganismes [25], cela est renforcé par la découverte que la méthylation des flavonoïdes augmente l'activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* [6].

Dans le cas du methicillin-resistant *S. aureus*, les chaînes aliphatiques latérales dans les flavones (dans la position 6 ou 8), rendent la molécule plus lipophile et augmentent son activité antimicrobienne comparé aux flavones non substituées [10]. Il a été montré avec la bactérie cariogénique (*Actinomyces viscosus* et *A. naeslundii*, several *Streptococci*) que la présence des groupes hydroxyles sur les noyaux A et B essentiellement (5-OH), plus une substitution aliphatique sur le noyau A, détermine l'activité antibactérienne des flavones [13].

Cependant, il a aussi été constaté que les flavonoïdes lipophiles (méthoxylés) n'étaient pas de bons agents protecteurs contre les microorganismes [21], cela est confirmé par le fait que les dérivés glycosylés de la quercétine et de la quercétagetine ont montré des activités antimicrobiennes considérables contre les microorganismes pathogéniques [21].

La présence des groupes hydroxyles libre dans les positions 3, 3', 4' et 5' est indispensable pour l'activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* et *Proteus vulgaris* [11], cela est supporté par le résultat de Puupponen-Pimiä, dans lequel ils ont testé l'activité antibactérienne de la myricétine contre la *Lactobacilli* et *E. coli* [14].

II. 3. L'inhibition des enzymes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques, qui réagissent avec les protéines, ainsi ils peuvent réagir avec les enzymes par des processus biologiques à l'intérieur des cellules [4].

Des expériences menées *in vitro* ont montré que les flavonoïdes inhibent plusieurs enzymes [15,16] tel que l'histidine carboxylase, l'élastase, l'aldose réductase, la lipooxygénase, la cyclooxygénase, l'hyaluronidase et la phosphodiétyrase [15].

Des tests sur plusieurs flavonoïdes ont montré leur capacité d'inhiber les enzymes clés de la respiration mitochondriale : la double liaison $C_2=C_3$ et la fonction cétone en C_4 ainsi que les groupes OH occupant les positions 3', 4' et 5' du noyau B sont des caractéristiques importantes de la forte inhibition du NADH-oxydase.

Cos et al. (1998), ont montré que les flavones ont une activité inhibitrice supérieure que celle des flavonols, et que les groupes hydroxyles en position C-3 et C-3' sont indispensables pour la propriété d'épuration des superoxydes.

II.4. Activité antifongique

Les champignons sont des végétaux dépourvus de chlorophylle, devant trouver leur carbone dans les composés organiques, ce qui conditionne souvent les circonstances de leur vie saprophytique ou parasitaire. En fonction de leur habitat, les champignons sont répartis en deux groupes : les endogènes et les exogènes.

Les champignons endogènes sont représentés essentiellement par *Candida albicans*, cette levure vit normalement et de façon exclusive dans le tube digestif de l'homme et de certains animaux [8].

II.5.l'activité antiulcéreux

Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la narangénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection gastriques [13].

D'autres études ont permis d'établir une relation étroite entre les propriétés anti-ulcéreuse de la quercétine, narangénine, rutine et Kaempférol et la production du PAF (PlataletActvating Factor) qui est un agent ulcérogène potentiel [13].

II.6. l'activité anticancéreuse

Des études réalisées in-vitro et in-vivo suggèrent que les flavonoïdes agissent à tous les stades de la cancérogénèse (initiation, promotion, progression). Ils inhibent la croissance de lignées cellulaire cancéreuses et interférant avec les mécanismes de transduction des signaux mitogènes [11].

Dans des recherches récentes la quercétine est capable de diminuer chez le rat, l'incidence des tumeurs mammaires induites par la NMU (N- Nitrosométhylurée) [5].

De plus, plusieurs études ont montré que les polyphénols de thé vert sont particulièrement remarquables parce qu'ils protègent des cancers à tous les stades.

Les buveurs réguliers de thé vert réduisent le risque de cancer de l'œsophage de 60%, mêmes les fumeurs japonais qui boivent de thé vert réduisent leur risques de cancer du poumon de 45 %, ce qui expliquerait que le japon présent à la fois le plus fort de fumeurs du monde développé et le plus faible taux de cancer du [11].

En effet, de nombreuses enquêtes épidémiologiques attribuent un effet préventif très important à la consommation des fruits et des légumes, riche en ces composés pour divers cancers (poumons et prostates) [11].

Les oligomères proanthocyanidines ont montré une activité anti-virale contre le virus syncytial respiration (RSV), le virus de l'influenza A et l'hépatite A et B [11].

II.7.l'activité anti-inflammatoire

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflamatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire [7]. Les flavonoïdes sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes.

Par ailleurs, l'acide arachidonique peut être métabolisé par la voie de la lipoxygénase pour aboutir à la formation de leucotriènes et par la voie de la cyclooxygénase pour produire des thromboxanes et des prostaglandines, molécules fortement impliquées dans le processus inflammatoire [9].

Plusieurs flavonoïdes (le crisiliol et la baicaléine) sont de puissants inhibiteurs de la 5-lipoxygénase et donc la production des leucotriènes [9].

D'autres flavonoïdes tels que l'apégénine et la chrysin agissent principalement sur l'activité de la cyclooxygénase [9].

Il a montré que les flavonoïdes inhibent également l'adhésion et l'agrégation plaquettaire en augmentant les taux intracellulaires en AMP_C à la suite d'une inhibition de phosphodiésterases [7].

II.8. L'activité antibactérienne

II.8.1- Introduction

L'homme vit dans un environnement peuplé d'un grand nombre de microorganismes qui sont présents dans l'air, dans le sol, dans les eaux douces, dans les eaux marines, à la surface de la peau et les muqueuses ainsi qu'au niveau du tube digestif, de l'arbre respiratoire et de l'appareil urinaire. Ces microorganismes sont constitués par les bactéries, les virus, les champignons et les parasites.

Ils sont soit des hôtes naturels de l'homme et donc saprophytes (flore digestive par exemple), soit ils déterminent une infection et donc pathogènes.

Le monde bactérien est très vaste et les bactéries peuplent notre environnement. Elles assurent à la surface du globe, sur le sol et dans les eaux d'innombrables fonctions; elles exercent des actions bénéfiques (ex bactéries fertilisantes du sol), mais d'autres peuvent provoquer des infections chez les plantes, les animaux et également chez l'homme [5].

II.8.2- La découverte du monde microbien

C'est au cours du XVII^e siècle qu'Antony van Leeuwenhoek révèle au monde scientifique la prodigieuse diversité des microorganismes et l'incroyable richesse des milieux naturels en protozoaires, algues, levures et bactéries. Ses observations et ses magnifiques descriptions sont d'une précision telle qu'aujourd'hui encore elles forcent l'admiration et permettent l'identification [8].

Entre-temps, les médecins continuent d'attribuer les maladies à des "*miasmes*" ou à des causes mystiques, et ils demeurent à peu près imperméables à la notion de contagion. C'est par dizaines de milliers que se comptent les victimes de cette ignorance, fondée sur des croyances philosophiques [11]. Il faut attendre pourtant le XIX^e siècle et les expériences de Pasteur pour que ce monde microbien soit exploré et que les différents caractères des microorganismes inventoriés apparaissent dans leur immense variété [8,10].

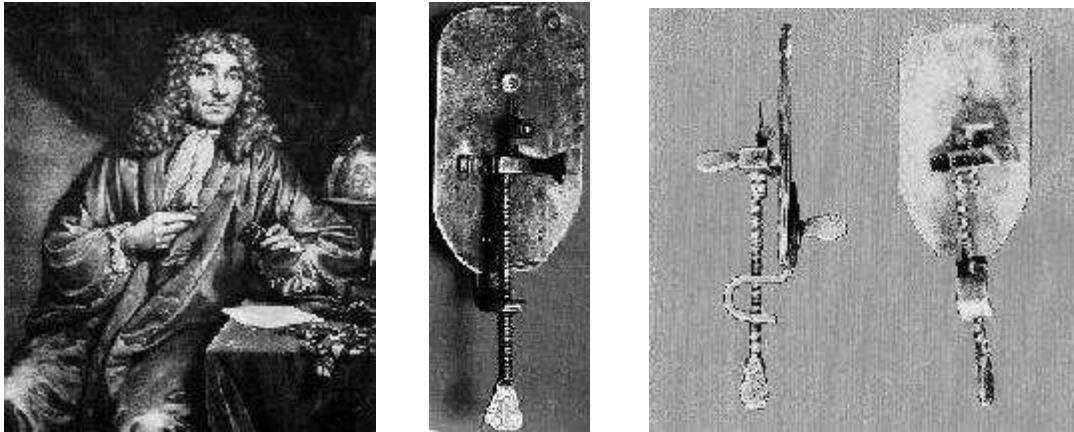


Fig1: Antony van Leeuwenhoek et ses microscopes.

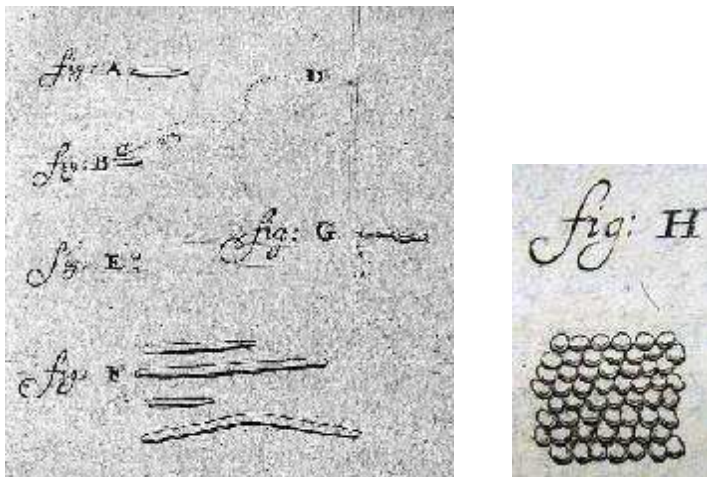


Fig2: Les premières bactéries vues (de la bouche).

II.8.3- Rôle des microorganismes dans les maladies

Au cours de ses études sur la fermentation, Pasteur s'est intéressé de près à la bière et au vin avariés et a montré que c'était dû à la croissance de microorganismes indésirables. Il a utilisé un terme particulier et significatif pour désigner ces processus d'avaries induits par des germes, il les appela "*maladies du vin et de la bière*". Il envisageait la possibilité pour les microorganismes d'être les agents de maladies infectieuses chez les organismes supérieurs.

D'ailleurs, certaines constatations étaient déjà en faveur de cette hypothèse. Dès 1813, il a été montré que certains champignons étaient responsables de maladies du blé et du seigle. En 1836 l'italien Bassi a montré qu'une maladie des vers à soie était provoquée par un champignon. Quelques années plus tard, Schöenlein établit que certaines maladies cutanées humaines étaient de nature fongique.

En 1845 Berkeley a montré que la maladie de la pomme de terre était provoquée par un champignon [20]. Ensuite vient Davaine en 1850 qui était le premier à découvrir "*le bacille du charbon*", et l'un des premiers à prouver la responsabilité des germes dans les maladies, c'était *Bacillus anthracis* le premier microbe identifié dans l'histoire de la bactériologie [11,12].

En dépit de ces informations, très peu de médecins étaient disposés à attribuer une origine microbienne aux principales maladies infectieuses humaines, et moins nombreux encore ceux croyant que des organismes aussi petits et apparemment aussi simples que des bactéries pouvaient être les agents de maladies [20].

Mais avec les expériences de Pasteur³ et Koch, à peu près en même temps en 1876 sur la maladie du charbon, il a été admis l'existence d'une relation de cause à effet entre un microorganisme et une maladie donnée. Ce travail sur le charbon ouvrit d'un seul coup les portes de l'âge d'or de la bactériologie médicale. Alors Koch concentra ses efforts sur l'isolement, la culture et la caractérisation de l'agent spécifique des principales maladies infectieuses de l'homme. Tandis que Pasteur se tourna d'emblée vers l'analyse expérimentale de l'infection, de la guérison et de l'immunité [11,12].

**Fig3** : Pasteur**Fig4** : Rob koch

II.8.4- L'infection

L'infection est la conséquence du développement, dans un organisme sain, de microorganismes pathogènes: bactérie, parasite, virus ou autres. Elle résulte de la rupture d'équilibre qui existe entre le germe et l'homme (hôte). Ce déséquilibre provient donc soit d'une diminution des défenses du sujet (congénitale ou acquise), soit d'un accroissement de virulence de germes [5,18].

Le monde bactérien, qui sera traité dans ce travail, comprend plusieurs milliers d'espèces mais, seulement près d'une centaine sont pathogènes pour l'homme et l'animal.

Une bactérie pathogène est susceptible d'induire, lorsqu'elle infecte un hôte, une maladie se traduisant par des signes anormaux, l'un des plus constants étant la fièvre. Mais il faut distinguer, les pathogènes authentiques qui déclenchent régulièrement une maladie chez des individus aux défenses immunitaires normales, des pathogènes dits opportunistes qui, dans la grande majorité des cas, ne sont à l'origine d'infections que chez des sujets aux défenses immunitaires altérées[8].

II.8.5- Morphologie et Structure fine des bactéries

Durant de longues années, la bactérie a été considérée comme "*un sac d'enzymes*" car le pouvoir de résolution du microscope optique était insuffisant pour révéler les détails de structure.

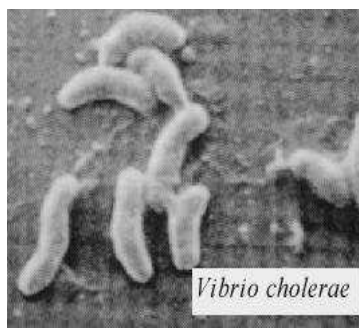
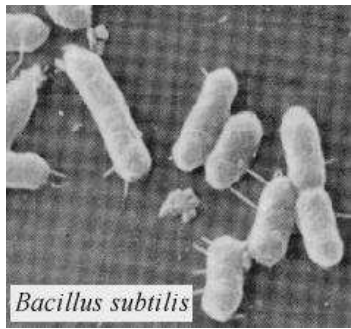
L'observation des bactéries, alors, permet seulement de reconnaître la forme des cellules (sphérique ou coccoïde, cylindrique ou bâtonnet, spiralée ou hélicoïdale), leurs

dimensions (qui varient selon les espèces de 0.1µm à 600µm; les *Entérobactéries* 2 à 3 µm de long, certaines *Spirochaeta*

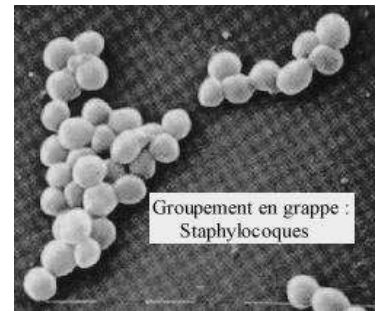
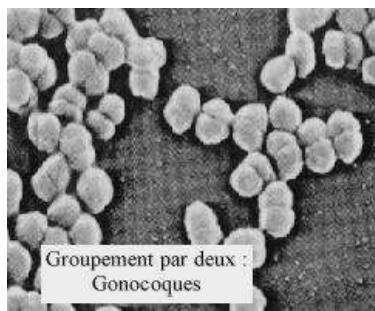
entre 30 et 500 µm) et les arrangements ou les groupements qu'elles constituent entre elles (en grappe, en chaînette, en paire ou diplocoque, en palissade ou paquet d'épingles chez les Corynébactéries...).

Ce sont les caractéristiques qui définissent la morphologie bactérienne, et qui étaient les critères essentiels de reconnaissance et d'identification, et qui ont un rôle très important dans le diagnostic [8,9].

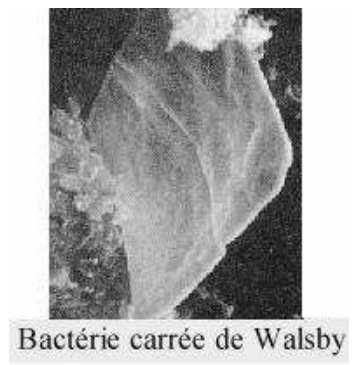
Les caractères morphologiques sont une stratégie d'adaptation et de survie; dans l'environnement aquatique ou tellurique il existe des bactéries qui sont amorphes, ovoïdes, cubiques, étoilées, filamenteuses; elles peuvent être groupées en amas, en paires, et aussi en rosettes en réseau, en cubes, en corps fructifiants, ... [8].



A - Des bacilles



B - Des cocci.



C- Autres formes.

Fig5: Morphologie bactérienne

Pour distinguer entre les bactéries au microscope optique, une méthode importante et largement utilisée en bactériologie, c'est "*la coloration de Gram*". Elle consiste à traiter des bactéries fixées à la chaleur, par un colorant basique (violet de gentiane) puis une solution iodo-iodurée (mordantage), toutes les cellules se colorent en violet.

Soumises ensuite à l'action de l'alcool éthylique elles se répartissent en: cellules qui conservent la coloration violette dites à gram positif et qui sont décolorées, appelées à gram négatif. Pour mieux distinguer ces deux catégories, le frottis bactérien est finalement traité par de la fuchsine basique, les bactéries à gram négatif sont roses et celles à gram positif restent violettes[8].

Après leur réaction avec les différents colorants utilisés par cette méthode, les bactéries divisent en deux groupes majeurs: *bactéries à gram positif* (colorées en violet), *bactéries à gram négatif* (colorées en rose).

Cette distinction de réponse à la coloration de gram est due à la différence qui existe dans la composition des parois bactériennes, celles des bactéries à gram négatif laissent passer la solution alcoolique, tandis que celles des bactéries à gram positif représentent une véritable barrière que la solution alcoolique ne peut franchir [8,9].

C'est la microscopie électronique avec ses différents modes d'exploitation qui a mis en lumière l'architecture interne de la bactérie telle qu'elle est représentée ci-dessous:

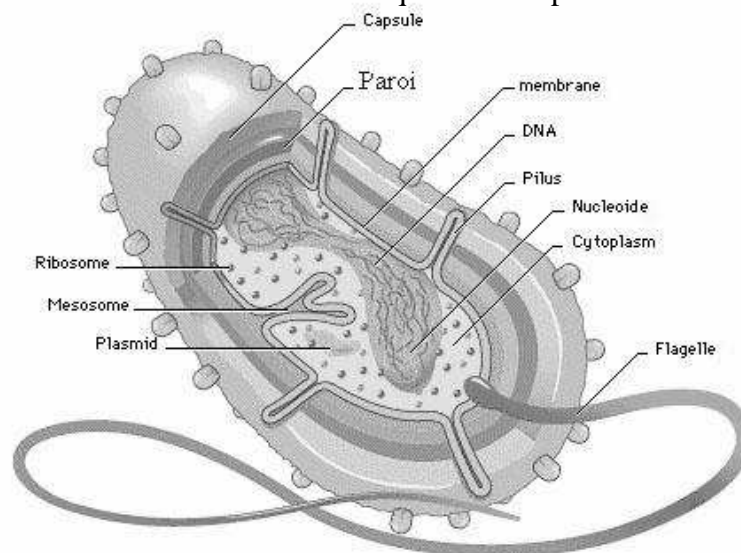


Fig6: Structure d'une bactérie avec ses différents éléments: obligatoires et facultatifs. La cellule est enveloppée par une *paroi* rigide, qui lui donne sa forme et sa résistance.

Épaisse chez les bactéries à gram positif et plus mince chez les bactéries à gram négatif; la paroi entoure une membrane cytoplasmique, plus fine et plus délicate. Les bactéries à gram négatif possèdent une seconde membrane, qui est la membrane externe pour la distinguer de la membrane cytoplasmique, dite interne.

Le cytoplasme sous-jacent contient essentiellement des granulations d'acide ribonucléique, les ribosomes ainsi que des substances de réserve comme le glycogène. L'appareil nucléaire se distingue par son aspect fibrillaire, finement réticulé, et qui occupe une grande partie de l'espace cellulaire, et il n'est pas entouré d'une membrane.

Il existe des structures membranaires intra-cytoplasmiques appelées mésosomes qui sont le plus souvent étroitement associés à l'appareil nucléaire (rôle de fixation). D'autres composants peuvent être présents (éléments facultatifs), comme le glycocalyx (polymère de surface polysaccharidique), la capsule, les flagelles (mobilité), les fimbriae (fixation sur d'autres cellules), les pilis sexuels (interviennent au cours des processus de conjugaison).

Enfin, certaines bactéries peuvent contenir des éléments d'ADN circulaires extrachromosomique ou ADN mobile, qui sont les plasmides et qui portent des informations génétiques spécifiques (exemple résistance à certains antibiotiques) [8].

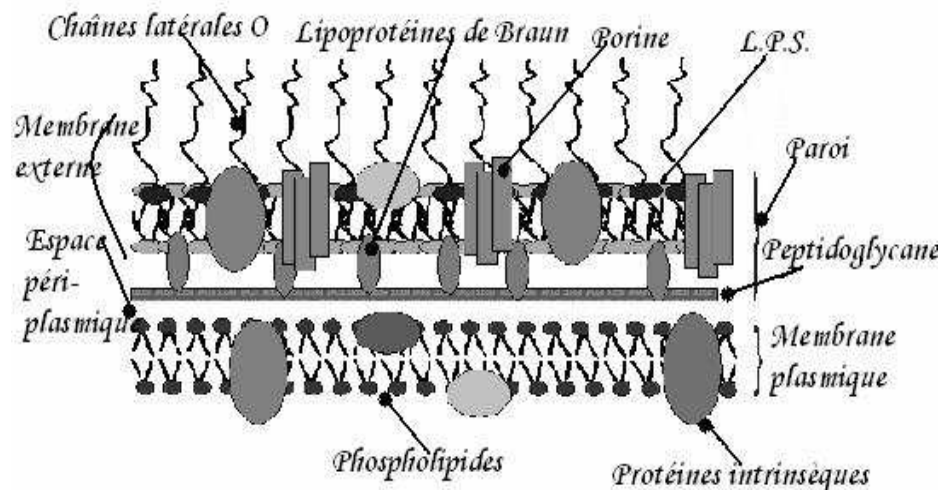


Fig7: Schéma de la paroi des bactéries à gram négatif.

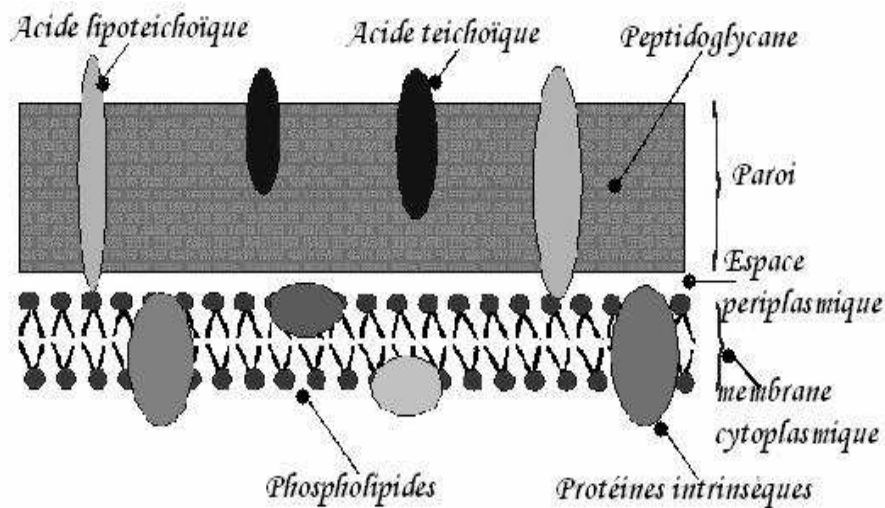


Fig8: Schéma de la paroi des bactéries à gram positif.

Les différentes enveloppes bactériennes, parois et membranes, ou autres structures tels les antigènes somatiques, capsulaires, flagellaires..., représentent une architecture essentielle pour s'adapter aux situations de l'environnement, température, osmose, pH; pour se fixer sur des supports (cellules), se nourrir, coloniser et infecter; pour résister aux substances antibactériennes etc. [8].

II.8.6- Bactériologie médicale

Avec la diversité des bactéries responsables de maladies infectieuses plus ou moins graves, il ne sera étudié que celles faisant l'objet des expérimentations pratiques.

La plupart des bactéries étudiées ont un pouvoir pathogène naturel et sont résistantes naturellement à certains antibiotiques.

II.8.6.a- bactéries à gram négatif

II.8.6.a-1- Genre *Pseudomonas*

Ce genre appartient à la famille des *Pseudomonadaceae*. Les bactéries de cette famille sont des bâtonnets, mobiles par cils polaires, aérobies strictes. Les *Pseudomonas* cultivent facilement sur milieux usuels, en aérobiose, à la température de 30°C, certaines espèces comme *P.aeruginosa* en sont capables à 41°C et même 43 °C; ce caractère étant utilisé pour le diagnostic.

La production d'un pigment est assez commune dans le genre. Deux sont particulièrement fréquents et utiles pour la reconnaissance des espèces: la pyocyanine, pigment phénazinique, soluble

dans l'eau et le chloroforme, spécifique de l'espèce *P.aeruginosa* ; la pyoverdine, ou pigment vert fluorescent, soluble uniquement dans l'eau et élaborée en particulier par *P.aeruginosa* et *P.fluorescens*.

Ces bactéries sont capables d'utiliser une variété très large de substrats comme source de carbone et d'énergie. Ceux-ci comprennent les glucides, lipides, acides aminés, acides organiques, et aussi un grand nombre de corps aromatiques benzéniques, phénoliques, terpénique, des stéroïdes, etc.

Dans le genre *Pseudomonas* quelques espèces se signalent à l'attention, du fait de leur pouvoir pathogène opportuniste. *P.aeruginosa*, l'espèce type, est un germe ubiquiste communément rencontré dans le sol et plus encore dans les eaux, capable de se multiplier à 41°C contrairement à *P.fluorescens* et *P.putida*.

Fréquemment isolé sur la peau et les muqueuses de l'homme ou de l'animal, il est aussi particulièrement résistant aux antibiotiques et même aux antiseptiques. En milieu hospitalier il est à l'origine de sur infections et de suppurations locales ou profondes, isolé essentiellement chez des patients présentant une immunodéficience locale ou générale (brûlés, cancéreux, etc.), et très fréquemment impliqué dans les infections nosocomiales (infections pulmonaires, cutanées...). De même qu'il est phytopathogène avec beaucoup d'autres espèces du même genre [8].

II.8.6.a-2- Genre *Acinetobacter*

Les *Acinetobacter* appartiennent à la famille des *Neisseriaceae*, ce sont des bacilles à gram négatif, souvent coccoïdes, aérobies stricts, et habituellement résistants à la pénicilline.

Elles ont un caractère ubiquiste, présentes naturellement dans le sol et les eaux, possédant des capacités de dégradation voisines de celles des *Pseudomonas*, et par conséquence, ont un rôle important dans les processus de minéralisation (eaux) ou d'altération (aliments).

Elles colonisent la flore cutanée des patients hospitalisés, et sont de plus en plus fréquemment rencontrées dans les infections nosocomiales chez les malades immuno-déprimés:

Septicémies, méningites, endocardites, abcès du cerveau, pneumonies... *A.baumannii* est l'une des espèces les plus représentatives. Leur grande résistance aux antibiotiques (voisine des *Pseudomonas*) est à l'origine de leur expansion hospitalière [8].

II.8.6.a-3- Famille des Entérobactéries

Ce sont des hôtes du tube digestif de l'homme et des animaux, mais aussi de nombreuses souches de cette famille ont été isolées de l'environnement aquatique ou terrestre.

Les bactéries de cette famille cultivent facilement sur milieux ordinaires et utilisent une très large variété de composés organiques simples comme source d'énergie: sucres, acides aminés, acides organiques. Elles sont anaérobies facultatives, bâtonnets, mobiles par cils péritriches ou immobiles, possédant des fimbriae appelés aussi pili communs, qui leur confèrent des propriétés hémagglutinantes, et dans certains cas, des propriétés d'adhésion aux cellules animales. La présence d'une capsule est parfois observée chez les *Klebsiella*. La plupart des Entérobactéries pathogènes se multiplient à la température optimale de 37°C [8].

I- Genre *Salmonella*

Les bactéries du genre *Salmonella* forment une seule espèce, à l'intérieur il y a plusieurs sous espèces, chaque sous espèce est divisée en sérotypes caractérisés par une formule antigénique spécifique. Les sérotypes peuvent être subdivisés à leur tour en biotypes (caractères biochimiques). Les sérotypes de *Salmonella*, sont identifiés par leurs réactions antigéniques.

Certaines *Salmonella* sont strictement adaptées à l'homme comme: *S.typhi*, *S.paratyphi*(A, B et C), *S.sendaii*, responsables de la fièvre typhoïde et paratyphoïde humaine, et ne manifestent pas de pouvoir pathogène en dehors de l'espèce humaine, ce sont les "salmonelles majeures". Et il y a d'autres sérotypes, qui peuvent engendrer des toxi-infections alimentaires comme *S.enteritidis* et *S.typhimurinum*, qui sont connues comme des "salmonelles mineures"[8, 6], qui peuvent déterminer des infections chez de nombreuses espèces animales [1]. Un manque d'hygiène est très souvent à l'origine de la transmission.

II- Genre *Escherichia*

Ce genre comprend 5 espèces, mais *E.coli* est la plus importante. Cette espèce est subdivisée en sérotypes sur la base des antigènes présents.

E.coli, un hôte commun de l'intestin de l'homme (10^8 / g de selles), et des animaux; elle est recherchée à ce titre, comme germe témoin de contamination fécale, dans l'eau et les aliments.

A l'intérieure de l'espèce il y a des pathotypes souvent associés à des sérotypes particuliers. Certains de ces pathotypes sont responsables d'infections intestinales (gastro-entérites et diarrhées), leur pouvoir pathogène est induit par des facteurs d'adhésion et/ou la production d'entérotoxines. *E.coli* entéropathogène (diarrhées infantiles), *E.coli* entérotoxigène (tourista), *E.coli* entéroinvasif (invasion des cellules intestinales), *E.coli* entérohémorragique (diarrhées sanglantes), *E. coli* entéroadhérent (diarrhée du voyageur).

D'autres responsables de méningites néonatales, provoquent des infections du tractus urinaire, ou encore des septicémies qui correspondent à un nombre restreint de sérotypes [8].

III- D'autres Entérobactéries

C'est surtout des souches opportunistes responsables de nombreuses infections chez l'homme, en particulier les malades hospitalisés ou immuno déprimés. Ils ont une capacité de résister à de nombreux antibiotiques ce qui explique la gravité de certaines de ces infections [1].

Les *Proteus*: Caractérisés par leur grande mobilité, et sont vraisemblablement d'origine tellurique. Certaines espèces d'intérêt médical tels *P.mirabilis*, *P.vulgaris* *Morganellamorganii* (ancien *Proteusmorganii*), peuvent induire des infections des voies urinaires (dans 60% des cas d'infections urinaires), des infections cutanées (surinfections des plaies chirurgicales, brûlures...), des infections des voies respiratoires (otites chroniques suppurées, sinusites ...), et même des septicémies [1].

Le groupe K.E.S: C'est-à-dire *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia* ou groupe des acétoïne positive (un métabolite de leur fermentation). Il rassemble des espèces considérées depuis longtemps comme commensales, et actuellement responsables d'un grand nombre de complications infectieuses en milieu hospitalier. Les infections

broncho-pulmonaires souvent dues à *K.pneumoniae* (1 à 5 % de toutes les pneumonies bactériennes) et plus rarement sont rencontrés *Enterobacter* et *Serratia* .

Les bactéries K.E.S. provoquent 20 % des infections urinaires nosocomiales avec une prédominance de *K.pneumoniae*. Autres infections secondaires dues à des soins ou des gestes chirurgicaux: cutanées, vasculaires, péritonéales, vésiculaires ou des septicémies causées par un matériel souillé (la mortalité reste élevée malgré une antibiothérapie adaptée) [1].

Citrobacter: Il fait partie du groupe des coliformes intestinaux qui sont des indicateurs de contamination fécale, recherchée dans l'eau et les aliments [8]. *Citrobacterfreundii* est rarement observée dans les infections urinaires, respiratoires ou septicémiques uniquement chez les malades immunodéprimés. Ces bactéries commensales posent un problème de diagnostic différentiel avec les Salmonelles [1].

II.8.6.b-bactéries à gram positif

II.8.6.b-1- Genre *Staphylococcus*

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques, qui se divisent sur plusieurs plans pour former des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin, d'où leur nom (en grec staphylos), ils sont immobiles et cultivent sur des milieux contenant 5% de Na Cl et pour certains jusqu'à 10 et même 15%. Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs.

Les staphylocoques sont des germes ubiquistes largement distribués dans l'environnement naturel de l'homme, mais ils le sont plus fréquemment et en plus forte densité sur les surfaces cutano – muqueuses des mammifères.

Il existe une certaine relation entre les espèces de staphylocoques et l'hôte qui les héberge. *S.epidermidis* est l'espèce la plus fréquente et la plus abondante sur les surfaces cutanées de l'homme. *S.aureus* est l'espèce prédominante chez l'homme et autres mammifères, la cavité nasale de l'homme est sa niche préférentielle.

Les staphylocoques ont un pouvoir pathogène opportuniste extrêmement large qui s'exerce avec une grande fréquence en milieu hospitalier. L'espèce *S.aureus*, responsable d'infections pyogènes de la peau et des muqueuses (furoncle, impétigo, staphylococcie maligne de la face, staphylococcies bulleuses, etc.), mais aussi osseuses (ostéomyélite), digestives (entéocolites post-antibiotiques), septicémiques. *S.epidermidis* un agent de plus en plus fréquent d'infections nosocomiales[8].

II.8.6.b-2- Les Streptocoques

Ils sont subdivisés selon les études phylogénétiques en trois genres majeurs: le genre *Streptococcus* correspondant aux espèces d'intérêt médical en particulier *S.pyogenes* (groupepyogenes), et à celles de la cavité orale qui comprennent les espèces α – hémolytiques (groupeviridans), le genre *Enterococcus* qui rassemble les espèces de la flore intestinale de l'homme et de certains animaux (groupe entérocoques), et le genre *Lactococcus* propre aux espèces lactiques (groupe lactique).

Les Streptocoques sont des cellules ovoïdes, sphériques ou quelquefois allongées en fuseaux, se divisent sur un seul plan pour former des paires ou des chaînettes. Ce sont des anaérobies aérotolérantes c'est-à-dire incapables d'utiliser l'oxygène mais se multiplient en sa présence, se cultivent bien dans une atmosphère contenant du CO₂.

Les espèces du premier groupe, peuvent être responsables d'infections de gravité variable. *S.pyogenes* est un hôte inconstant du rhino-pharynx des individus en bonne santé et peut déterminer des infections aiguës, de la sphère ORL (angines érythémateuses, scarlatine, rhinites, sinusites, otites), de la peau et des muqueuses (érysipèle, impétigo, pyodermite), des complications non suppurées (rhumatisme articulaire aigu, glomérulonéphrite aiguë).

S.galactiae est un pathogène pour le nouveau né ou le jeune enfant (méningite, pneumonie, conjonctivite, otite). Le deuxième groupe représente l'essentiel de la flore microbienne de la bouche et des voies respiratoires supérieures, *S.mutans* qui rassemble sept espèces dont le rôle dans la carie dentaire est discuté, *S.oralis* (huit espèces) certaines de ces espèces sont isolées au cours d'infections purulentes ou d'endocardites.

Les espèces du groupe des Entérocoques n'ont pas un rôle important dans les infections mais sont quelquefois isolées dans les endocardites et les infections urinaires. Ils sont recherchés aussi comme indicateurs de contamination fécale des eaux de consommation et des produits alimentaires [8].

II.8.7- Les Antibiotiques

II.8.7.1- Introduction

Pour de multiples raisons, il est apparu utile et, dans certains cas indispensable, de contrôler le développement des microorganismes, car certaines bactéries sont

hautement pathogènes pour l'homme ou l'animal et qu'il fallait tout naturellement se protéger de leurs effets néfastes et empêcher la transmission des maladies infectieuses.

Les bactéries ne sont pas seulement nuisibles pour l'homme et l'animal, mais d'autres produits, substances ou matériaux peuvent être détruits ou altérés sous l'effet de leur multiplication: détérioration des produits alimentaires; plusieurs monuments d'un grand intérêt historique sont dégradés (*maladie de la pierre*); les canalisations aussi peuvent être perforées.

Alors, il est devenu indispensable à l'homme de mener une lutte contre l'envahissement des microorganismes, pour conserver ses biens, son potentiel industriel, son patrimoine artistique et pour "*protéger son existence*" même.

Les moyens de lutte sont nombreux, les agents physiques (température, rayonnements...), les agents chimiques (métaux lourds, chlore et dérivés, alcools...) sont très actifs mais nocifs, aussi bien pour les bactéries que pour les cellules humaines ou animales. Mais il y a d'autres agents, possédant une "*toxicité sélective*": ils s'opposent à la multiplication bactérienne sans nuire aux cellules de l'hôte, et sont utilisés pour cette raison en thérapeutique, ce sont les "*Antibiotiques*" [8].

II.8.7.2- Définition

Qui s'oppose à la vie, terme créé par Waksman [1]. Ce sont des substances chimiques élaborées par des microorganismes; ces substances possèdent le pouvoir d'inhiber la croissance ou le développement d'autres microorganismes (bactéries) [22], dans lesquelles elles pénètrent en perturbant le métabolisme [18] ou en agissant spécifiquement sur une étape essentielle de ce dernier [3], mais qui sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules humaines ou animales[23].

Le cadre des antibiotiques était limité d'abord à des substances d'origine biologique produites par des champignons, s'est élargi plus tard et comprend actuellement d'autres produits possédant la même action antibactérienne, mais obtenus par synthèse [18].

Selon leur formule chimique, la manière dont-ils agissent sur les microorganismes et leurs effets cliniques, les antibiotiques sont groupés en dix familles (suivant les références): les bêta lactamines, les aminosides (ou oligosaccharides), les phénicolés, les tétracyclines, les polypeptides, les macrolides, les antituberculeux, les antifongiques, les antimétabolites et les antibiomimétiques [6, 8, 9].

Le mode d'action des antibiotiques est, soit bactériostatique (empêche le développement microbien) essentiellement tétracyclines, phénicolés, macrolides; soit bactéricide (qui détruit les germes) les bêta-lactamines, les aminosides, les polypeptides [6, 5].

Chaque antibiotique possède un spectre d'action, qui est la flore microbienne sur laquelle il exerce son activité bactéricide ou bactériostatique, il est d'autant plus large, ou étendu, que le nombre des espèces microbiennes sensibles est grand. Le spectre d'action varie d'un antibiotique à l'autre [6].

II.8.7.3- Une découverte très ancienne

Il y a 3500 ans, les égyptiens consommaient couramment et surabondamment de la streptomycine naturelle, comme l'indiquent les analyses de squelettes de cette époque. Avant 2500 ans, les chinois avaient constaté que la crème de soja sur laquelle s'étaient développées des moisissures était efficace contre les infections de la peau, et ils s'en servaient couramment.

Il a été rapporté aussi que durant la seconde guerre mondiale, les prisonniers russes des camps Allemands, qui acceptaient de manger du pain moisi, souffraient moins de furonculose que les autres [11].

II.8.7.4- Les premiers agents antibactériens

Après la découverte du rôle pathogène des microbes, Pasteur s'est penché vers l'immunologie et la préparation des vaccins. Bien que la recherche de nouveaux médicaments antibactériens s'est poursuivie.

Vers 1909 une notion de thérapeutique au moyen de médicaments "*sélectivement toxiques*" pour les microbes sans endommager les cellules animales ou humaines était introduite par Ehrlich[7], grâce à des observations effectuées sur la coloration sélective des bactéries dans les préparations de tissus infectés.

Suivant l'idée de la toxicité sélective, de nombreux bactériologistes ont centré leurs espoirs sur les colorants. Mais pendant plusieurs années, les résultats des expériences au moyen des colorants n'ont apporté que déception [8, 20].

Cependant, l'étude systématique des composés organiques de synthèse a conduit Ehrlich à la découverte des "*arsphénamines*", dérivés arsenicaux actifs dans le traitement de "*la syphilis*", leur chef de file était le *Salvarsan* [8, 9].

Plus tard, un certain Domagk en Allemagne signala qu'un colorant diazoïque: la para-sulfamidochrysoïdine appelé "*Prontosil*" pouvait guérir les infections bactériennes des souris grâce à une véritable toxicité sélective, et la seule fraction active est un corps simple: le para-aminobenzène-sulfanylamide ou "*Sulfamide*" [8, 20], c'était un dérivé des acides sulfoniques, dits "*Sulfamides*", qui a été commercialisé en 1932 [11].

En moins de dix ans, plus de 5000 dérivés du sulfamide ont été synthétisés [8], mais peu qui ont été utilisés en thérapeutique.

II.8.6.5- La pénicilline

La connaissance du pouvoir bactériostatique de certains microorganismes vis-à-vis d'autres microorganismes avait déjà été signalée par Pasteur et Joubert, tandis que l'ère véritable des antibiotiques commença en 1929 avec Fleming [8].

Cette demi découverte de Fleming ne fut complétée que près de dix ans plus tard par d'autres chercheurs, qui déclenchèrent enfin la production industrielle des antibiotiques [11].

L'été de 1928, Fleming découvrit que quelques boîtes étaient contaminées par une toute petite tache verte qui se développait sur les cultures des Staphylocoques, l'espace environnant la moisissure devenait claire, et les bactériesensemencées étaient inhibées.

Il conduisit ses recherches pour mieux connaître la moisissure, c'était *Penicillium notatum* – espèce bien connue des biologistes étudiant les végétaux microscopiques – qui sécrétait un suc capable de détruire différentes bactéries.

Il testa alors le suc sur une goutte de sang, sur des animaux de laboratoire, puis sur un homme volontaire (son assistant Stuart Craddock), pour déduire enfin que le suc du *Penicillium* qu'il nomma "*Pénicilline*", n'était pas nuisible à l'homme, en plus de son action destructive vis-à-vis des bactéries pathogènes [12,20].

En Juin 1929, Fleming publia son premier mémoire sur la pénicilline, mais son rapport passa presque inaperçu et n'attira que très peu d'attention. Pour plusieurs raisons, principalement la difficulté d'obtenir la pénicilline pure du fait de son instabilité [21], en plus, plusieurs chercheurs avant Fleming avaient observé ce phénomène, ainsi que l'utilisation en thérapeutique avait même été proposée[25].

Dix ans plus tard, en 1938 deux chercheurs de l'université d'Oxford: Florey et Chain avaient utilisé de nouvelles méthodes pour isoler la pénicilline. Ils l'avaient obtenue

extrêmement pure et active un million de fois plus que celle employée par Fleming dans ses premières expériences, mais en quantités insuffisantes.

En Février 1941, ils réussirent à extraire le contenu d'une cuillère de pénicilline jaune (ou pure), toujours insuffisante pour sauver la vie d'un malade ayant une infection bactérienne.

En collaborant avec les américains et après une année de recherches, ils rapportèrent ce qu'ils

n'avaient pas réalisé [12]: produire la pénicilline en grandes quantités et éprouver cliniquement sa valeur thérapeutique, ce qui a permis son utilisation par les armées alliées pendant la seconde guerre mondiale[20].

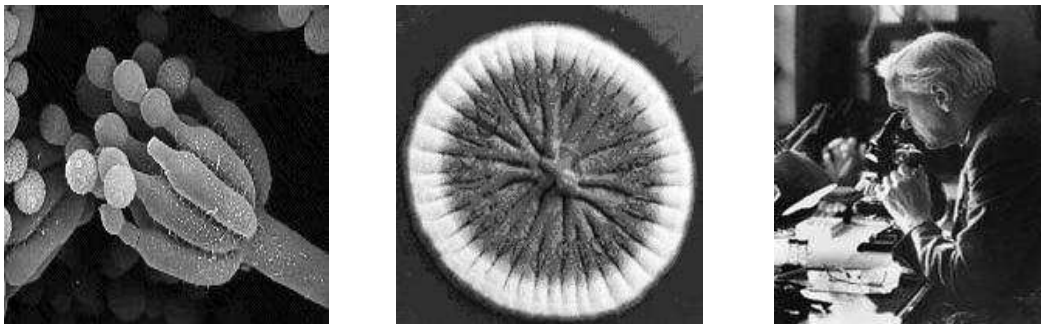


Fig9: a- Un Pénicillium (forme de pinceau) observé au microscope.
b- vue macroscopique du champignon sur boîte.
c- Sir Alexander Fleming.

Pour répondre à la demande croissante et réaliser une meilleure rentabilité, d'autres procédés avaient été utilisés, il a pu être découvert une espèce dérivée avec un meilleur rendement en pénicilline, peu après il a été trouvé de nouvelles substances nutritives favorisant la culture et le rendement de la moisissure [12].

A partir de 1939 et pendant une vingtaine d'années, des centaines d'antibiotiques ont été isolés surtout à partir d'actinomycètes. Mais depuis 1965, c'est la période des antibiotiques semi-synthétiques ayant un spectre d'activité élargi par rapport aux antibiotiques naturels.

Leur utilisation clinique, dès la fin de la première moitié du XX^e siècle, a radicalement modifié le pronostic des maladies infectieuses d'origine bactérienne [8].

Ainsi, et par la découverte de la pénicilline, l'homme espérait qu'il pourrait gagner la guerre contre les maladies infectieuses [12] dont certaines avaient été parmi les fléaux les plus redoutés de l'humanité et qui avaient perdu leur importance dans de nombreuses parties du monde [20]. Cependant un problème s'était présenté: la résistance!

II.8.6.6- Mode d'action des antibiotiques et Résistance bactérienne

Des docteurs dans un hôpital en Australie rapportèrent en 1948 que certaines bactéries semblaient être plus puissantes que la pénicilline. Une nouvelle question s'est imposée désormais: comment ces bactéries pouvaient-elles échapper à l'action destructive de la pénicilline? [12].

A la différence des antiseptiques, les antibiotiques agissent sur des cibles bactériennes précises, à des concentrations mille à dix mille fois plus faibles que les antiseptiques. Chaque famille d'antibiotiques regroupe un nombre de molécules très variable, ayant une structure de base identique.

Certaines molécules altèrent la structure des bactéries en inhibant la formation de leur paroi: cas des β -lactamines, des glycopeptides et de la fosfomycine, qui bloquent différentes étapes de la voie de synthèse du peptidoglycane; ou en désorganisant leurs membranes (cas des polymyxines).

D'autres, comme les aminoglycosides, les tétracyclines, les phénicoles, les macrolides, les lincosamides et les streptogramines, qui se fixent sur le ribosome bactérien inhibant différentes étapes de la synthèse protéique. La synthèse des acides nucléiques (ADN et ARN) peut aussi être perturbée par les antibiotiques: cas des sulfamides, du triméthoprime, des quinolones, des rifamycines et des nitro-imidazoles [1,17].

En revanche, les bactéries avaient trouvé les moyens pour résister et par conséquent, éviter l'action des antibiotiques, et se développer en présence d'une concentration en antibiotique significativement plus élevée que celle habituellement active sur les souches de cette espèce.

Il faut distinguer la résistance innée ou naturelle, de la résistance acquise apparaissant chez des bactéries sensibles aux antibiotiques. Celle-ci, correspond à une adaptation des bactéries aux antibiotiques, qui est due soit à des mutations, soit à la présence de nouveaux gènes portés par des plasmides ou des transposons.

La résistance par mutation chromosomique ne concerne qu'un faible pourcentage des souches isolées en clinique; par contre la résistance d'origine plasmidique est beaucoup plus fréquente, découverte à la fin des années 50, au Japon à la suite d'une épidémie de dysenterie bacillaire [17].

Schématiquement, les mécanismes généraux qui permettent aux bactéries de résister à un antibiotique:

Par *imperméabilité* des bactéries, aux β -lactamines qui concerne uniquement les bactéries à gram négatif (principalement les *Pseudomonas*) peut être due à une diminution quantitative des canaux de transport hydrophiles (porines) ou une modification de la structure de ces porines ou des LPS (lipopolysaccharide), ces altérations sont consécutives à une mutation dans le génome bactérien, et elles affectent assez souvent le passage d'autres antibiotiques, chloramphénicol, quinolones, tétracyclines: c'est une résistance croisée.

Par *inactivation de l'antibiotique*, action enzymatique sur les β -lactamines par ouverture du Cycle β -lactame, qui est le mécanisme principal de résistance des bactéries à ces antibiotiques, ce sont des β -lactamases. Parfois leur synthèse est augmentée en présence de β -lactamines, l'enzyme alors est inductible (cas de la pénicillinase de *Staphylococcus aureus*).

Par altération de la cible cellulaire de l'antibiotique, ou modification de la cible sur laquelle se fixe l'antibiotique cas des β -lactamines se fixant sur les PLPs (protéines de liaison aux pénicillines), essentiellement observée chez les bactéries à gram positif, ou la synthèse de molécules ayant une faible affinité pour les antibiotiques. [1, 17]

Références bibliographiques

- [1] Berche P., Gaillard J-L and Simon M. (1989). Bactériologie bactéries des infections humaines. *Médecine-Sciences Flammarion*, p109.
- [2] Cao G., Sofic E and Prior R-L. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids structure-activity relationships, *Free Radic. Biol. Med*, 22 (5), p 749.
- [3]. Dixon R- A., Dey P-M and Lamb C-J. (1983). Phytoalexins: Enzymology and molecular biology, *Adv. Enzymol*, p 55.
- [4] Dey P- M and Harborne J-B. (1992). Methods in Plant biochemistry, *Academic Press INC*, p 287.
- [5] Garnier D. (2004). Dictionnaire des termes de médecine. Editions Maloine, Paris, p 1012
- [6] Ibewuike J-C., Ogungbamila F-O., Ogundaini A-O., Okeke I-N and Bohlin L. (1997). Anti-inflammatory and antibacterial activities of C- méthylflavonoids from *Piliostigma thonningii*, *Phytother. Res*, 11 (4), p 281.
- [7] Khiati M. (1998). Guide des maladies infectieuses et parasitaires. *OPU, Alger*, p 28.
- [8] Leclerc H, Gaillard J-L and Simonet M. (1995). Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris, p 605.
- [9] Madigan M-T, Martinko J-M and Parker J.(1997). Brock Biology of Microorganisms. *Prentice Hall International Editions*, p 102.
- [10] Mendoza L., Wilkens M and Urzúa A.(1997). Antimicrobial study of the resinous exudates and of diterpenoids and flavonoids isolated from some Chilean *Pseudognaphalium* (Asteraceae), *J. Ethnopharmacol*, 58(2), p 85.
- [11] Messadie G. (1995). Les compacts les grandes découvertes de la science. Casbah Editions Alger, p 32.
- [12] Mori A., Nishino C., Enoki N and Tawata S. (1987). Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*, *Phytochemistry*, , 26(8), p 223.
- [13] Nauciel H-E .(2000). The important volatile flavor components of foods, p 335.

- [14] **Puupponen-pimiä R., Nohynek L., Meier C., Kähkönen M., Heinonen M., Hopia A and Oksman-Caldentey K-M.** (2001). Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries, *J. Appl. Microbiol.*, 90(4), p 494.
- [15] **Puppo A.** (1992). Effects of Flavonoids on Hydroxyl Radical Formation by Fenton-type Reaction, Influence of the Iron Chelator, *Phytochemistry*, 31, p 85.
- [16] **Recio M-C., Ríos J- L and Villar A.**(1978-1988) ,review of some antimicrobial compounds isolated from medicinal plants reported in the literature , , *Phytother. Res*, 1989, 3 (4), p 117.
- [17] **Rice-evans C-A., Miller N-J., Bolwell P-G., Bramley P-M and Ridham J-B.** (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids, *Free Rad. Res.* , 22 (4), p 375.
- [18] **Pocidaló J-J.** (1989). Des infections d'origine microbiennes ou virale. In: Brisset C et Stoufflet J (Directeurs) Santé et médecine, l'état des connaissances et des recherches. Editions La Découverte / INSERM / ORSTOM.
- [19] **Shahidi F and Wanasundara P. K.** (1992). Phenolic antioxidants, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* , 32 (1), p 67.
- [20] **Stanier R-Y ., Doudoroff M and Adelberg E-D-A.** (1966). Microbiologie Générale. Masson et C^{ie} Editeurs, p 705.
- [21] **Tereschuk M-L., Riera M- V- Q, Castro G- R and Abdala L- R.** (1997). Antimicrobial activity of flavonoids from leaves of *Tagetes minuta*, *J. Ethnopharmacol.* , 56(3), p 227.
- [22] **Tsuchiya H., Sato M., Miyazaki T., Fujiwara S., Tanigaki S., Ohyama M., Tanaka T. and Iinuma M.** (1996). Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *J. Ethnopharmacol.* , 50(1), p 27.
- [23] **Waage S-K and Hedin P-A.** (1985). Quercetin 3-O-galactosyl-(16)- glucoside a compound from narrowleaf vetch with antibacterial activity, *Phytochemistry*, 24(2), p 243.

[24] Yamaki K., Kim D-H-N., Kim RYU Y-P-K. Shin H and Ohuchi K. (2002). Effects of Naturally Occurring Isoflavones on Prostaglandin E₂ roduction, *Planta Med*, p 97.

[25] Yokozawa T., Chen C- P., Dong E., Tanaka T., Nonaka G. I and Nishioka I. (1998). Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, *Biochem.Pharmacol*, 56(2), p 213.

CHAPITRE - III –
PARTIE
EXPERIMENTALE

III. L'étude chimique des deux espèces : *Ammoides atlantica* et *Ranunculus Bulbosus*

III.1. L'étude chimique de l'espèce: *Ammoides atlantica*

III. 1. 1. La matière végétale

La matière végétale a été récoltée durant le mois de juin 2004 des environs de la ville de Sétif, nous n'avons pris en considération que les parties aériennes de la plante.

L'opération de séchage est effectuée dans l'ombre, et loin de l'humidité, la masse de la plante était de 700g.

III. 1. 2. Description botanique de la plante

Plante annuelle grêle à souche filiforme, à tige très ramifiée de (10 - 40) cm, sans rosette de feuilles basales, feuilles inférieures pétiolées à nombreux segments multifides verticillés, les supérieures pennatifides à segments linéaires. Ombelles principales à (8-15) rayons fruits ovoïdes de moins de 1 mm de long-champs pelouses, forets. CC dans toute l'Algérie, son nom dans le méditerrané est trachyspa erma boiss. [1,2]



Fig10 : une photo de la plante *Ammoides Atlantica*

III. 1. 3. Place dans la systématique

Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe:	Dicotylédones
Sous classe	Rosida
Famille	Apiaceae
Sous famille	Apioïdeae
Ordre:	Apiales
Genre	<i>Ammoides</i>
Espèce	<i>Atlantica</i>

II. 1.4. Extraction

Après le broyage de la plante (700 mg), la matière végétale obtenue est mise à une macération dans une solution de méthanol chaud jusqu'à ébullition ($H_2O:MeOH/ 30/ 70$), cette macération est répétée 3 fois avec renouvellement du solvant, elle dure dans chaque fois 24 heures.

Après concentration sous vide à (35-50) °C, l'extrait méthanolique obtenu est diluée avec 700 ml d'eau distillée (à raison de 1 litre pour 1 kg de matière sèche), la solution est laissée une nuit puis filtrée.

La phase organique est séparée par l'incorporation de 200ml d'Acétates d'éthyle cinq fois au filtrat.

La masse de l'extrait brut d'AcOEt était de 3,5g.

-La phase aqueuse a subi une extraction trois fois avec le n-butanol, la masse de l'extrait butanolique était de 22,77g.

Sur l'extrait d'AcOEt on a effectué des tests chromatographiques sur couche mince, les résultats de ces tests sont représentés sur

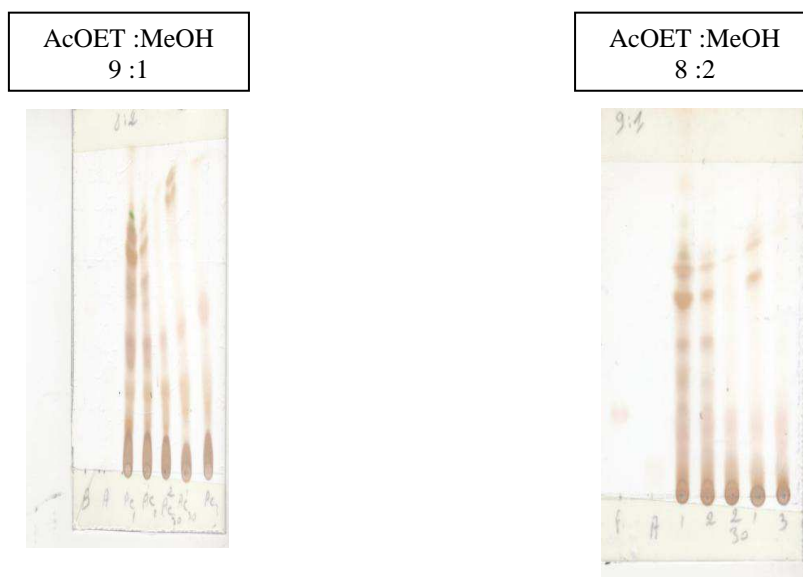
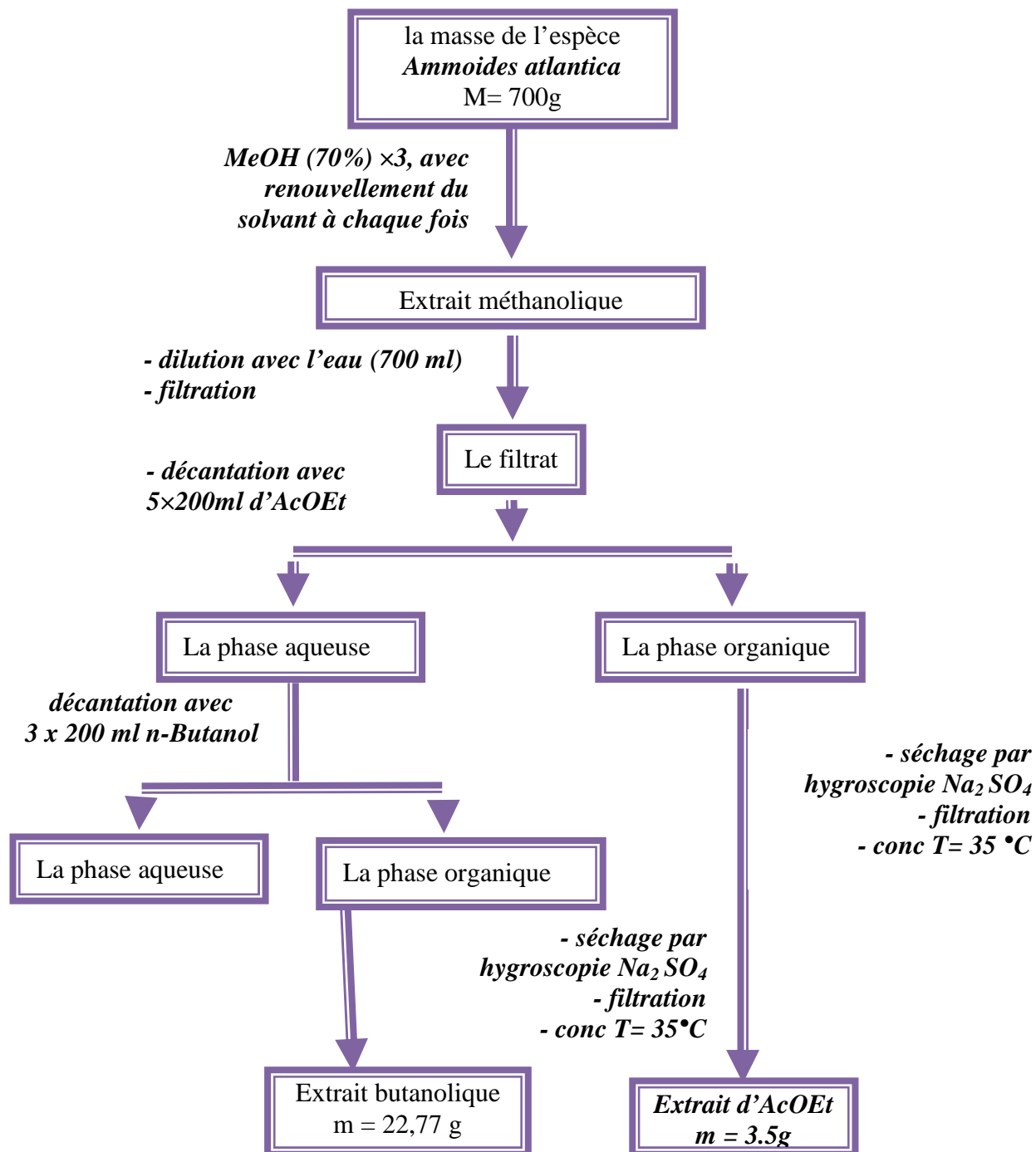


Fig11 : Chromatographie sur couche mince de l'extrait acétates d'Ethyle de l'espèce *Ammoides Atlantica*

Le protocole d'extraction est résumé dans la figure suivante :



Shéma 1: Protocole d'extraction de l'espèce « *Ammoides atlantica* »

III. 1.5. Séparation chromatographique des deux extraits (AcOEt) et (butanol) :

Avant de commencer les opérations de séparation, on a effectué des tests analytiques préliminaires pour les deux extraits (AcOEt, butanol), et ceci en utilisant le système chromatographique suivant :

Chromatographie sur couche mince de polyamide DC₆ bidimensionnelle.

1^{ère} dimension : 3 :3 :4 - méthanol : méthyle éthyle cétone : toluène.

2^{ème} dimension : 1 :3 :3 :13- acétylène acétone : méthyle éthyle cétone : méthanol : eau.

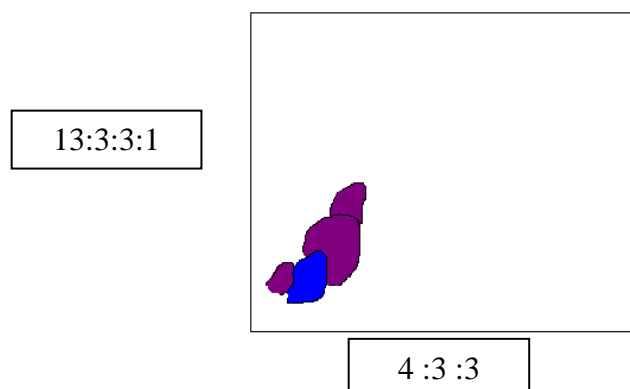


Fig12 : Chromatographie bidimensionnelle l'extrait d'AcOEt de l'espèce *Ammoides atlantica*

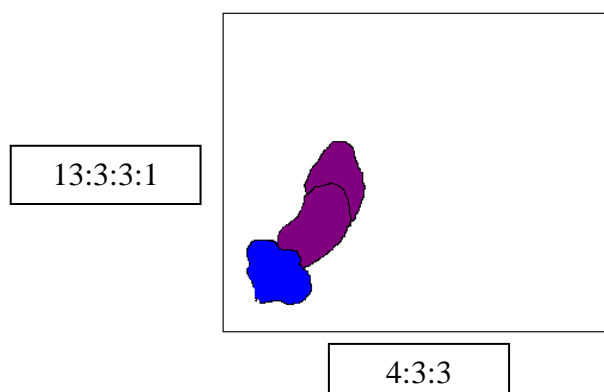


Fig13 : Chromatographie bidimensionnelle l'extrait butanolique de l'espèce *Ammoides atlantica*

On remarque une similitude entre les deux chromatogrammes, ce qui signifie le non nécessité d'une étude comparative entre les deux.

Et d'après le chromatogramme 5 on remarque que ce système est adéquat pour la séparation du maximum des produits de cette plante.

III. 2. L'étude chimique de l'espèce *Ranunculus Bulbosus*:

III.2.1. La matière végétale :

La matière végétale a été récoltée durant le mois de mai 2006 des environs de la ville de Oued Ségene wilaya de Mila, nous n'avons pris en considération que les parties aérienne de la plante.

L'opération de séchage est effectuée dans l'ombre, et loin de l'humidité, la masse de la plante était de 350 g.

III. 2.2 Description botanique de la plante :

Les *ranunculacées* ou *ranunculacées* sont une famille de plantes dicotylédones selon Watson et Dallwitz, elle comprend 1500 espèces réparties en 50 genres parmi lesquelles: Aconitum ou Aconits, Actaea ou Actées, Adonis ou Adonis, Anémone ou anémones, Nigella ou nigelles, Pusatilla, Ranunculus ...Etc. [3]

Ce sont des plantes herbacées (quelques arbustes et lianes), annuelles ou pérennes, rhizomateuses ou tubéreuses, elles poussent dans les régions froides à tropicales, avec un maximum dans les régions tempérées de l'hémisphère nord l'espèce *Ranunculus bulbosus* est une plante Sépales étalés. Souche non bulbeuse, feuilles inférieures peut agonales très grandes (8-12cm) – lobées, mais toujours de contour arrondi. [3]

Plante très puissante, pouvant dépasser 1m- lieux humides—très abondante dans le tell, mais elle est rare ailleurs, son nom dans l'ouest de la méditerranée est « kef el djeranna »[1].



Fig 14 : Photo De La Plante *Ranunculus bulbosus*

III.2.3. Place dans la systématique

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Magnoliidae
Ordre	Ranunculales
Famille	Ranunculaceae
Genre	<i>Ranunculus</i>
Espèce	<i>bulbosus</i>

II. 2.4. Extraction

Après le broyage de la plante (350 mg), la matière végétale obtenue est mise à une macération dans une solution de méthanol chaud jusqu'à ébullition (H₂O:MeOH/ 30/ 70), cette macération est répétée 3 fois avec renouvellement du solvant, elle dure dans chaque fois 24 heures.

Après concentration sous vide à (35-50) °C, l'extrait méthanolique obtenu est dilué avec 350 ml d'eau distillée (à raison de 1 litre pour 1 kg de matière sèche), la solution est laissée une nuit puis filtrée.

La phase organique est séparée par l'incorporation de 200ml d'Acétates d'éthyle cinq fois au filtrat.

La masse de l'extrait brut d'AcOEt était de 2,3g.

-La phase aqueuse a subi une extraction trois fois avec le n-butanol, la masse de l'extrait butanolique était de 7,7g.

Le protocole d'extraction est résumé dans le Schéma III. 22 :

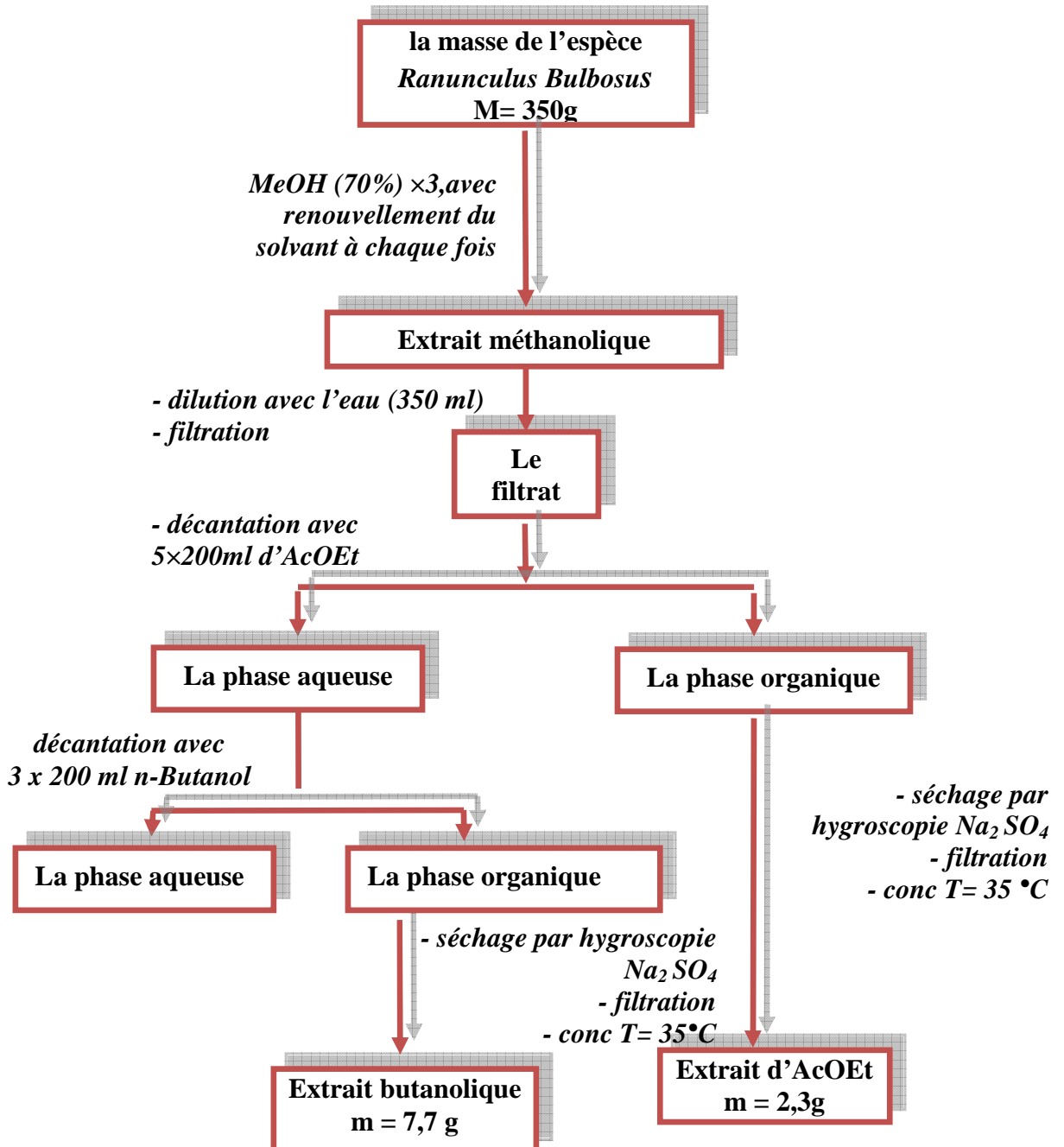


Schéma 2 : Protocole d'extraction de l'espèce *Ranunculus bulbosus*

Références bibliographiques :

[1] **Quezel and Santa.** (1963). Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, p 402.

[2] **Lennette H-E., Balows A., Hausler J-W and Shadomy H-J.** (1985). Manual of clinical microbiology. 4th ed. American Society for microbiology, Washington DC.

[3] **Simonpoli, P.** (1993). In Arbre Arabe, Arbignole, Savoirs Populaires sur les plantes de corse; *Parc Naturel Regional de la corse*: Ajaccio, Corsica, p 102.

CHAPITRE - IV -

**LES TESTS
BIOLOGIQUES**

IV. Tests biologiques :**IV.1. Activité anti inflammatoire:****IV.1.1. Méthode : œdème à la carragénine chez la souris selon Levy [1]**

Peser les souris : calculer le poids moyen avec homogénéisation des lots.

Constitution des lots : 5 lots

3 lots test et 1 lot (eau physiologique)

1 aspirine 250 mg/kg.

IV.1.2. Préparation des solutions :

Préparation des substances test (solution physiologique de préférence) : vérification de la teneur en extraits végétaux.

Si la matrice des substances test est complexe, noter la composition pour le témoin.

IV.1.2.1. Préparation de l'Acide acétyle Salicylique (ASS) :

Détermination du poids moyen des souris.

Ex : poids moyen 20 g

Dose souris $250 \text{ mg} \times 20 \text{ g} / 1000 \text{ g} = 5 \text{ mg}$.

Volume administré 0.5 ml.

Solution à administrer 10,6 mg/ml

Préparation de 50 ml de solution

Quantité d'aspirine à peser : $50 \text{ ml} \times 10,6 \text{ mg/ml} = 530 \text{ mg}$

Peser poudre ASPEGIC environ 1 060 mg à solubiliser dans 50 ml (possible problème de solubilisation).

IV.1.2.2. Préparation de l'eau physiologique :

Volume à préparer un litre.

Solubiliser 9 g de NaCl dans un litre d'eau distillée.

IV.1.2.3. Préparation de solution de carragénine :

Titre de la solution : 1%

Volume à préparer : 2,5 ml

Peser 25 mg de carragénine à solubiliser progressivement dans 2,5 ml

Remarque : possibilité d'ajouter 10 mg d'oxalate de Na afin d'augmenter le pouvoir inflammatoire.

IV.1.3. Protocole expérimental :**IV.1.3.1. Constitution des lots :**

Chaque lot comporte 12 souris : retenir 10 à la fin du test.

Peser les souris : calculer le poids moyen avec homogénéisation des lots

Constitution des lots : 5 lots

03 lots test (substances à tester)

01 lot témoin (eau physiologique)

01 aspirine 250 mg/kg

Chaque lot est localisé dans une cage étiquetée.

IV.1.3.2. les administrations :

IV.1.3.2.1. administrations des substances à tester (lots test)

Administration à T₀

Voie orale : sonde de gavage

Volume administré : 0,5 ml

IV.1.3.2.2. administrations de l'Acide acétyle Salicylique (lots référence)

Administration à T₀

Voie orale : sonde de gavage

Volume administré : 0.5 ml

IV.1.3.2.3. administrations du témoin (lots test)

Administration à T₀

Voie orale : sonde de gavage

Volume administré : 0.5 ml

IV.1.3.2.4. injection de la carragénine (tous les lots) :

Administration à T = 30 mns pour chaque lot.

Administration intra plantaire (patte droite)

Volume 0.025 ml.

IV.1.3.2. injection intra plantaire de l'eau physiologique (tous les lots) :

Administration à T = 30 mns pour chaque lot.

Administration intra plantaire (patte gauche)

Volume 0.025 ml.

IV.1.3.3. sacrifice des animaux :

Suffocation au chloroforme à T = 3,5 heures

Coupure des pattes immédiatement

Disposition sur une grille d'identification

IV.1.3.4. peser les pattes :

Sur balance analytique

Résultats sur tableau avec calcul du poids de l'œdème

Poids de l'œdème = poids pattes droite – poids patte gauche

IV.1.3.5. Calcule du pourcentage d'inhibition :

% d'inhibition = poids de l'œdème (témoin) – poids de l'œdème test / poids de l'œdème (témoin)

2/ comparaison statistique des moyennes des poids de l'œdème entre tests et référence.

IV.1.3.6. Résultats:

IV.1.3.6.1. Identification de l'essai : lot Témoin (eau physiologique)

Numéro de souris	Poids patte droite (mg)	Poids patte gauche (mg)	Poids de l'œdème (mg)
01	142.0	123.4	18.6
02	165.4	138.5	26.9
03	197.5	134.5	63
04	146.0	102.0	44
05	160.8	118.9	41.9
06	140.4	137.6	02.8
07	175.8	138.3	37.5
08	126.1	114.4	11.7
09	149.4	115.3	34.1
10	149.2	144.4	04.8
			Moy = 28.53

Tableau 01 : Identification de l'essai : lot Témoin (eau physiologique)

IV.1.3.6.2. Identification de l'essai : lot de référence (Aspirine)

Numéro de souris	Poids patte droite (mg)	Poids patte gauche (mg)	Poids de l'œdème (mg)
01	131.1	121.2	09.9
02	128.7	117.1	11.6
03	118.7	95.8	22.9
04	116.4	115.9	00.5
05	135.4	138.8	-03.4
06	106.7	106.5	-02.8
07	134.3	123.1	11.2

08	120.6	124.2	-03.6
09	161.7	140.4	21.3
10	092.4	090.5	01.9
			Moy = 6.95

Tableau 02: Identification de l'essai : lot de référence (Aspirine)

% d'inhibition = poids de l'œdème (témoin) – poids de l'œdème test / poids de l'œdème (témoin)

$$\% \text{ d'inhibition} = (28.53 - 6.95) / 28.53 = 75\%$$

IV.1.3.6.3. Identification de l'essai: lot 01 (extrait butanolique de l'espèce *Ammoides atlantica*).

Numéro de souris	Poids patte droite (mg)	Poids patte gauche (mg)	Poids de l'œdème (mg)
01	163,5	151.4	12.5
02	142.0	135.6	06.4
03	153.7	146.7	07.0
04	149.8	134.9	14.9
05	158.9	158.4	0.5
06	145.1	129.4	15.7
07	152.0	153.6	-01.6
08	146.8	121.5	25.3
09	153.3	147.8	04.5
10	193.3	179.9	13.4
			Moy = 9.86

Tableau 03 : Identification de l'essai: lot 01 (extrait butanolique de l'espèce *Ammoides atlantica*)

% d'inhibition = poids de l'œdème (témoin) – poids de l'œdème test / poids de l'œdème (témoin)

$$\% \text{ d'inhibition} = (28.53 - 9.86) / 28.53 = 65.44 \%$$

IV.1.3.6.4. Identification de l'essai : lot 02 (extrait Acétates d'éthyle de l'espèce *Ammoides atlantica*)

Numéro de souris	Poids patte droite (mg)	Poids patte gauche (mg)	Poids de l'œdème (mg)
01	159.0	114.6	44.4
02	131.8	110.6	21.2
03	156.9	131.7	25.2
04	163.3	167.9	- 04.6
05	173.1	157.3	15.8
06	165.2	144.1	21.1
07	141.3	134.0	07.3
08	125.9	115.3	10.6
09	147.7	130.9	16.8
10	142.7	137.4	05.3
			Moy = 16.31

Tableau 04 : Identification de l'essai lot 02 (extrait Acétates d'éthyle de l'espèce *Ammoides atlantica*)

% d'inhibition = poids de l'œdème (témoin) – poids de l'œdème test / poids de l'œdème (témoin)

$$\% \text{ d'inhibition} = (28.53 - 16.31) / 28.53 = 27.96\%$$

IV.1.3.6.5. Identification de l'essai : lot 03 (extrait Acétates d'éthyle de l'espèce *Ranunculus bulbosus*)

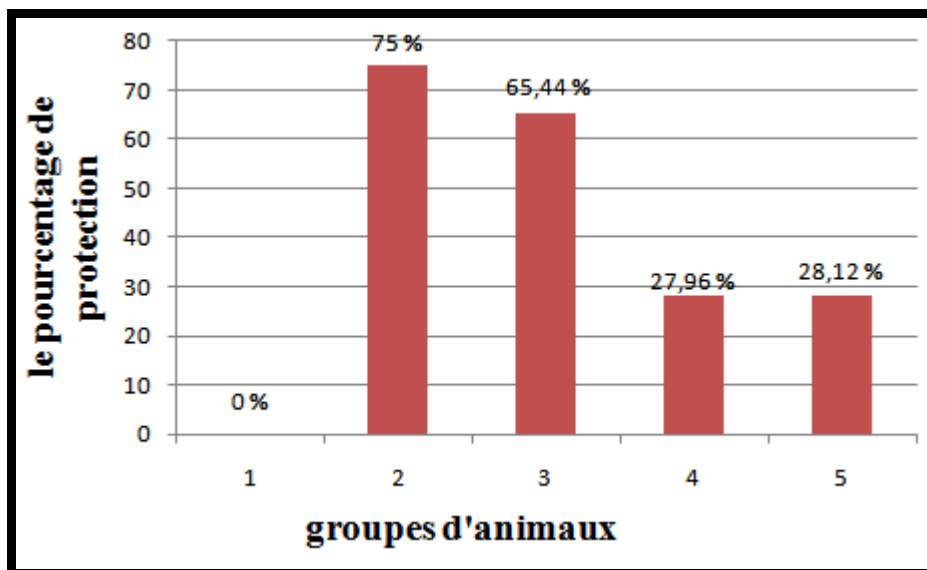
Numéro de souris	Poids patte droite (mg)	Poids patte gauche (mg)	Poids de l'œdème (mg)
01	149.9	145.7	04.2
02	157.5	154.4	03.1
03	167.4	145.7	21.7
04	156.1	143.3	12.8
05	186.2	168.6	19.6
06	127.8	132.8	- 05
07	108.3	129.5	21.2
08	153.2	154.7	-01.5
09	192.1	145.7	46.4
10	157.7	164.1	-6.4
			Moy = 11.61

Tableau 05 : Identification de l'essai : lot 03 (extrait Acétates d'éthyle de l'espèce *Ranunculus bulbosus*)

% d'inhibition = poids de l'œdème (témoin) – poids de l'œdème test / poids de l'œdème (témoin)

$$\% \text{ d'inhibition} = (28.53 - 11.61) / 28.53 = 28.12\%$$

Les résultats des tests obtenus sont regroupés et représentés sur l'histogramme suivant :



- 1- contrôle
- 2- l'aspirine
- 3- extrait butanolique de l'espèce *Ammoides atlantica*
- 4- extrait d'acétates d'éthyle de l'espèce *Ammoides atlantica*
- 5- extrait d'acétates d'éthyle de l'espèce *Ranunculus bulbosus*

Histogramme 01 : variation des pourcentages d'inhibition en fonction des groupes d'animaux qui ont reçu un extrait spécifique

IV.1.4. Discussions :

On remarque que l'extrait butanolique de l'espèce *Ammoides Atlantica* a donné une activité anti-inflammatoire maximale de **65.44 %**, par rapport aux deux autres extraits : extrait Acétates d'éthyle de l'espèce *Ammoides Atlantica* (**27.96%**) et l'extrait Acétates d'éthyle de l'espèce *Ranunculus bulbosus* (**28.12%**). Et en plus son activité anti-inflammatoire est proche de la référence (**l'Aspirine a 75%**), ce qui nous oriente à tester l'activité anti-inflammatoire des produits séparés et identifiés de cet extrait.

IV.2. Activité antibactérienne :

IV.2.1. Protocole du test d'activité antibactérienne des extraits : les extraits testés sont :

Extrait butanolique de l'espèce *Ammoides atlantica*.

Extrait Acétates d'éthyle de l'espèce *Ammoides atlantica*.

Extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides atlantica*.

Extrait Acétates d'éthyle de l'espèce *Ranunculus bulbosus*.

Extrait butanolique de l'espèce *Ranunculus bulbosus*

La **figure 15** montre le protocole du test d'activité antibactérienne.

IV.2.1.1. Préparation des disques de papiers buvard [2] [3]:

Le choix du papier buvard se fait par rapport à son épaisseur et à sa qualité d'absorption (après plusieurs essais).

- Découper le papier buvard sous forme de disques (6 mm de diamètre).
- stériliser au four Pasteur à 170°C pendant 2 heures.
- Verser dans les conditions d'asepsie totales une quantité suffisante de chaque extrait (butanolique, de l'acétate d'éthyle, et méthanolique) des deux espèces de plantes : *Ammoides atlantica* et *Ranunculus bulbosus* après leur stérilisation à froid par filtration en utilisant des filtres seringues dont le diamètre des pores est de 0.2µm dans des boîtes de Pétri stériles.
- Imprégner les disques du papier buvard dans les boîtes précédentes à raison de 4 disques par extrait et par boîte.
- Laisser un temps de contact (d'absorption).
- Récupérer les disques à l'aide d'une pince stéril ; mettez les dans une autre boîte de Pétri stérile.
- Sécher les disques à l'étuve 37°C pendant 30 minutes.
- Stériliser les disques sous UV (ultra violet) 254 nm pendant 20 mn à une distance de 20 cm [2,3].

IV.2.1.2. Préparation du témoin [2] [3] :

Nous avons procédé avec la même technique en remplaçant chaque extrait par son solvant d'extraction.

IV.2.1.3. Préparation de la suspension des souches de référence [2] [3] :

IV.2.1.3.1. Souches cibles utilisées : une souche bactérienne à Gram positif et deux souches à Gram négatif :

- 1 - *Staphylococcus aureus* 25923 ATTC. (Gram +)
- 2- *Pseudomonas aeruginosa* 27853 ATTC. (Gram -)
- 3- *Escherichia coli* 25922 ATTC. (Gram -)

IV.2.1.3.2. Origine :

Les souches nous ont été fournies par le laboratoire central de bactériologie médicale « CHU BATNA ».

IV.2.1.3.3. Vérification de la pureté des souches :

Nous avons vérifié la pureté des souches de référence cibles par observation microscopique.

IV.2.1.4. Inoculum : [4]

- A partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland (illustré dans le control de l'inoculum) ou à une DO de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm.
- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

IV.2.1.5. Contrôle de l'inoculum [4] :

- Préparer l'étalon 0,5 Mc Farland, en versant 0,5 ml d'une solution de BaCl₂ hydraté à 1% (10 g/l) dans une éprouvette de 100 ml. Compléter à 100 ml avec du H₂SO₄ à 1% (10 ml/l) Ainsi préparé il doit avoir une DO de 0,08 à 0,1 lue à 625 nm.
- Aliquoter la solution en volumes de 10 ml, dans des tubes identiques à ceux qui serviront à la préparation des inoculums (le nombre d'aliquotes sera fonction du nombre de manipulateurs).
- Sceller ces tubes de façon à éviter toute évaporation (para film, ruban adhésif).
- Repérer le niveau du liquide à l'aide d'un marqueur, et le contrôler régulièrement en prenant la densité optique.
- Conserver les tubes à température ambiante et à l'abri de la lumière (papier aluminium).
- Homogénéiser le tube étalon avant de le comparer à l'inoculum préparé:
L'inoculum doit avoir la même turbidité que l'étalon.

IV.2.1.6. Ensemencement : [3]**- Milieux utilisés**

Géloses Muller Hinton (MH), coulées en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm (Les géloses sont séchées avant emploi).

- Milieu Muller-Hinton :**-Composition :** (g/l d'eau distillée) [89]

- Infusion de viande de bœuf déshydratée..... 300 g
- Hydrolysat de caséine..... 17.5 g
- Amidon..... 1.5 g
- Agar.....17 g

pH final : 7.4 ± 0.2

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- le nombre de boîtes ensemencées est en fonction du nombre des extraits à tester par souches cibles.
- chaque boîte doit être séparé en deux compartiment le premier pour déposer le disque de l'extrait à tester et le deuxième c'est pour le témoin.

IV.2.1.7. Application des disques : [4]

- Nous avons utiliser une pince stérile pour appliquer les disques à la surfaces des milieux déjà ensemencés à raison d'un seul disque de chaque extrait et du témoin par souche cible et par boîte de pétri . Sans oublier de marquer le compartiment du témoin.
- les boîtes de pétri sont placées à 4°C pendant 2 heures puis incubé à 37°C.

IV.2.1.8. Lecture : [4]

S'il y a une activité ; mesurer avec précision, le diamètre des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique.

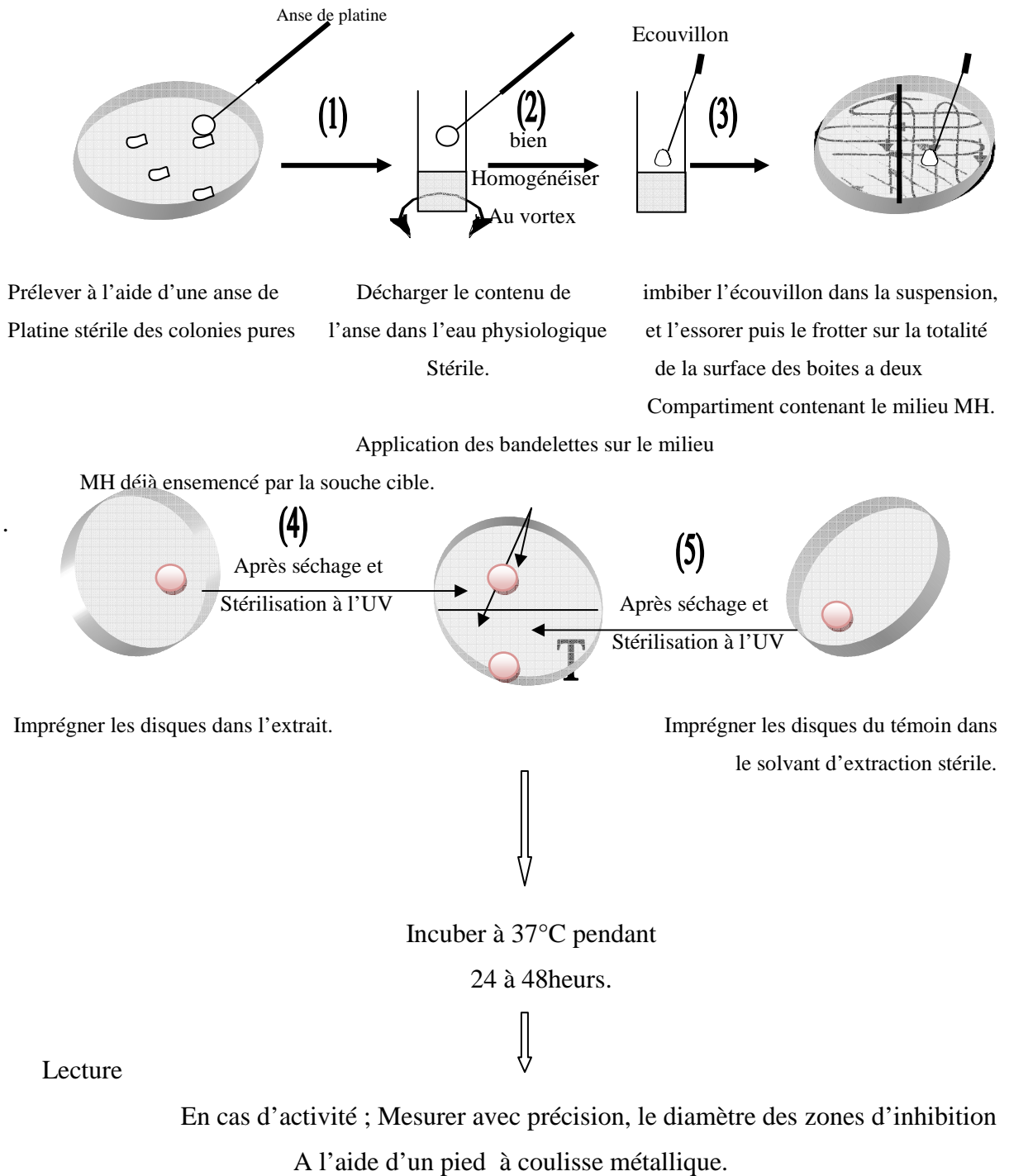


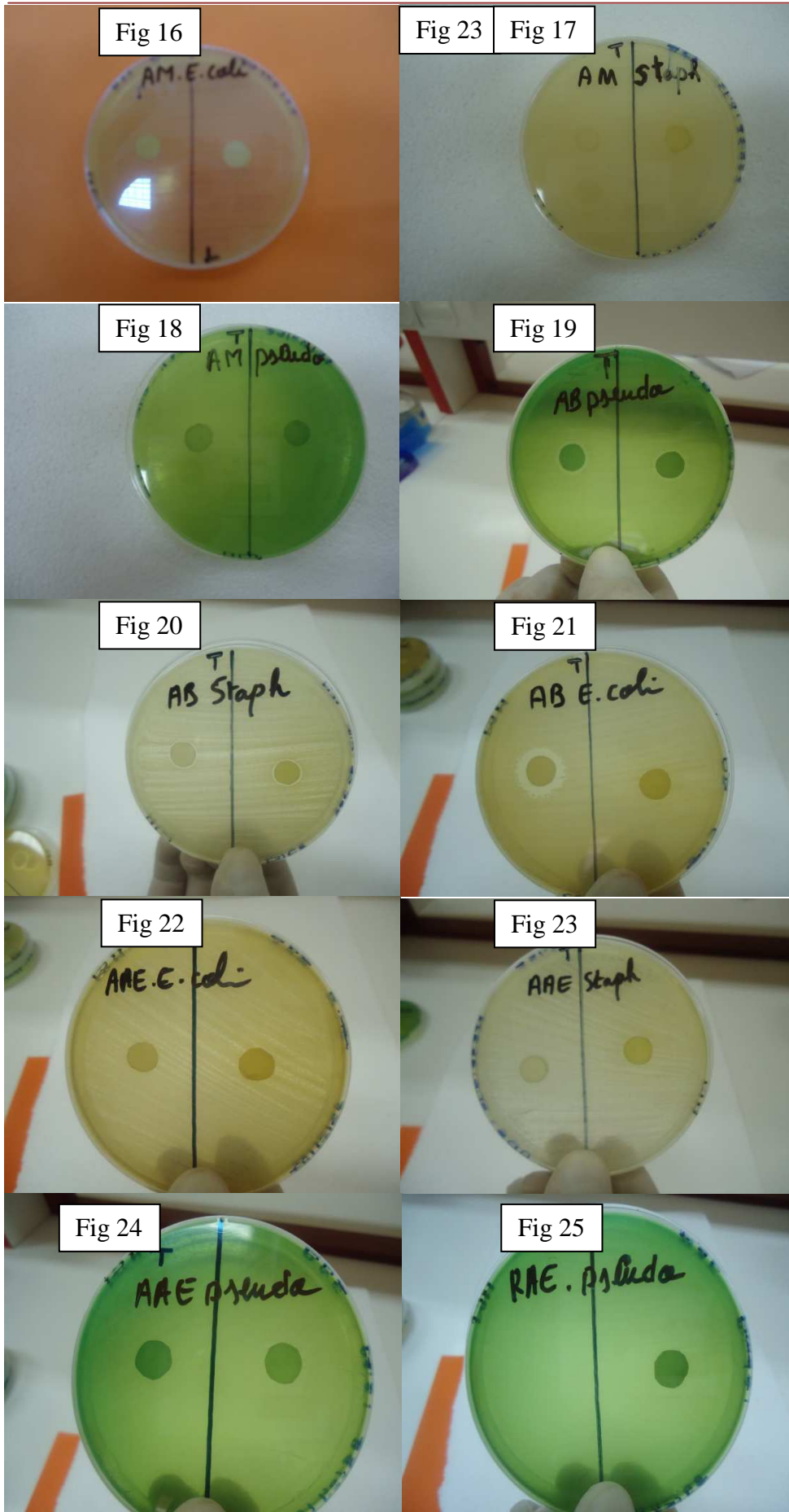
Figure 15: Protocole du test d'activité antibactérienne sur milieu liquide.

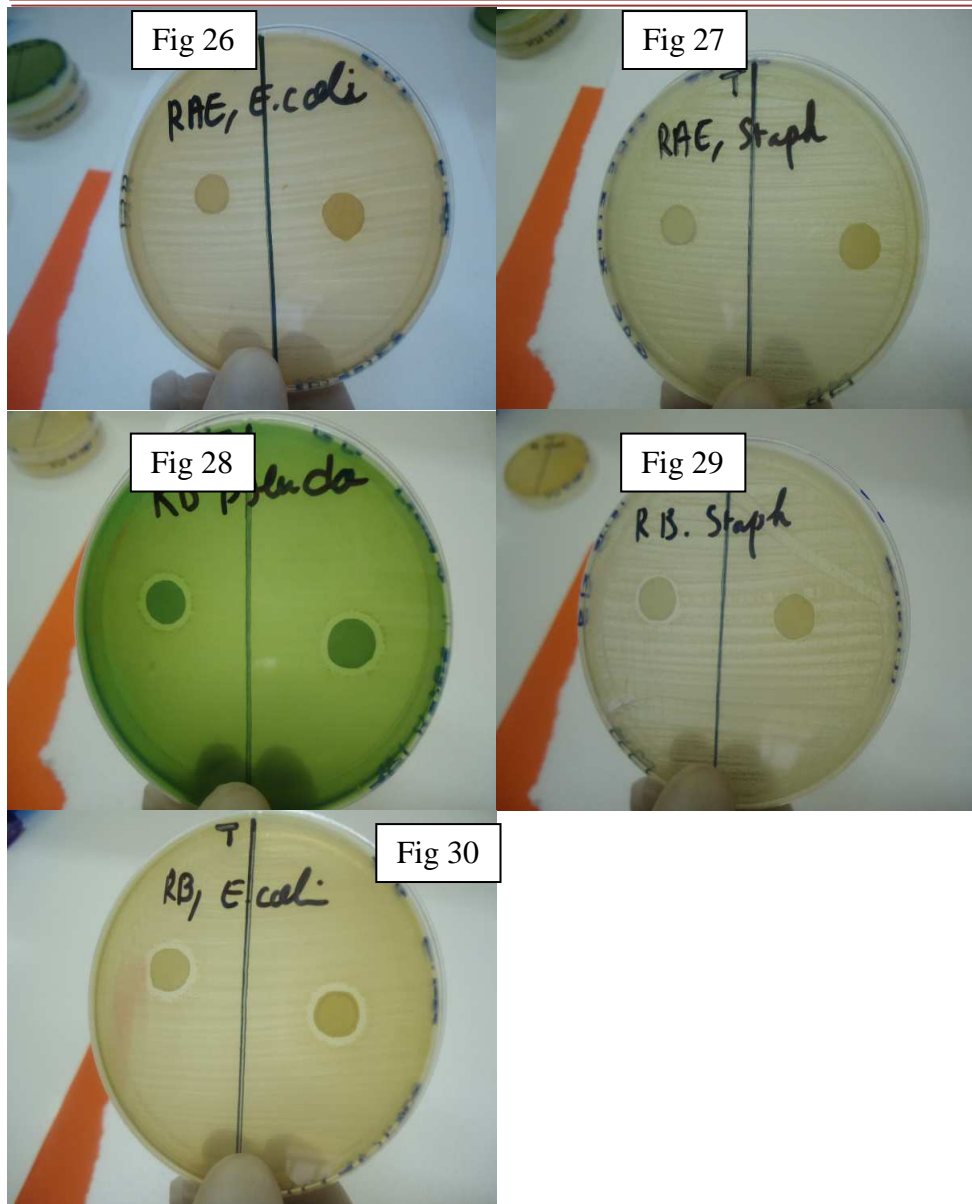
IV.2.2. Résultats :

Les résultats de ces tests sont représentés sur les photos suivantes, les titres des figures représentées dans le tableau 06

Les abréviations	La signification
Fig.16	L'extrait méthanolique de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Escherichia coli</i> .
Fig.17	L'extrait méthanolique de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Staphylococcus aureus</i>
Fig.18	L'extrait méthanolique de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Fig. 19	L'extrait butanolique de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Fig. 20	L'extrait butanolique de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Staphylococcus aureus</i> .
Fig. 21	L'extrait butanolique de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Escherichia coli</i> .
Fig. 22	L'extrait d'acétates d'Ethyle de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Escherichia coli</i> .
Fig. 23	L'extrait d'acétates d'Ethyle de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Staphylococcus aureus</i> .
Fig. 24	L'extrait d'acétates d'Ethyle de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i> avec <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Fig. 25	L'extrait d'acétates d'Ethyle de l'espèce <i>Ranunculus bulbosus</i> avec <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Fig. 26	L'extrait d'acétates d'Ethyle de l'espèce <i>Ranunculus bulbosus</i> avec <i>Escherichia coli</i> .
Fig. 27	L'extrait d'acétates d'Ethyle de l'espèce <i>Ranunculus bulbosus</i> avec <i>Staphylococcus aureus</i> .
Fig. 28	L'extrait butanolique de l'espèce <i>Ranunculus bulbosus</i> avec <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Fig. 29	L'extrait butanolique de l'espèce <i>Ranunculus bulbosus</i> avec <i>Staphylococcus aureus</i> .
Fig. 30	L'extrait butanolique de l'espèce <i>Ranunculus bulbosus</i> avec <i>Escherichia coli</i> .

Tableau 06 : listes des abréviations des tests d'activité antibactérienne.





On remarque sur les figures des différents extraits des deux espèces : *Ammoides atlantica* et *Ranunculus bulbosus*, l'absence de zones d'inhibition autour des disques imprégnés par ces extraits ; A l'exception des disques des extraits butanoliques : AB. *E coli*, AB. *Staph*, AB. *Pseudo*, RB. *E coli*, RB. *Staph* et RB. *Pseudo*. où on remarque une petite zone d'inhibition, mais cette même zone d'inhibition avec le même diamètre est apparue autour du témoin (le solvant) qui est le butanol, ce qui signifie que l'activité est due à ce dernier et pas aux extraits.

On peut conclure que tous ces extraits utilisés des deux espèces *Ammoides atlantica* et *Ranunculus bulbosus* n'ont pas d'activité antibactérienne contre ces trois souches qui sont :

- *Staphylococcus aureus* 25923 ATTC. (Gram +)
- *Pseudomonas aeruginosa* 27853 ATTC. (Gram -)
- *Escherichia coli* 25922 ATTC. (Gram -)

IV.3. Activité antifongique :

IV.3.1. Protocole du test d'activité antifongique des extraits : les extraits testés sont symbolisés comme suit:

- **B** : L'extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides atlantica*.
- **C** : L'extrait butanolique de l'espèce *Ammoides atlantica*.
- **D** : L'extrait butanolique de l'espèce *Ranunculus bulbosus*

Les souches utilisées sont :

- *Trichloro cutanum*.
- *Candi allicams*.

IV.3.2. Protocole expérimental : [5]

- 1- Dissoudre le milieu de culture **sabouraud** dans un bain marie à 80 °C.
- 2- Verser le milieu de culture dans la boîte de pétri.
- 3- Laisser sécher.
- 4- Avec une Anse de platine, prélever les souches fongiques et mettez les au milieu de la boîte de pétri.
- 5- Stériliser les disques dans un autoclave.
- 6- Mettre sur les disques 10 micro litre de chaque extrait : B, C et D leurs concentrations est de 76 mg/ml.
- 7- Sécher les disques.
- 8- Mettez les dans les boîtes de pétri et fermer avec du para film.
- 9- Laisser les boîtes de pétri dans l'étuve à 30 °C pendant 24 heures.

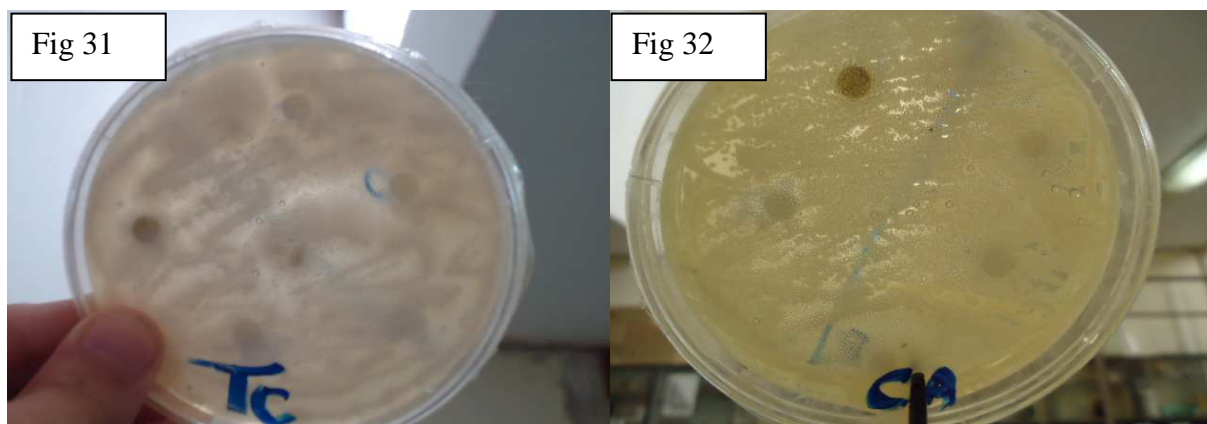
IV.3.3. Résultats :

Les résultats de ces tests sont représentés sur les photos suivantes, les titres des figures représentées dans le tableau 07 :

La figure	La signification
Fig. 31	<p><i>Trichloro cutanum</i> avec les extraits :</p> <p>B : L'extrait méthanolique de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i>.</p> <p>C : L'extrait butanolique de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i>.</p> <p>D : L'extrait butanolique de l'espèce <i>Ranunculus</i></p>

	<i>bulbosus</i>
Fig. 32	<p><i>Candi allicams</i> avec les extraits :</p> <p>B : L'extrait méthanolique de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i>.</p> <p>C : L'extrait butanolique de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i>.</p> <p>D : L'extrait butanolique de l'espèce <i>Ranunculus bulbosus</i></p>

Tableau 07 : listes des abréviations des tests d'activité anti-fongique.



On remarque sur les figures 31 et 32 des différents extraits des deux espèces : *Ammoides atlantica* et *Ranunculus bulbosus*, l'absence de zones d'inhibition autour des disques imprégnés par ces extraits ;

On peut conclure que tous ces extraits utilisés des deux espèces *Ammoides atlantica* et *Ranunculus bulbosus* n'ont pas d'activité anti-fongique contre ces deux souches qui sont :

- *Trichloro cutanum*
- *Candi allicams*.

IV.3. Activité anti-oxydante : Détermination de l'activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique de *Ammoides atlantica* par la méthode de DPPH (effet scavenger)

IV.3. 1. Le protocole expérimental :

L'activité anti-radicalaire a été évaluée, *in vitro*, par le test de DPPH. Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette comme réactif, qui vire au jaune, en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine [6]. Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. Pour cela, 30 µl d'extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides atlantica* a été incubés avec 3 ml d'une solution méthanolique de DPPH à 100 µM. Après une période d'incubation de 15 minutes, les absorbances à 517 nm ont été enregistrées. Les résultats obtenus pour l'extrait testé ont été exprimés par rapport à ceux obtenus pour le quercetine pris comme antioxydant de référence. Le pourcentage d'inhibition (I %) du radical DPPH par l'extrait de *Ammoides atlantica* a été calculé comme suit:

$$I \% = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

AC: absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif : DPPH seul)

AE: absorbance en présence de l'inhibiteur (le contrôle positif : DPPH avec l'extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides atlantica*).

La concentration inhibitrice de 50 % de l'activité du DPPH (IC50) de l'extrait a été par la suite calculée à partir de l'équation qui détermine le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'inhibiteur. Elle a été exprimée en µg / ml et comparée avec celle du quercetine.

On a commencé par la préparation de la solution témoin (le DPPH seul) de concentration égale à 0.14 mg/ml, et pour cela on à dessous 14 mg de DPPH dans 100 ml d'eau distillée.

Pour obtenir les différentes concentrations de la solution test : (la solution de l'extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides atlantica*) ; on a préparé une solution mère de l'extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides atlantica* de concentration égale à 60 mg/ml, puis on a effectué des dilutions successives (20, 5, 3, 2, 1, 0.5, 0.25 et 0.12) mg/ml ; on appelle toutes ces concentrations de ces solutions préparées : concentrations externes (sans DPPH), de chacune de ces solutions diluées on a prélevé 30 µl et y on ajoute 3 ml de la solution du DPPH, la concentration de la solution résultante est calculé par la formule de dilution suivante : $C_1 V_1 = C_2 V_2$

C_1 : la concentration de la solution à diluer (20, 5, 3, 2, 1, 0.5 et 0.25).

V_1 : 30 µl.

C_2 : la concentration de la solution résultante (après l'addition de 3 ml du DPPH)

$$V_2 : 3 \text{ ml} + 30 \text{ } \mu\text{l} = 3030 \text{ } \mu\text{l}$$

Les concentrations des solutions résultantes sont appelées : concentrations internes (avec DPPH).

Les concentrations des différentes solutions (internes et externes) sont représentées sur le tableau 08 suivant :

Concentration externe (l'extrait seul)	Concentration interne (DPPH avec l'extrait)
20	0,198
5	0,0495
3	0,0297
2	0,0198
1	0,0099
0,5	0,00495
0,25	0,002475
0,12	0,001188

Tableau 08 : les concentrations externes et internes du test sur l'activité anti-oxydante de l'extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides atlantica*

Puis on a passé aux mesures des absorbances des différentes solutions ; on a commencé par l'absorbance en absence de l'inhibiteur (**AC** : le contrôle négatif), la valeur donnée par le spectrophotomètre après deux mesures successives de cette absorbance était de **0,92**.

L'absorbance de chaque concentration interne (**AE** : le contrôle positif) est mesurée elle aussi deux fois et cela pour vérifier la reproductibilité des résultats ainsi pour minimiser les erreurs.

A la fin la moyenne des deux absorbances était prise lors de la détermination de l'IC 50. Après l'obtention des différents résultats ; on a tracé les courbes qui représentent la variation des pourcentages d'inhibitions (**I %**) en fonction des valeurs des absorbances des contrôles positifs (**AE**).

IV.3. 2. Résultats et discussions :

- Les premières mesures des absorbances de chaque solution interne ainsi que leurs pourcentages d'inhibition (**I %**) sont représentées sur le tableau 09.

Le pourcentage d'inhibition est calculé avec la formule déjà donnée dans le protocole expérimental : **I % = [(AC – AE) / AC] × 100**

AC = 0,92 : absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif : DPPH seul)

AE: absorbance en présence de l'inhibiteur (le contrôle positif : DPPH avec l'extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides atlantica*).

Concentration interne (DPPH avec l'extrait) (mg/ml	Les absorbances des premiers AE : le contrôle positif	Les premiers pourcentages d'inhibition (I %)
0,198	0,052	94,3478261
0,0495	0,054	94,1304348
0,0297	0,055	94,0217391
0,0198	0,091	90,1086957
0,0099	0,264	71,3043478
0,00495	0,282	69,3478261
0,002475	0,497	45,9782609
0,001188	0,538	41,5217391
	AC = 0,92	

Tableau 09 : Les premières mesures des absorbances de chaque solution interne du test sur l'activité anti-oxydante de l'extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides atlantica*.

La figure 33 et l'histogramme 02 ; représentent respectivement la courbe et l'histogramme qui montrent la variation des premiers pourcentages d'inhibitions (**I %**) en fonction des concentrations internes.

$IC_{50} = 0,66511$

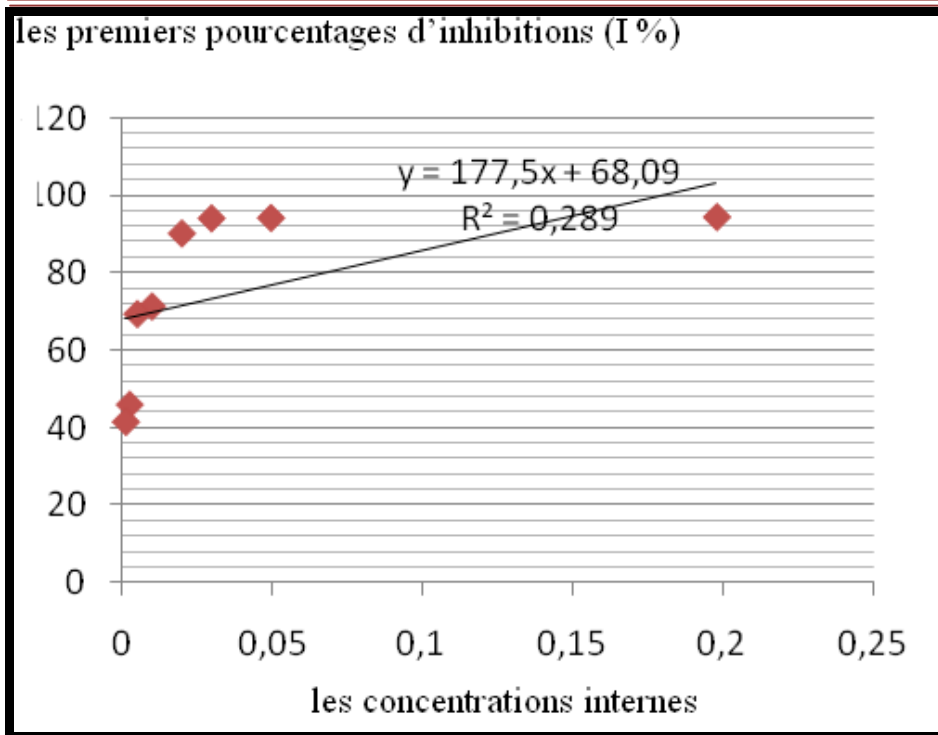
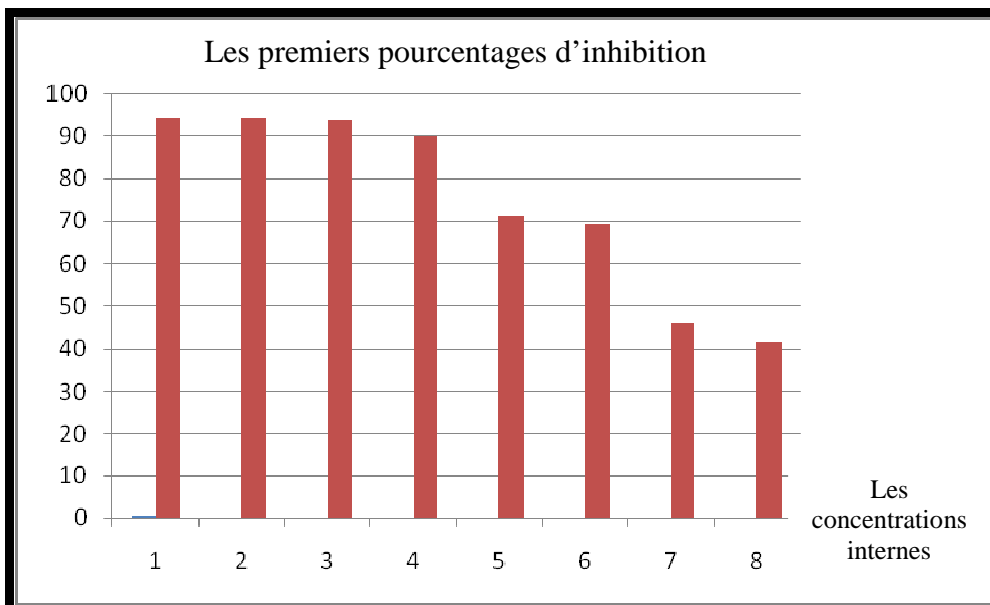


Fig. 33 : la courbe qui montre la variation des premiers pourcentages d'inhibitions (I %) en fonction des concentrations internes



Histogramme 02 : Histogramme qui montre la variation des premiers pourcentages d'inhibitions (I %) en fonction des concentrations internes

Les deuxièmes mesures des absorbances de chaque solution interne ainsi que leurs pourcentages d'inhibition (I %) sont représentées sur le tableau 10.

Le pourcentage d'inhibition est calculé avec la formule déjà donnée dans le protocole expérimental : $I \% = [(AC - AE) / AC] \times 100$

AC = 0,92 : absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif : DPPH seul)

AE: absorbance en présence de l'inhibiteur (le contrôle positif: DPPH avec l'extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides atlantica*).

Concentration interne (DPPH avec l'extrait) (mg/ml)	Les absorbances des deuxièmes AE : le contrôle positif	Les deuxièmes pourcentages d'inhibition (I %)
0,198	0,049	94,673913
0,0495	0,053	94,2391304
0,0297	0,058	93,6956522
0,0198	0,094	89,7826087
0,0099	0,258	71,9565217
0,00495	0,286	68,9130435
0,002475	0,501	45,5434783
0,001188	0,556	39,5652174
	AC = 0,92	

Tableau 10 : Les premières mesures des absorbances de chaque solution interne du test sur l'activité anti-oxydante de l'extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides atlantica*.

La figure34 et l'Histogramme 03 représentent respectivement la courbe et l'histogramme qui montre la variation des deuxièmes pourcentages d'inhibitions (**I %**) en fonction des concentrations internes.

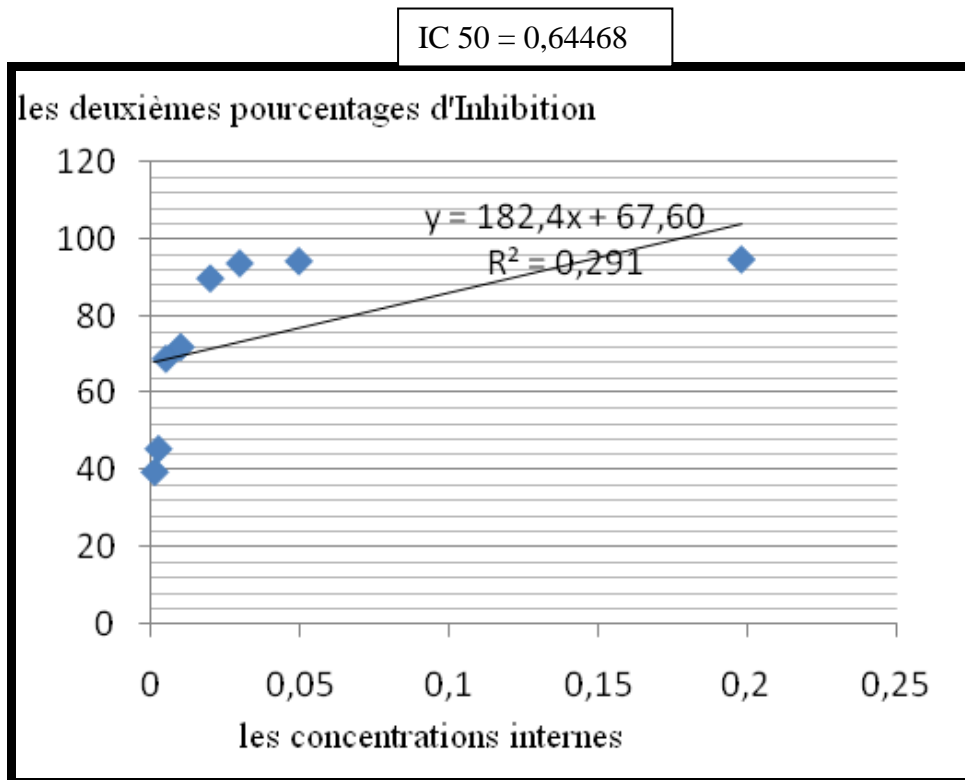
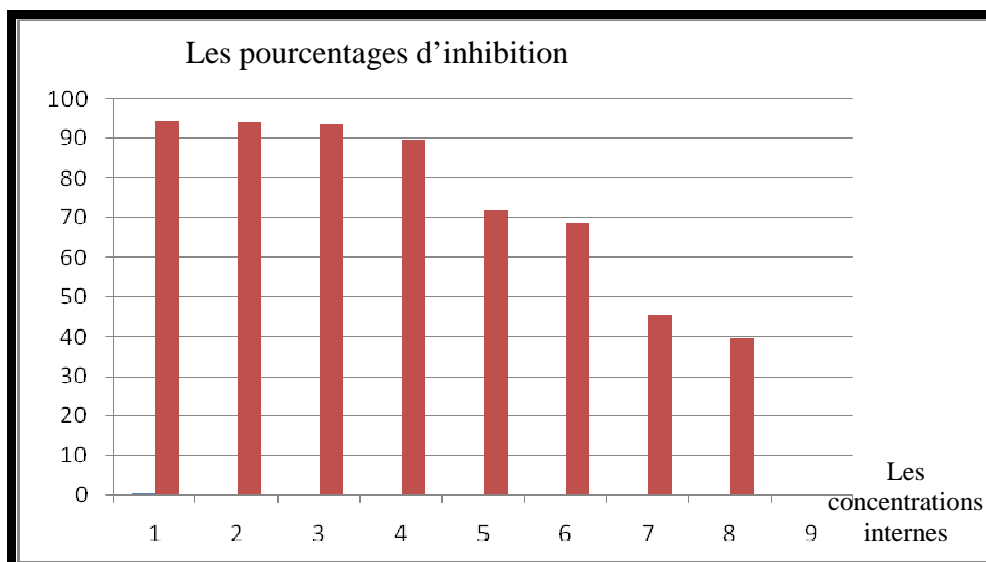


Fig. 34: la courbe qui montre la variation des premiers pourcentages d'inhibitions (I %) en fonction des concentrations internes



Histogramme 03 : Histogramme qui montre la variation des deuxièmes pourcentages d'inhibitions (I %) en fonction des concentrations internes.

- Les moyennes des deux mesures des absorbances de chaque solution interne ainsi que leurs moyennes des deux pourcentages d'inhibition sont représentées dans le tableau 11.

Le pourcentage d'inhibition est calculé avec la formule déjà donnée dans le protocole expérimental : $I \% = [(AC - AE) / AC] \times 100$

AC = 0,92 : absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif : DPPH seul)

AE: absorbance en présence de l'inhibiteur (le contrôle positif : DPPH avec l'extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides atlantica*).

Concentration interne (DPPH avec l'extrait) (mg/ml)	Les moyennes des deux absorbances	Les moyennes des deux pourcentages d'Inhibition
0,198	0,0505	94,5108696
0,0495	0,0535	94,1847826
0,0297	0,0565	93,8586957
0,0198	0,0925	89,9456522
0,0099	0,261	71,6304348
0,00495	0,284	69,1304348
0,002475	0,499	45,7608696
0,001188	0,547	1,38346979
	AC = 0,92	

Tableau 11 : Les moyennes des deux mesures des absorbances de chaque solution interne ainsi que leurs moyennes des deux pourcentages d'inhibition.

La figure 35 et l'Histogramme 04 représentent respectivement la courbe et l'histogramme qui montre la variation des moyennes des deux pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations internes

$IC_{50} = 0,6549$

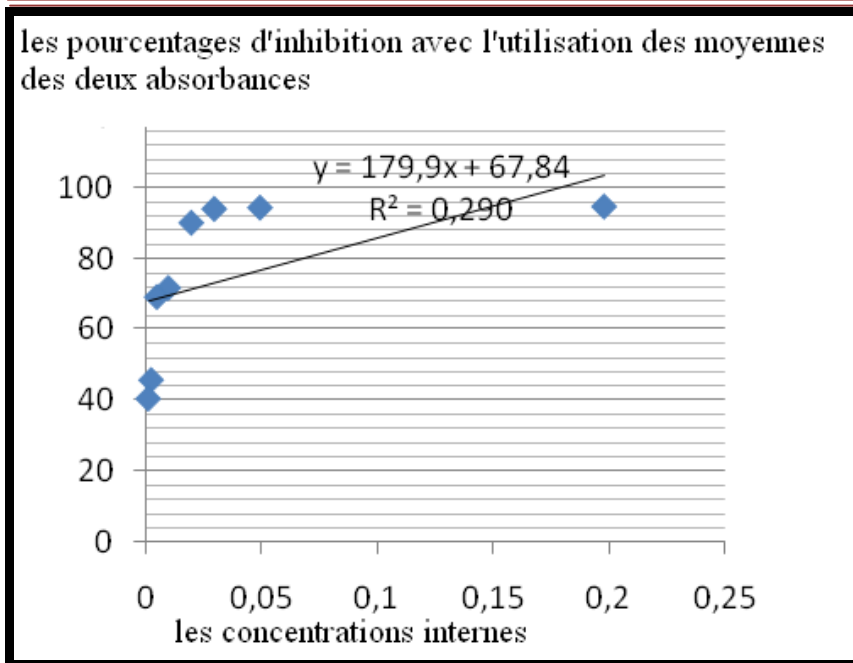
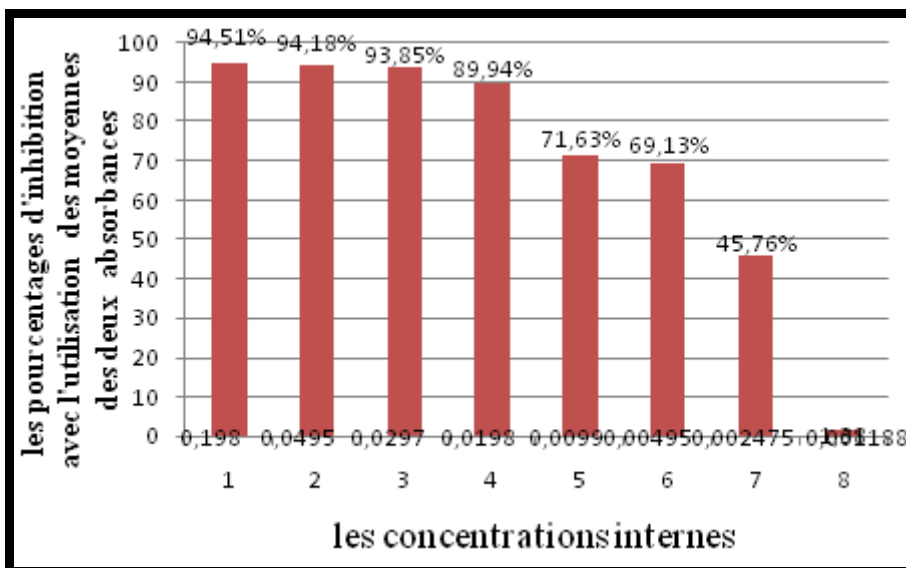


Fig. 35 : la courbe qui montre la variation des moyennes des deux pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations internes.



Histogramme 04 : Histogramme qui montre la variation des moyennes des deux pourcentages d'Inhibition en fonction des concentrations internes

Puis on a effectué les mêmes étapes précédentes avec l'antioxydant de référence qui est le quercetine, les concentrations internes (DPPH avec le quercetine) sont représentées avec leurs pourcentages d'inhibition sur le tableau 12.

La concentration interne (mg/ml) (DPPH avec le quercetine)	Les pourcentages d'inhibition (I %)
0,02	96,06
0,01	95,91
0,005	95,81
0,0025	94,72
0,0012	46,45

Tableau 12 : les concentrations internes (DPPH avec le quercetine) sont représentées avec leurs pourcentages d'inhibition

La figure 36 et l'Histogramme 05 représentent respectivement la courbe et l'histogramme qui montre la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations internes.

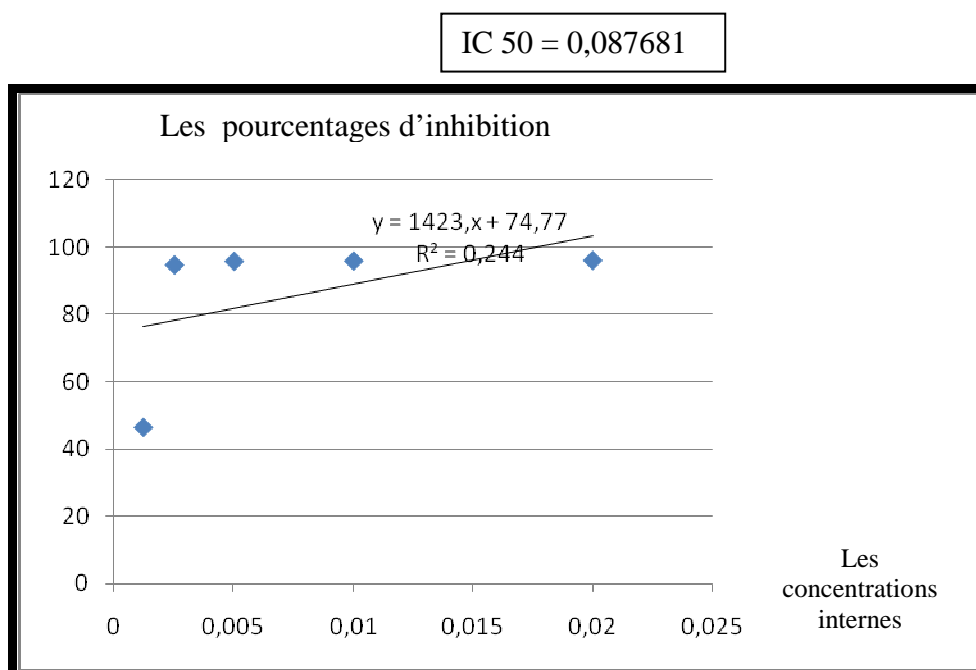
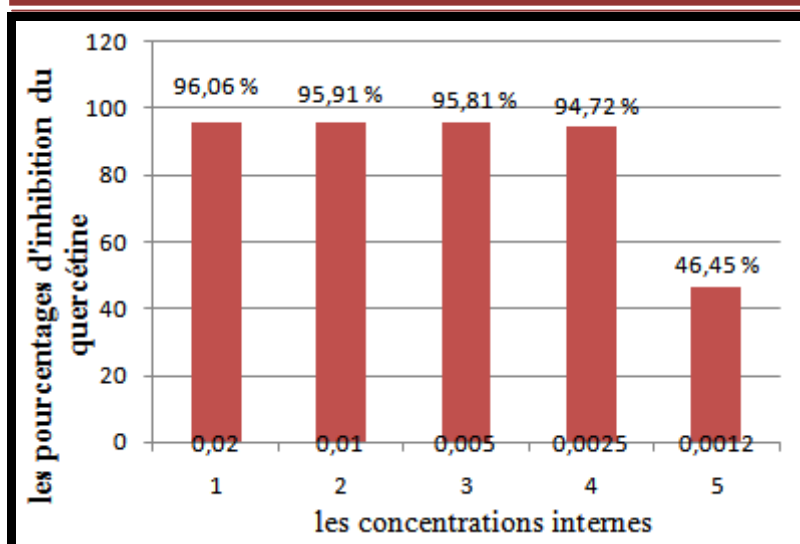


Fig.36 : variation des pourcentages d'Inhibition du quercetine en fonction des concentrations internes



Histogramme 05 : variation des pourcentages d'inhibition du quercétine en fonction des concentrations internes

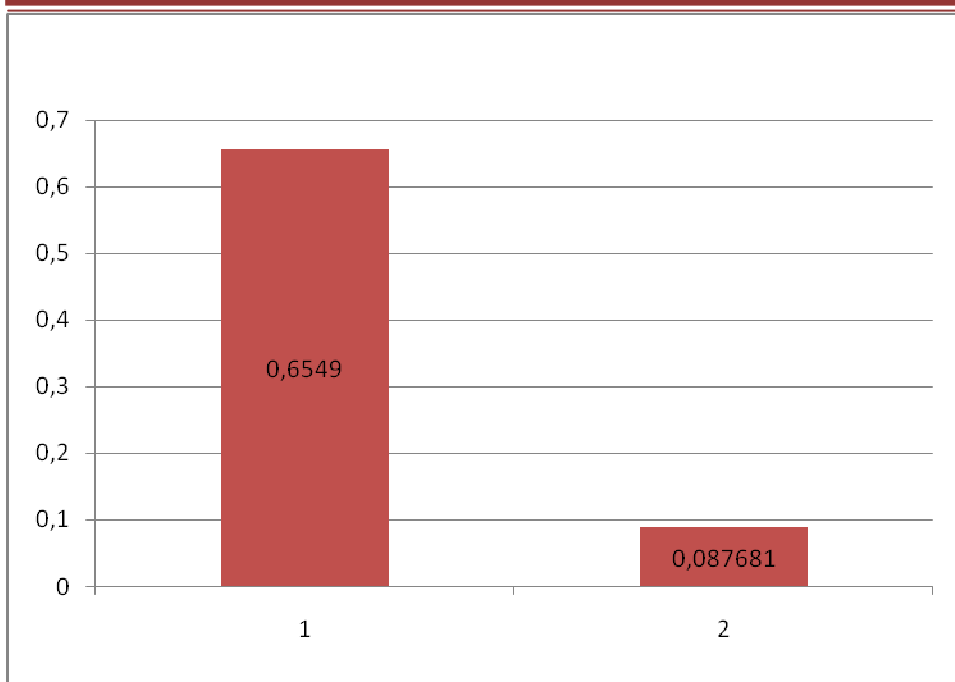
La concentration inhibitrice de 50 % de l'activité du DPPH (IC50) de notre extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides atlantica* est de 0,6549, et celle de l'antioxydant de référence (le quercétine) est de 0,087681.

Les deux valeurs sont représentées dans le tableau 13

(IC50) de notre extrait méthanolique de l'espèce <i>Ammoides atlantica</i>	(IC50) de l'antioxydant de référence (le quercétine)
0,6549	0,087681

Tableau 13 : les valeurs des IC 50

L'histogramme 06 représente la comparaison entre le pouvoir d'inhibition de notre extrait et celui du quercétine pris comme un antioxydant de référence.



1- L'extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides atlantica*

2- Le quercetine

Histogramme 06 : les valeurs des IC 50 de l'extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides atlantica* et celle du quercetine

D'après l'histogramme 06 ; l'extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides atlantica* a une activité antioxydante avec une IC 50 égale à 0,6549 supérieure 7.5 fois par rapport à celle du quercetine qui est de 0,087681.

Références bibliographiques :

- [1] **Levy L.** (1969). Carrageenan paw edema in the mouse, *L ifc Sci* 8, pp 601-606.
- [2] **BOUTI K.** (1997). Les genres rares Planomonospora, Planobispora, Spirillospora et Streptosporangium (Actinomycetes) dans les sols sahariens : Taxonomie numérique et études de quelques uns de leurs antibiotiques. Thèse de magister. *ENS.EL Kouba, Alger*, p149.
- [3] **HILALI L. et al.** (2002). Isolement de Nouvelles souches d'actinomycetes productrices de substances antifongique à partir du milieu naturel marocain .*Rev.Biol and Biotech by the marocain Society of Biologie , Canada.*, 2: pp 49-53.
- [4] **RAHAL K.** (2005). Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle Nationale. Selon les recommandations de l'OMS ; *Alger, ALGERIE*, p116.
- [5] **Muschietti, L.; Derita, M.; Sulsen, V.; De Dios, J.; Ferrero, G and Zacchino S.** (2005). *V.J. Ethnopharmacol*, pp102-233.
- [6] **Koleva I-I., Van Beck T-A., Linsen, J-P-H., Groot A and Evstatieva, I-N.** (2002). Screening of plant extract for antioxidant activity: A comparative study on three testing methods. *Phyt.l Anal.*, 13, pp 8–17.

CONCLUSION GENERALE

L'homme a, de tout temps, utilisé ou tenté d'utiliser pour se soigner les produits à sa disposition dans la nature. L'intérêt des produits naturels comme principes actifs ou sources d'inspiration pour la conception de nouveaux médicaments découle de leur rôle de médiateurs de communication chimique dans le vivant, et dans ce cadre vient notre présente étude.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés aux différents métabolites secondaires issus de deux plantes différentes. L'une *Ammoides Atlantica* appartenant à la famille des Apiaceae du genre *Ammoides*, l'autre *ranunculus bulbosus* appartenant à la famille des renonculacées du genre *Ranunculus*.

Après extraction des parties aériennes des deux plantes avec trois solvants de polarités différentes qui sont : le méthanol, l'acétate d'éthyle et le n-butanol ; on a effectué des tests sur leurs activités biologiques à savoir : anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique et antioxydante.

Les résultats obtenus de ces tests nous ont permis de constater que les deux espèces ont des propriétés anti-inflammatoires, notamment l'extrait butanolique de l'espèce *Ammoides Atlantica* qui a donné une activité anti-inflammatoire importante.

Par contre dans le test de l'activité anti bactérienne et anti fongique; tous nos extraits ne seraient pas actif sur les souches : *Staphylococcus aureus* 25923 ATTC. (Gram+), *Pseudomonas aeruginosa* 27853 ATTC. (Gram -) et *Escherichia coli* 25922 ATTC. (Gram-), *Trichloro cutanu* et *Candi allicams*.

Lors de la réalisation du test sur l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides Atlantica*, ce dernier a donné un bon pouvoir d'inhibition.

Et on perspectives on compte étudier le reste des activités biologiques de ces deux espèces (les activités : antidiabétique, analgésique, antiulcéreuse, cicatrisante...) afin de les mieux explorer, et participer dans l'ouverture du chemin vers un médicament algérien à base des plantes algérienne (le phytomédicament).

Résumé

Ce travail concerne l'évaluation biologique de deux espèces appartenant à deux familles : *Ammoides atlantica* de la famille **Apiaceae**, et *Ranunculus bulbosus* de la famille **Ranunculaceae**. Après extraction des parties aériennes des deux plantes ; on a effectué des tests sur les différentes activités biologiques de ses extraits : méthanoliques, acétates d'éthyl et n-butanoliques. L'extrait n- butanolique de l'espèce *Ammoides atlantica* a montré une activité anti-inflammatoire importante. Par contre dans le test de l'activité anti bactérienne et antifongique; tous nos extraits ne seraient pas actif sur les souches : *Staphylococcus aureus* 25923 ATTC. (Gram +), *Pseudomonas aeruginosa* 27853 ATTC. (Gram -) et *Escherichia coli* 25922 ATTC. (Gram -), *Trichloro cutanum* et *Candi allicams*. Lors de la réalisation du test sur l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de l'espèce *Ammoides Atlantica*, ce dernier a donné un bon pouvoir d'inhibition.

Les mots clés : *Ammoides atlantica*, Apiaceae, *Ranunculus bulbosus*, Ranunculaceae, Anti-inflammatoire, Anti-bactérienne , Antifongique, antioxydante

Summary

The present work concerns the evaluation of two species belonging to two families: *Ammoides atlantica* of the family Apiaceae and *Ranunculus bulbosus* of another family Ranunculaceae. After the extraction of the aerial parts of the two plants, we did many biological tests of its Extracts: Methanolic, Acétates d'Ethyl and butanolic. The butanolic Extract of *Ammoides atlantica* gives a very important efficacy anti-inflammatory. While all the extracts didn't present any efficacy against the types of bacteria and parasites: *Staphylococcus aureus* 25923 ATTC. (Gram +), *Pseudomonas aeruginosa* 27853 ATTC. (Gram -) et *Escherichia coli* 25922 ATTC. (Gram -), *Trichloro cutanum* et *Candi allicams*. The methanolic extract of *Ammoides atlantica* gives a important efficacy anti-oxidant.

Keys Words : *Ammoides atlantica*, Apiaceae, *Ranunculus bulbosus*, Ranunculaceae, Anti-inflammatory Bacteria ,parasites, anti-oxidant

ملخص

انصب عملنا هذا على التقييم البيولوجي لجنسين ينتميان إلى عائلتين مختلفتين هما: *Ammoides atlantica* الذي ينتمي إلى العائلة Apiaceae و *Ranunculus bulbosus* الذي ينتمي إلى العائلة Ranunculaceae. بعد عملية الاستخلاص انطلاقا من الأجزاء الهوائية للنباتين قمنا بإجراء عدة اختبارات بيولوجية على مستخلصات : الميثانول، الأسيئات الإيثيلي والبتانول. المستخلص البوتانولي للنبته *Ammoides atlantica* أعطى فعالية مهمة ضد الالتهابات. غير أن كل المستخلصات التي تم تجريبها لم تبين أية فعالية ضد أنواع البكتيريا والطفيليات *Staphylococcus aureus* 25923 ATTC. (Gram +), *Pseudomonas aeruginosa* 27853 ATTC. (Gram -) et *Escherichia coli* 25922 ATTC. (Gram -). *Trichloro cutanum* et *Candi allicams*. المستخلص الميثانولي للنبته *Ammoides atlantica* أعطى فعالية ضد الأكسدة.

الكلمات المفتاحية: *Ammoides atlantica*, Apiaceae , *Ranunculus bulbosus*, Ranunculaceae , فعالية مهمة ضد الالتهابات ,أية فعالية ضد أنواع البكتيريا والطفيليات , فعالية ضد الأكسدة.