

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun –Tiaret-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière : "Sciences biologiques"

Spécialité : "Infectiologie"

Présenté et soutenu publiquement par

- M^{lle}. SAOUAG Hadjira
- M^{lle}. SALHI Fatma.
- M^{lle}. NACEF Amina.

Thème

Analyse du pouvoir antibactérien des extraits aqueux des fruits de *Zizyphus lotus L. Desf.* vis-à-vis des bactéries pathogènes humaines

Membres de jury :

Grade

Faculté

- | | | |
|---|----------|--------------------|
| – Présidente : M ^{me} . MOKHTARI Sara | «M.A.A» | Faculté SNV-Tiaret |
| – promotrice : M ^{lle} . BAROUAGUI Soria | « M.A.A» | Faculté SNV-Tiaret |
| – Co-promotrice : M ^{me} . DAHLIA Fatima | « M.A.A» | Faculté SNV-Tiaret |
| – Examineur : Mr. RAHMOUNE Bilal | «M.A.B » | Faculté SNV-Tiaret |

Année universitaire : 2017 - 2108

Dédicaces

Je dédie ce travail aux êtres les plus chers qui sont mes parents.

Ma mère pour son affection, sa patience, sa compréhension, son écoute,

Pour sa prière et son soutien.

Mon père pour être mon plus haut exemple de persévérance pour aller

toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras.

A mes chères frères Mohamed et Lokman que je lui souhaite du succès

et de la bonne vie.

A ma sœur Malak

A tous mes collègues de promotion 2017/2018 de MasterII« Infectiologie »

A tous les membres du laboratoire d'EPSP de Mahdia

A toute mes collègues et mes amies.

Et à toute autre personne que j'ai involontairement oublié de citer.

Hadjira

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour,
leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A ma grande mère,

A mes chères sœurs Imane , om elkhir pour leur encouragements permanents,
et leur soutiens morales,

A mes chers frères, youcef , Abd-Elrahman pour leur appui et leur
encouragement,

A mes amis proche Abdelhamid,Hanan

A tous mes collègues de promotion 2017/2018 de MasterII« Infectiologie »

A toute mes collègues et mes amies.

Et à toute autre personne que j'ai involontairement oublier de citer.

Fatma

Dédicaces

A mes très chers parents source de mon bonheur,

Mon père, et ma mère, en témoignage de ma reconnaissance envers le soutien, les sacrifices et tous les efforts qu'ils ont fait pour mon éducation ainsi que ma formation, qui m'ont toujours aidé et guidé vers le chemin de la réussite.

A mes chères sœurs fatima , manel

A mes chères frères Khaled, Abd elkarim, Nourdine et Madjid.

A toutes ma famille NACEF et particulièrement à ma chère amie Rafika pour leur disponibilité et soutien dans les moments de pure bonheur et de pure tristesse.

A mes amis et toutes mes proches.

Amina



Remerciements

Nous remercions ALLAH « الله » le tout puissant, de nous avoir donné le courage et la patience pour réaliser ce modeste travail qui a été réalisé au sein des Laboratoires de biochimie et microbiologie et physiologie végétal de l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

Nos profonds remerciements et sincère gratitude s'adressent à notre encadreur Melle. BAROUAGUI Soria, pour ses conseils, ses encouragements, sa patience sa compétence et sa gentillesse qui nous ont permis de bien mener ce travail. Le suivi et l'orientation dont nous avons pu bénéficier.

Nous tenons à exprimer également nos profondes reconnaissances à notre Co-encadreur : Mme. DAHLIA Fatima pour ses conseils, sa disponibilité, son respect, sa confiance, son aide scientifique. Un grand merci pour toutes les discussions que nous avons eues ensemble ; et pour tous les encouragements et les conseils qu'elle nous a donné tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Un grand merci à Mme Mokhtari Sara, qui nous a fait l'honneur de présider notre jury, qu'elle trouve l'expression de notre profond respect.

Nos remerciements s'adresse aussi à Mr Rahmoune Bilale, d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nos remerciements vont à nombreuse personnes qui nous avons apporté leur aide tout au long de ce mémoire : ASLAFI Abdelhamid, BOUDAAS Madjid, ARAB Fatima

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à l'ensemble du personnel du laboratoire de biochimie et de microbiologie pour leur disponibilité durant la réalisation de ce travail.

Merci à Tous...

Liste des abréviations

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

ATCC : American type culture collection

C : Concentration

CM : Carré Moyen

ddl : degré de liberté

DMSO : Diméthyl sulfoxide

DO : Densité Optique

E.D : eau distillée

E.P : eau physiologie

Etc. : excitera.

F : test Fisher

Fe₂(SO₄)₃ : sulfate d'ammonium ferrique

MS: spectrométrie de masse (mass spectrometry)

p : indice de significatifs

SCE : Somme des Carrés d'écart

Tia : toxi-infection alimentaire

Tia c : toxi-infection alimentaire collective

µg : microgramme

µg ECT/mg : microgramme d'équivalent catéchine par milligramme d'extrait

µg Eq Q/mg : microgramme d'équivalent de Quercétine par milligramme d'extrait

Z : *zizyphus*

Liste des figures

Figure 01	Feuilles jeunes de <i>Zizyphus lotus</i> L.	13
Figure 02	Carte géographique représente les neufs zones d'étude.	14
Figure 03	Aire de répartition du <i>Zizyphus lotus</i> (L.) Desf. En Algérie.	15
Figure 04	Schéma du protocole expérimental.	21
Figure 05	Différentes parties du fruit du <i>Zizyphus lotus</i> .	22
Figure 06	Les différentes étapes de la préparation des extraits aqueux .	23
Figure 07	Les différentes étapes de la préparation de polyphénols.	24
Figure 08	Repiquage des bactéries.	26
Figure 09	Repiquage des bactéries.	26
Figure 10	Incubation des bactéries.	27
Figure 11	Préparation des extraits après la condensation .	27
Figure 12	Préparation de la solution bactérienne.	28
Figure 13	Variation de la teneur en polyphénols totaux entre les différents extraits aqueux des fruits de jujubier sauvage (<i>Zizyphus lotus</i>).	30
Figure 14	Variation de la teneur en flavonoïdes des extraits aqueux des fruits des différentes populations de jujubier sauvage (<i>Zizyphus lotus</i>).	32
Figure 15	Variation de la teneur en tanins condensées entre les différents extraits aqueux des fruits des populations de jujubier sauvage (<i>Zizyphus lotus</i>).	33
Figure 16	Zones d'inhibition après 18h à 24h.	34
Figure 17	Diamètres en mm des zones d'inhibition (extraits aqueux).	35
Figure 18	Les différentes étapes de la préparation de l'acide gallique.	49
Figure 19	Les différentes étapes de la préparation du milieu de culture.	50

Liste des tableaux

Tableau 01:	Matériel et appareillages utilisés	19
Tableau 02:	Les coordonnées géographiques des stations d'échantillonnage	20
Tableau 03:	Analyse de variance de la teneur en polyphénol	30
Tableau 04:	Analyse de variance de teneur en flavonoïdes	31
Tableau 05:	Analyse de variance de teneur en tanins condensées	32
Tableau 06:	Analyse de variance de teneur en tanins condensées	36

Table des matières

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des tableaux.....	III
Table des matières.....	IV
INTRODUCTION.....	V

Synthèse bibliographique

Chapitre I. Les Bactéries pathogènes opportunistes

I- Le monde microbien.....	5
I-1- place des microorganismes dans le monde vivant.....	5
I-2-Généralité sur les bactéries.....	5
I-3-classification et nomenclature bactérienne.....	6
I-4-Relation hôte micro-organisme.....	6
A -Neutralisme ou saprophytisme.....	7
B - Mutualisme ou symbiose.....	7
C- Commensalisme.....	7
D - Protocoopération.....	8
E-Compétition.....	8
F- Prédation et parasitisme.....	8
I. 5- Moyen de lutte contre les bactéries pathogènes.....	8
I.6- Choix d' <i>Escherichia coli</i> et <i>staphylocoque</i>	9
I.6.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	9
I.6.2. <i>Escherichia coli</i>	10

Chapitre II. Généralités sur le *Zizyphus lotus*

II .Le jujubier sauvage (<i>Zizyphus lotus</i> L. Desf.).....	12
II-1-Description botanique.....	12
II-2- caractéristique de <i>Zizyphus lotus</i>	12
II-3 Classification botanique.....	13
II-4-Répartition géographique.....	13
II.4.1.Dans le monde.....	13
II.4.2.En Algérie.....	14
II-5-Composition biochimique.....	15
II.5.1 .Métabolites primaires.....	15
II.5.2. Métabolites secondaires.....	15
II.5.2.1. Les polyphénols.....	15
II.5.2.2. Les flavonoïdes.....	16
II.5.2.3. les tanins.....	16
II-6-utilisation traditionnelle et thérapeutiques du <i>Zizyphus lotus</i>	16

Chapitre 3. Matériels et méthodes

III.1 Objectifs du travail.....	18
III.2 Lieu et période d'étude.....	18
III.3. Matériels et produits chimiques utilisés.....	19
III.4 Matériel biologique.....	19
III.5. Matériel végétal.....	20
III.6.zones études.....	20
III.7 étude expérimentale.....	22
III.8. Préparation des extraits.....	22
III.8.1 Préparation des extraits aqueux à partir des pulpes.....	22
III.8.2 Détermination des propriétés biochimiques.....	23
A.dosage des polyphénols totaux	23
B. dosage des flavonoïdes.....	24
C. Dosage des Tanins condensées: proanthocyanidines.....	25
III.10 Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits.....	25
aqueux de <i>zizyphus lotus</i>	

A. Milieu de culture utilisé.....	25
B.Préparation des pré-cultures (Repiquage).....	25
C. L mise en culture	26
Préparation de l'extrait après la condensation	27
III.11 Effet des extraits aqueux de zizyphus lotus L sur les germes pathogènes.....	27
B. Préparation des disques.....	27
C. Test d'activité antibactérienne.....	28
Lecture des résultats.....	28
Analyse statistique	28

Chapitre 4 : résultats et discussion

IV.1. La teneur en polyphénols totaux.....	30
IV.2. Teneur en flavonoïdes.....	31
IV.3.Teneur en tanins condensées.....	32
IV.4 Test antibactérien.....	34
Discussion Générale.....	38
Conclusion.....	41
Références.....	44
Annexes.....	49
Résumé	

Introduction

Introduction

Les bactéries sont des micro-organismes que l'on trouve à peu près partout, ils sont parfois bénéfiques et parfois nocifs, surtout ils occupent une grande partie du corps humain (la flore bactérienne) (**Singleton ; 2004**).

Ils sont pathogènes pour l'homme comme (*Escherichia Coli, Staphylococcus aureus ...*) et aussi pour le végétale, ces bactéries sont des bactéries opportunistes humains qui devient pathogènes lorsque des conditions particulières se trouvent réalisées (sujets immunodéprimés ...) . Et ils peuvent douées d'un pouvoir agressif chez l'hôte, entraînant chez celui-ci une maladie infectieuse (**Boulahbal ; 1986**).

Pour combattre ces bactéries nous utilisons des médicaments surtout les antibiotiques ; mais ces derniers peuvent avoir des effets secondaires indésirables sur la santé. Ce qui conduit à la recherche de remèdes naturels ne représentant pas ces effets.

La médecine traditionnelle ; connue sous le nom phytothérapie (vient du mot grec « phuton » plante et « thérapie » : traitement) (**Carillon ; 2000**), est basée sur l'utilisation des plantes médicinales, qui représente une source végétale riche en métabolites secondaires bioactives qui ont des intérêts multiples. Parmi ces composés en trouve les polyphénols qui ont un pouvoir d'activité antimicrobienne.

Parmi ces plantes médicinales, on trouve le *Zizyphus lotus* ; connu sous le nom de jujubier sauvage (SEDRA) (**Benammar ; 2010**), ce dernier est cité dans plusieurs histoires légendaires et évoqués dans le Coran, est considéré par les musulmans comme arbre sacré ou arbre du paradis (**Ghedira ; 2013**).

قال الله تعالى "عِنْدَ سِدْرَةِ الْمُنْتَهَىٰ عِنْدَهَا جَنَّةُ الْمَأْوَىٰ إِذْ يَغْشَى السِّدْرَةَ مَا يَغْشَىٰ(16)" (El Nadjm 14-16)
و قال أيضا "وَأَصْحَابُ الْيَمِينِ مَا أَصْحَابُ الْيَمِينِ. فِي سِدْرٍ مَّخْضُودٍ. وَطَلْحٍ مَّنضُودٍ. وَظِلِّ مَّمْدُودٍ" (El Wakiaa 27-30)
ولقوله تعالى " لَقَدْ كَانَ لِسَبَأٍ فِي مَسْكِنِهِمْ آيَةٌ جَنَّتَانِ عَن يَمِينٍ وَشِمَالٍ كُلُوا مِن رِّزْقِ رَبِّكُمْ وَاشْكُرُوا لَهُ بَلْدَةٌ طَيِّبَةٌ وَرَبٌّ غَفُورٌ.
فَأَعْرَضُوا فَأَرْسَلْنَا عَلَيْهِمْ سَيْلَ الْعَرِمِ وَبَدَّلْنَاهُم بِجَنَّتَيْهِمْ جَنَّتَيْنِ ذَوَاتِي أُكُلٍ خَمْطٍ وَأَثَلٍ وَشَيْءٍ مِّن سِدْرٍ قَلِيلٍ" (Saba'e 15-16)

Cet espèce utilisée principalement dans le traitement de certaines maladies comme les troubles digestives, la faiblesse, les affections du foie, l'obésité, les troubles urinaires, le diabète, les infections cutanées, la fièvre, la diarrhée et l'insomnie (Souleymane ;2016 , Abu-Zarga ;1995).

Cet arbuste est répandu dans toute l'Algérie sauf le Tell Algéro-constantinois (Quezel et Santa ; 1962), et il occupe plusieurs zones allant du Nord au Sud et de l'Est à l'Ouest. Cette large répartition est caractérisée par des variations entre population. Puisque le génotype a une capacité de produire différents phénotypes lorsqu'il est exposé à différentes conditions environnementales. (Souleymane ; 2016, Abu-Zarga ; 1995).

Objectifs du travail :

Les objectifs de notre étude sont :

- Vérifier le pouvoir réducteur des extraits aqueux des fruits de jujubier sauvage vis-à-vis deux bactéries *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.
- Evaluer l'effet de l'environnement sur le métabolite secondaire pour la plante de *Zizyphus lotus* travers l'étude comparative de l'activité antibactérienne

Notre travail est constitué de deux parties :

- La 1ère partie, c'est une synthèse bibliographique comportant deux chapitres, le premier chapitre sur la généralité de bactéries opportunistes pathogènes humaines et un second chapitre sur le *Zizyphus lotus*.
- La 2^{ème} partie divisée aussi en deux chapitres, un premier sur les différents matériels utilisés et méthodologie du travail, et le second représente les résultats de l'étude et la discussion.

Une conclusion générale est donnée à la fin du présent travail en tirant les principaux résultats obtenus. Ces derniers pourraient stimuler d'autres travaux de recherche dans le sens de servir et de valoriser le patrimoine national dans le domaine des plantes médicinales.

Synthèse bibliographique

Chapitre I

**Les Bactéries pathogènes
opportunistes humains**

❖ LE MONDE MICROBIEN

I.1- Place des microorganismes dans le monde vivant

Les microbes ne sont ni des animaux ni des végétaux, ils appartiennent à un troisième règne créé par Haeckel : celui des protistes. Auparavant on rattachait volontiers les protozoaires au règne animal et les algues, les champignons ainsi que les bactéries au règne végétal.

Les protistes sont des êtres généralement unicellulaires et se subdivisent en deux sous-groupes :

-Les protistes supérieurs ou « eucaryotes »

-Les protistes inférieurs ou « procaryotes »

Ce groupe contient les bactéries et les cyanophycées (algues bleues) (**Boulaïbal ; 1986**).

La place des bactéries dans le monde vivant a beaucoup varié. Elles ont été d'abord réunies avec les protozoaires mais l'absence de structures membranaires internes les a fait individualiser, ensuite sous le nom de procaryotes, par opposition aux eucaryotes pourvus de structures membranaires internes. Dans toutes ces définitions, les bactéries étaient caractérisées, non en elles-mêmes, mais par opposition aux autres classes d'organismes vivants. (**Flandrois et al ; 1997**).

I.2- Généralité sur les bactéries

Les bactéries sont des organismes minuscules que l'on trouve à peu près partout surtout présent dans les blessures (**Singleton ; 2004**). Elles sont des organismes unicellulaires relativement simples dont le matériel génétique, représenté par un seul chromosome circulaire, n'est pas contenu dans une enveloppe nucléaire, C'est pourquoi ces cellules sont dites procaryotes (**Tortora et al ; 2001**). De diamètre de 0,2 à 6 µm et de longueurs variables pouvant atteindre 200 µm (**Suty ; 2010**).

La bactérie est une cellule vivante constituée des éléments obligatoires et des éléments facultatifs (la capsule, organes locomoteurs, les pili, les plasmides (**Boulaïbal ; 1986**), elle est entourée d'une enveloppe rigide, la paroi, qui entoure elle-même une enveloppe plus mince et plus fragile, la membrane cytoplasmique ou membrane plasmique qui est une structure existant aussi dans la cellule végétale et dans la cellule animale. la membrane plasmique est le lieu d'échange incessant entre le milieu extracellulaire et le milieu intracellulaire (cytoplasme + organismes) (**Suty ; 2010**).

La morphologie des bactéries unicellulaires est très variable. On peut distinguer 3 formes. Les plus courantes sont la forme sphérique, cylindrique dite en bâtonnet et la forme spiralée (**Larpent et Gourgaud ; 1985**). Elle peut former des paires, des chaînes, des amas. (**Tortora et al ; 2001**).

I.3-Classification et nomenclature bactériennes

En 1978, Carl Woese proposa un système de classification fondé sur l'organisation cellulaire des êtres vivants. Il regroupa tous les organismes en trois domaines de la façon suivante : Bactéries, Archéobactéries, Eucaryotes. (**Tortora et al ; 2001**).

Les bactéries peuvent se différencier, par exemple, par leur taille ou leur structure, par leurs activités chimiques, par les éléments nutritifs qui leur sont nécessaires, par la forme de l'énergie qu'elles utilisent, par les conditions physiques dans lesquelles elles peuvent croître, par leurs réactions à certains colorants. (**Singleton; 2004**).

- La nomenclature c'est l'appellation des unités caractérisées et décrites dans la classification. (**Michael et al; 1981**)
- Identification c'est l'emploi des critères utilisés pour la classification et la nomenclature permet d'établir l'identité des microorganismes inconnus. (**Michael et al ; 1981**)

I.4- Relation hôte micro-organisme

L'homme présente l'hôte de plusieurs milliers d'espèces de bactérie. Les bactéries présentes ne sont pas toutes encore isolées ou identifiées, soit parce qu'elles ne sont pas pathogènes et difficiles à cultiver, soit parce que leur présence n'est même pas soupçonnée. L'individu vivant qui fait partie d'un écosystème naturel est ainsi lui-même un écosystème pour les bactéries qu'il héberge (**Patrick; 1991**).

Les relations entre les bactéries et leur hôte ne sont qu'un cas particulier des relations entre être vivants (**Patrick; 1991**), en fonction des diverses relations biologiques qui peuvent s'établir entre ces bactéries et leur hôte, on distingue divers groupes des interactions. (**Boulhabal ; 1986**).

A -Neutralisme ou saprophytisme

Neutralisme est une forme de relation dans laquelle, aucune espèce n'affecte l'autre
(Patrick ; 1991)

La plupart des bactéries mènent dans la nature une vie entièrement indépendante d'un autre organisme vivant .Elles vivent sur les déchets dont elles assurent la destruction en y puisant leur énergie et en y effectuant leurs synthèses .Elles sont appelées saprophytes.
(Boulhabal; 1986).

B - Mutualisme ou symbiose

La symbiose est une mode de relation dans lequel bactérie et hôte profitent tous deux leur association. **(Boulhabal; 1986)**. La bactérie et son hôte ne tirent aucun bénéfice de la relation et c'est sans doute ce qui s'observe dans le cas de bactérie cutanée, ou de l'intestin pour lesquelles n'ont pas mises en évidence d'interactions positives ou négatives avec l'homme ; c'est-à-dire les deux espèces bénéficient de la relation qui est indispensable, **(Patrick et al ; 1991)**.

Le mutualisme est une forme de symbiose qui procure des avantages aux deux :

Organismes associés. Par exemple, le gros intestin contient des bactéries, telles que, E.C qui synthétisent la vitamine K et certains vitamines du complexe B qui passent dans le sang circulant, pour les distribues aux cellules qui en ont besoins. En échange, le gros intestin fournit aux bactéries les nutriments essentiels à leur survie **(Tortora et al ; 2001)**, (Le mutualisme c'est-à-dire les deux espèces bénéficient de la relation qui est indispensable), **(Patrick ; 1991)**

C - Commensalisme

Dans ce type de relation il y a d'apparence déséquilibre (en terme de bénéfiques) **(Patrick ; 1991)**. C'est - à -dire l'un des organismes tirent avantages de l'association sans nuire au second ,c'est -à-dire sans provoquer des maladies chez l'hôte ;il se développe en utilisations des métabolismes cellulaires de l'hôte **(Tortora ; 2001)**,Ces microorganismes vivants à la surface ou dans les cavités naturelles d'un hôte, sans nuire à celui-ci.il existe des commensaux de la peau et des commensaux des muqueuses. (Exemple : staphylocoque épidermoïdes de la peau, streptocoques non groupables de la cavité buccale). **(Boulhabal ; 1986)**.

D - Protocoopération

Protocoopération est une forme de relation, signifiée que les deux espèces Bénéficient de la relation non indispensable (**Patrick ; 1991**).

E -Compétition

Compétition est un type de relation dans laquelle les deux espèces sont limitées à cause d'une dépendance commune à un facteur limitant. (**Patrick ; 1991**).

F – Prédation et parasitisme

Certaines bactéries en particulier les bactéries d'intérêt médical, trouvent des conditions favorables à leur croissance à la surface ou à l'intérieur d'un autre organisme vivant. Elles sont appelées bactéries « parasites ». (**Boulhabal ; 1986**)

La prédation est la relation correspondant essentiellement aux bactéries pathogènes qui se développent au détriment de l'hôte humain (**Patrick; 1991**). Ces bactéries pathogènes sont des bactéries qui douées un pouvoir agressif chez l'hôte, entraînant chez celui-ci une maladie infectieuse qui peut se traduire par des manifestations cliniques (**Boulhabal ; 1986**).

Les bactéries peuvent être occasionnelles prédatrices, on nomme aussi ces bactéries « bactéries pathogènes opportunistes » (**Patrick; 1991**). Ces microorganismes pathogènes occasionnels ou « opportunistes » peuvent habituellement déterminer une maladie lorsque des conditions particulières se trouvent réalisées (sujets immunodéprimés, antibiothérapie.....). A titre d'exemple *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* peuvent être douées d'un pouvoir agressif chez l'hôte, entraînant une maladie infectieuse. (**Boulhabal; 1986**).

Ces interactions Homme – bactérie sont complexes mais elles doivent être replacées dans un cadre encore plus général :l'homme a aussi domestiqué des bactéries qui deviennent des outils des biotechnologies (panification , vinification ,production des enzymes ou des vitamines , etc.) . (**Patrick ; 1991**).

I.5- Moyen de lutte contre les bactéries pathogènes

Quand les défenses naturelles du corps ne peuvent empêcher les bactéries , on a souvent recours à l'antibiothérapie qui utilise des médicaments antimicrobiens (les antibiotique) ,parfois ces antibiotiques provoque des effets indésirables qu' ils sont susceptibles d' entrainer d'endommagement des différentes organes comme le foie et les reins ,ou la détérioration

de l'ouïe . À l'égard des bactéries acquièrent une résistance aux mécanismes d'action de ces antibiotiques, cette résistance est désormais un problème aiguë (**Tortora ; 2001**) .

Cette situation de crise requiert à la fois des campagnes de sensibilisation intensives promouvant l'utilisation saine des antibiotiques et un redoublement des efforts en vue de créer de nouvelles substances d'origine animale ou végétale (plante médicinale) (**Tortora ; 2001**) Ces derniers sont utilisés dans la médecine alternative.

Parmi les plantes médicinales les plus largement utilisées en médecine traditionnelles, le *Zizyphus lotus* qui est connu sous le nom de jujubier sauvage (**Benammar ;2010**) , cette plante contient des composés bioactifs naturels qui ont des activités antibactériennes sur différentes bactéries .

I.6- Choix de E. coli et staphylocoque

Les souches microbiennes utilisées dans cette étude c'est *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Ces deux bactéries sont choisies pour leur intérêt médical et environnemental

- Staphylococcus aureus :

Staphylococcus aureus, espèce de staphylocoque à coagulase positive, est fréquemment rencontrée chez l'homme, elle est d'origine humaine, animale, environnementale ou non spécifique. Elle comporte deux sous-espèces : *Staphylococcus aureus* subsp .*aureus* et *S. aureus* subsp.

Pouvoir pathogène :

Staphylococcus aureus est une bactérie pathogène :

- par virulence ; elle fabrique des protéines de surface et des enzymes dont la coagulase libre et la thermo nucléase recherchées en routine.
- par toxinogénèse ; elle produit diverses toxines , dont des entérotoxines de différents types antigéniques (A à F),provoquant une intoxication alimentaire ou toxi-infection alimentaire (Tia) .Des types antigéniques G à M ,d'incidence inconnue ,ont été récemment décrits . Le type A est le plus souvent rencontré dans les toxi-infections alimentaires collectives (Tiac) ; il peut être seul ou associé à d'autres types. (**Camille ; 2012**).

***Escherichia coli* :**

Escherichia coli ou colibacille est l'hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud ; c'est un coliforme fécal, germe indicateur de contamination fécale dans les eaux et les aliments.

Les souches d'*Escherichia coli* responsables d'infections chez l'homme sont différentes de celles qui constituent l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie des adultes et des enfants. **(Camille ; 2012).**

Chapitre 2.

Généralités sur le *Zizyphus lotus*

II .Le jujubier sauvage (*Zizyphus lotus* L. Desf.)

II.1 Description botanique du *Zizyphus lotus*

Le *Zizyphus lotus*, appartenant à la famille des Rhamnacées, cette famille comprend environ 135-170 espèces de zizyphus, est un arbuste à feuilles caduques qui appartient dans les régions arides et semi-arides du globe (Souleymane; 2016). Il est connu en Algérie sous le nom de « SEDRA » (Saadoudi et al ; 2017). Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle algérienne pour ses activités antidiabétiques, sédatives, analgésiques, anti-inflammatoires et hypoglycémiques (Benameur et al ; 2010) Il présente plusieurs intérêts dans les domaines de la nutrition, de la cosmétique et de la médecine « antispasmodiques » (Rais et al ; 2017).



Figure01. Feuilles jeunes de *Zizyphus lotus* L. (photo originale 2018).

II.2. Caractéristique morphologiques de *Zizyphus lotus* L. :

Le jujubier (*Zizyphus lotus* L.) est un arbuste épineux, qui forme des touffes de quelques mètres de diamètre pouvant atteindre 2 m de haut. Ses feuilles caduques (Benameur et al ; 2010), elles sont petites (15×10mm), courtement pétiolées, glabres, alternées et ovales à marges entières. Chaque feuille porte à sa base deux stipules transformées en épines inégales et vulnérables (Bsaissi et Bouhache ; 2002) .les fruits sont des drupes de la dimension d'un pois ou d'une olive (Gast et Chaker ; 2004).D'abord vert puis jaune, il devient rouge foncé

quand ils sont mûrs en octobre. L'endocarpe mucilagineux, appelé ``Nbag``, sucré et comestible. Les fleurs sont jaunes, pentamères et groupées en inflorescence cymeuse . (Bsaissi et Bouhache ; 2002). Des arbres totalisant entre 135 et 170 espèces généralement armées d'épines stipulaires inégales (Amara et Benabdeli ; 2017) Ces caractéristiques font de *Zizyphus lotus* un arbuste de valeur universelle aux surfaces écologiques arides et semi-aride (Zouaoui et al ; 2013)

II.3. Classification botanique du *Zizyphus lotus*

Règne : Végétal.

Embranchement : *Spermatophytes*.

Sous embranchement : *Angiospermes*.

Classe : *Dicotylédone*.

Ordre : *Celastrales*.

Famille : *Rhamnacées*.

Genre : *Zizyphus*.

Espèce : *Zizyphus lotus* L.(Quezel et Santa ;1962).

II.4. Répartition géographique

II.4.1 Dans le monde

Zizyphus lotus (L.) est une espèce méditerranéenne avec une faible pénétration dans le Sahara septentrional : Maroc, Algérie, Tunisie, Libye. Elle réapparaît ensuite au Yémen, dans l'île de Socotra, au moyen orient : en Palestine, en Syrie, en Turquie, et à chypre. On la retrouve enfin en Grèce, en Espagne méridionale.

II.4.2 En Algérie

C'est une espèce méditerranéenne et subtropicale très répandue dans les régions arides d'Algérie du Sud : Ain Oussera et Messad (Wilaya de Djelfa) à climat aride et Taghit (Wilaya de Bechar) au climat saharien La plante est très commune dans toute l'Algérie sauf dans le tell algéro-constantinois (Soussen et al ; 2010). On récolte le fruit en automne (Larousse ; 2001). Les fruits sont cueillis parfaitement murs en septembre et octobre. C'est la période au cours de laquelle ils se détachent facilement.

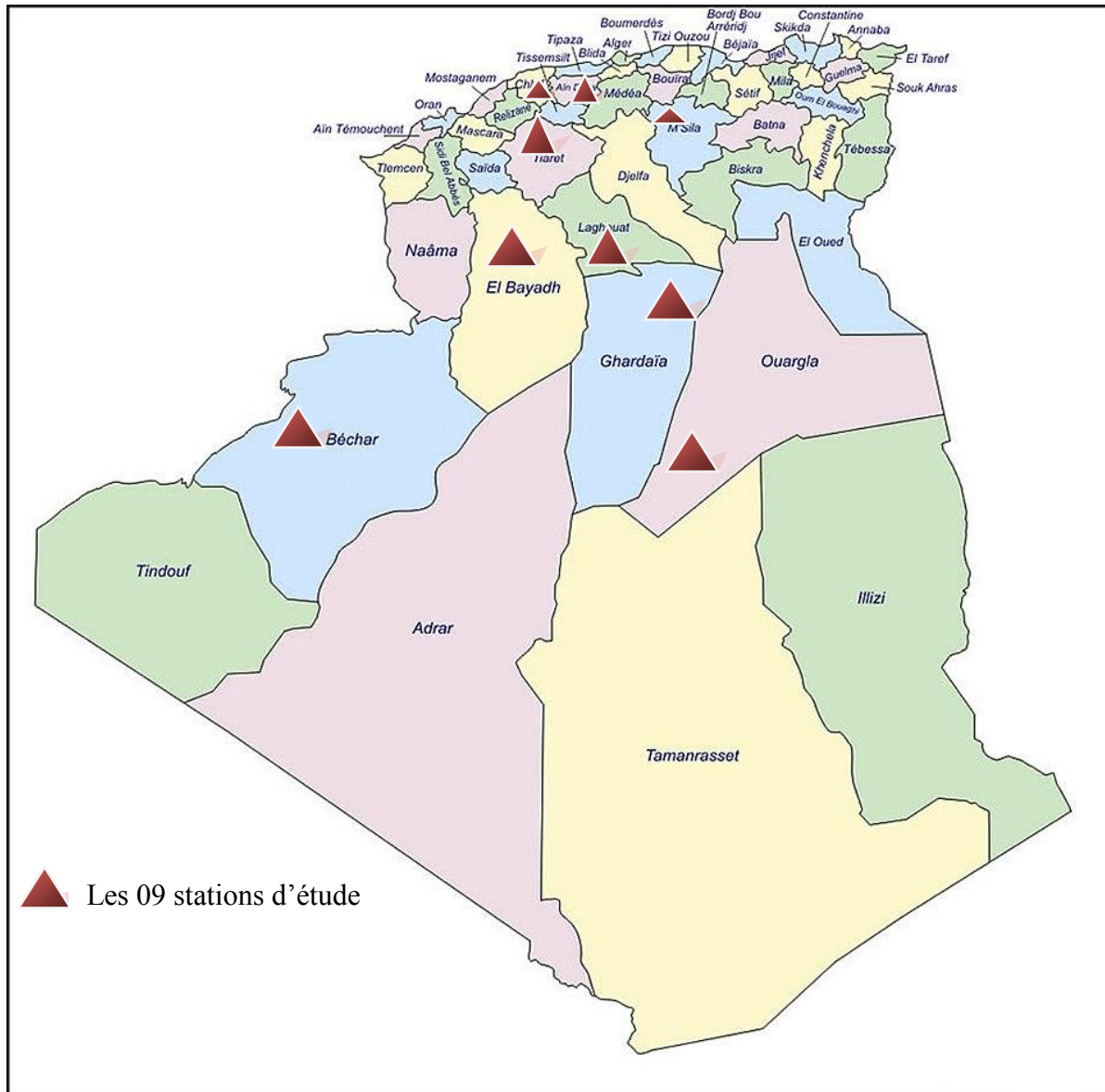


Figure 2 : Carte géographique représente les neuf zones d'étude (Google Earth)

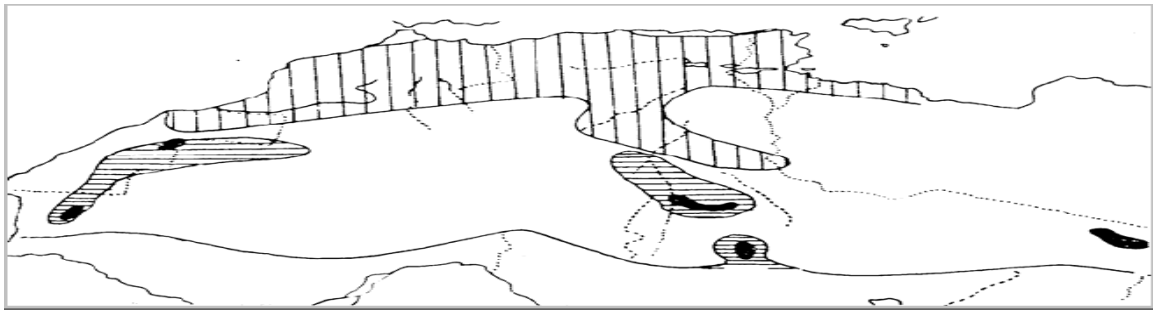


Figure 3. Aire de répartition du *Zizyphus lotus* (L.) Desf. En Algérie (Quezel et Santa ; 1962)

II.5. Composition biochimique du *Zizyphus lotus*

II.5.1 .Métabolites primaires :

Les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites primaires qui sont indispensables à leur existence. Ceux-ci englobent des protéines (14,22g/100g), des graisses (29,73g /100g), des glucides (4720 mg/100g) (Souleymane ; 2016).) Qui représentent les premières molécules nécessaires pour la vie de la plante de jujubier sauvage.

II.5.2. Métabolites secondaires :

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits bioactives. Les plantes synthétisent une gamme extraordinaire d'autres composés appelés métabolites secondaires dont la fonction est l'interaction avec biosphère à l'hôte Dans les fruits, les composés phénoliques totaux sont les principaux composés, de 297 à 4078,2 mg/100g de matière sèche ; en outre, les flavonoïdes et les tanins sont présents en quantités modérées, respectivement de 122 et 33mg/100g (Souleymane ; 2016).

II.5.2.1. Les polyphénols :

Les polyphénols constituent une famille de molécules largement présentent dans le règne végétal (Benameur et al ; 2010. Alain et al ; 2011). Ils sont caractérisés comme l'indique le nom, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes généralement à masse moléculaire élevée. Ces composés sont le produit du métabolisme secondaire des plantes (Alain et al ; 2011).

II.5.2.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des produits largement distribués dans le règne végétal et sont couramment consommés quotidiennement sous forme de fruits, légumes et boissons (Ghedira ; 2005). Ils désignent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. (Marfak ; 2003). Ces molécules sont considérées comme des pigments quasiment universels des végétaux ; ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. (Bruneton ; 1999).

Les formes hétérosidiques des flavonoïdes hydrosolubles s'accumulent dans les Vacuoles, et selon les espèces se concentrent dans l'épiderme des feuilles, ou se Répartissent entre l'épiderme et le mésophile. Dans le cas des fleurs, ils sont concentrés Dans les cellules épidermiques (Bruneton ; 1999)

II.5.2.3. Les tanins

Les tanins sont des métabolites secondaires polyphénoliques. Leur structure chimique leur confère une capacité très développée de se fixer sur des molécules telles que les alcaloïdes, la gélatine, les polysaccharides, et essentiellement les protéines (Zimmer et Cordesse ; 1996).

II.6. utilisation traditionnelle et thérapeutique du *Zizyphus lotus* :

Jujubier sauvage se trouve dans la plupart des régions de l'Algérie où il est utilisé en médecine traditionnelle dans les affections inflammatoires, les infections urinaires, les troubles digestifs, anti-diarrhéique, hypotenseur et anti-ulcère (Bnouhamet al ; 2002)

Cet espèce est utilisée aussi dans le traitement de certaines maladies comme la faiblesse, les affections du foie, l'obésité, le diabète (comme hypoglycémiant), les infections cutanées, la fièvre, et l'insomnie (Souleymane ; 2016).

Les extraits des saponosides et les flavonoides des feuilles possèdent des activités anti-inflammatoire et analgésique (Borgi et al ; 2008) .

Tous les parties de l'arbuste : les feuilles, l'écorce et les racines possèdent une importante activité antiulcérogénique attribuée à la présence des tanins et des flavonoïdes connus par leur effets gastroprotecteur (Borgi et al ; 2007).

Chapitre 3

Matériels et méthodes

III.1 Objectifs du travail

Les objectifs de notre étude sont :

- Vérifier le pouvoir réducteur des extraits aqueux des fruits de jujubier sauvage vis-à-vis deux bactéries *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.
- Evaluer l'effet de l'environnement sur le métabolite secondaire pour la plante de *Zizyphus lotus* à travers l'étude comparative de l'activité antibactérienne

III.2 Lieu et période d'étude

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de biochimie et microbiologie et physiologie végétal de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Ibn Khaldoun-Tiaret, durant une période de 3 mois allant du 12 février jusqu'à 10 Mai 2018.

Notre travail se divise en quatre parties :

- La première partie consiste à préparer des extraits aqueux à partir des pulpes des fruits de neufs populations de *Zizyphus lotus* pour étudier leurs pouvoirs antibactériens.
- La deuxième partie concerne la préparation de milieu de culture et repiquage des différentes bactéries.
- La troisième partie est la préparation des disques pour test de l'activité antibactérienne avec les extraits en utilisant deux concentrations différentes.
- La quatrième partie est la détermination des dosages de polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés

III.3. Matériels et produits chimiques utilisés

Tout le matériel et produits utilisés sont réunis dans le **tableau 1**.

Tableau 1: Matériel et appareillages utilisés

Appareillages	Produit	Autres
- Vortex « TECHNO KARTELL »	- Mueller Hinton	- Bec Bunsen
- Incubateur « MEMMERT 854 SCHWABACH W-GERMANY »	- NACL	- Barreau magnétique
- Autoclave « WOLF WESKZEUG-VORRICHLUNGSUN 7340 GEISLINGEN »	- Eau distillé stérile	- Boîtes de Pétri
- Agitateur « IKAMAG »	- Hypochlorite de sodium (Eaux de javel)	- spatule
- Bain marie « MEMMERT »	- l'eau physiologie	- Pissettes
- Balance magnétique « KERN 440-45N »	- Folin-Ciocalteu	- Portoir de tube a essais
- Four Pasteur « HERAEUS »	- carbonate de sodium	- Tubes à essai
-spectrophotometer	-acide gallique	- Flacons
	-méthanol	-Béchers
	-sulfate ferreux	- Éprouvettes graduée
	-HCL	- Pipette pasteur
		- verre de montre
		-emborgeons
		-micropipette
		-Liban fine
		-Papier wath man N°1
		-Ecouillons
		-cristallisoir
		-règle
		-mortier

III.4 Matériel biologique

➤ **Les germes bactériens utilisés :**

Les germes bactériens utilisés sont *Staphylococcus aureus* ATCC33862 et *Escherichia coli* ATCC25922.

III.5 Matériel végétal

Il est constitué des fruits du *Zizyphus lotus*, récoltés des neuf régions en Algérie (Ain Defla, Béchar, Chlef, El-Bayad, Ghardaïa, Laghouat, Msila, Média et Tiaret) durant le mois d'octobre 2017.

III.6 zones études :

Les neufs stations prospectées se trouvent dans des zones différentes et qui sont localisées dans des étages bioclimatiques différents.

Le tableau 02 résume les coordonnées géographiques des neufs zones d'étude

Tableau 02 : Les coordonnées géographiques des stations d'échantillonnage

Populations	Origine	Longitude	Latitude	Altitude
Ain Defla	Djemaa, Ouled Cheikh	2° 1' E	36° 6' N	516
Béchar	Mougheul	2° 12' O	32° 1' N	1023m
Chlef	Oued Ziad, Sobha, Boukadir	1° 27' E	36° 1' N	702m
El-Bayad	Bougtob	0° 7' E	33° 59' N	1038 m
Ghardaïa	Mtlili	3° 33' E	32° 18' N	526m
Laghouat	Oued Nogued, Kheneg	2° 59' E	33° 49' N	772m
M'sila	Maarif	4° 18' E	35° 22' N	410 m
Média	Boghar, Ksar El Bokhari	2° 42' E	35° 57' N	853m
Tiaret	Tida, Oued Lili	1° 14' E	35° 40' N	705m

➤ **Organigramme :**

La démarche expérimentale suivie est résumée dans la figure suivante :

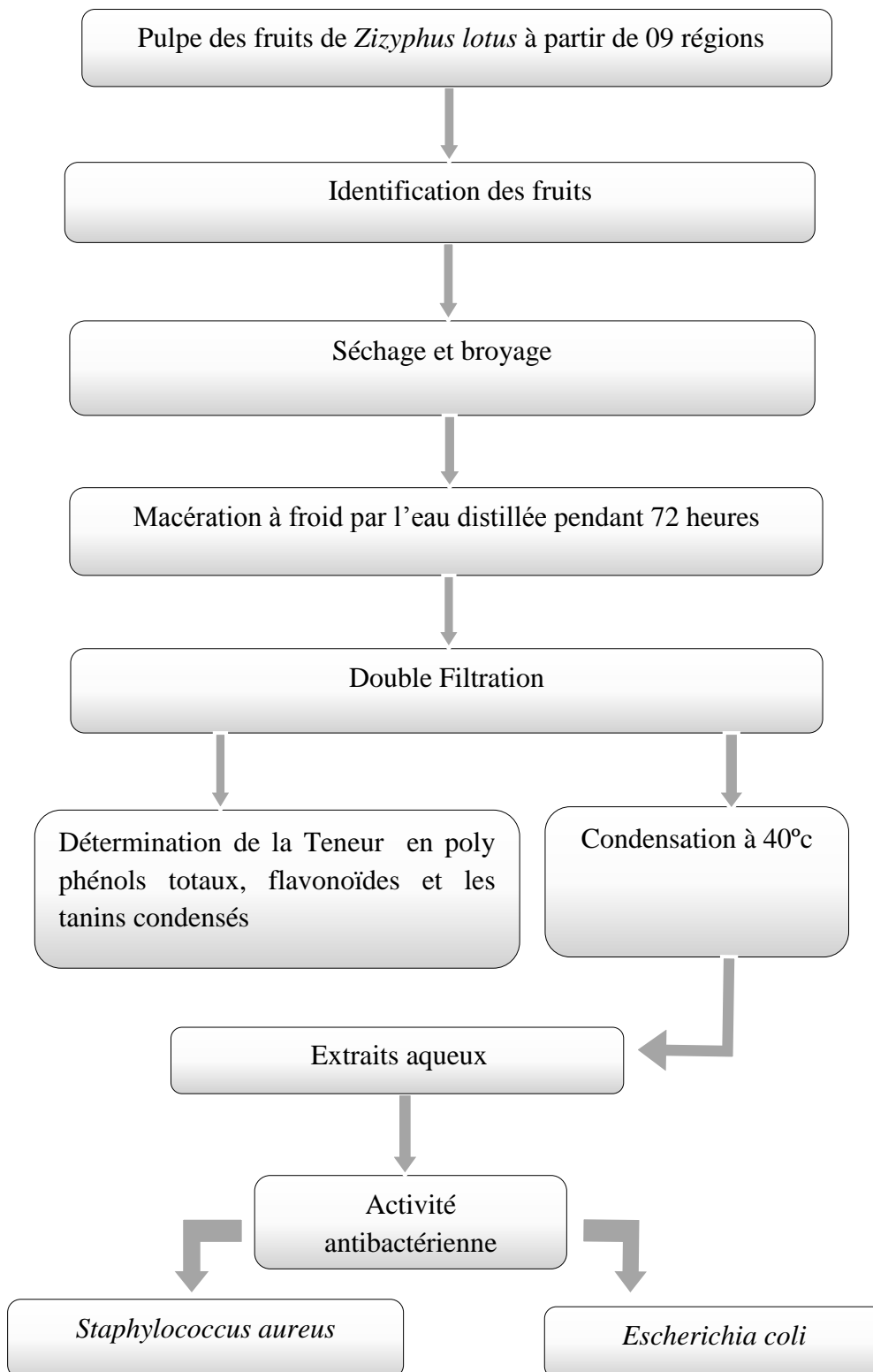


Figure 4 : Schéma du protocole expérimental

III.7 étude expérimentale

Les études ont été faites dans des conditions aseptiques, avec un matériel et dans une zone de travail stérile

III.8 Préparation des extraits

Les fruits ont été d'abord dénoyautés, ensuite séchées à 80°C pendant 48h. Après séchage, broyage à l'aide d'un mortier pour obtenir une poudre fine servant pour la préparation des extraits aqueux.

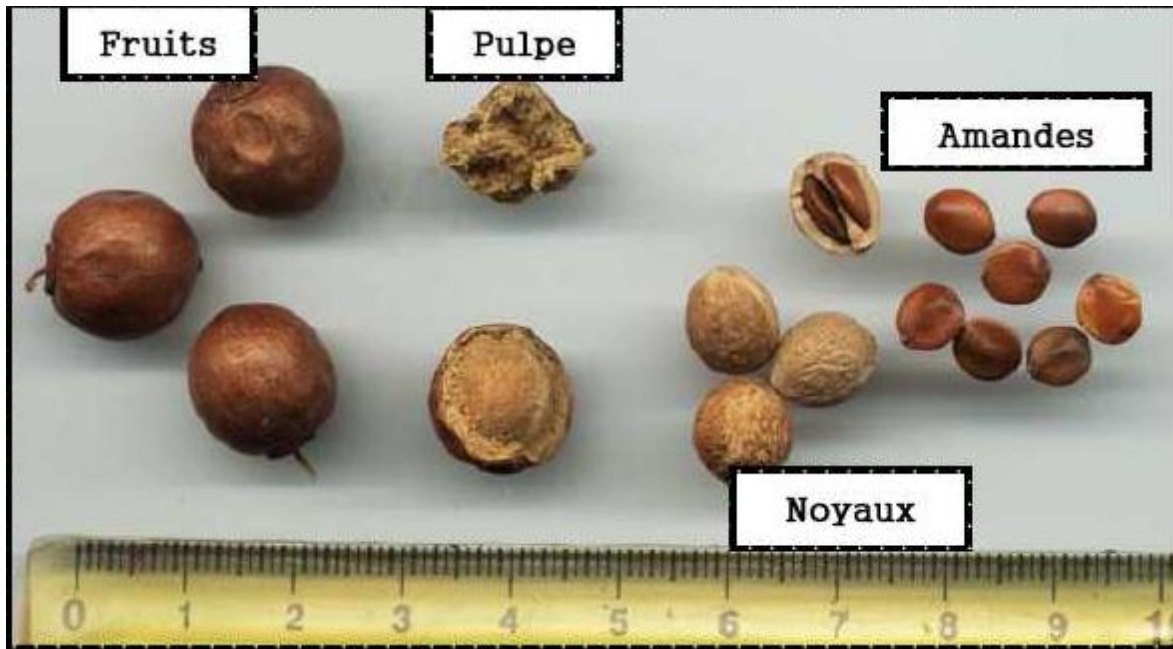


Figure 5. Différentes parties du fruit du *Zizyphus lotus*

III.8.1 Préparation des extraits aqueux à partir des pulpes

Après l'opération de broyage de pulpe pour obtenir des poudres fines. La poudre des fruits de jujubier sauvage est utilisée pour la préparation des extraits aqueux. La méthode utilisée est l'extraction aqueuse par méthode de macération décrite par **Hosseinzadeh et Younesi (2002)**. Nous avons préparé une dose de 25 g de poudre végétale de plante testée, ces dernières sont mises en suspension avec 250 ml d'eau distillée dans des flacons hermétiquement fermés et parfaitement enveloppés par du papier aluminium sous agitation horizontale à froid pour ne pas dénaturer les composants pendant 72 h pour ne pas dénaturer les composants et bien solubiliser les macromolécules. Les extraits sont ensuite filtrés à travers des bas fine puis par papier Wattman N°1, juste après une condensation à 40°C pendant plusieurs jours pour l'évaporation de l'eau distillée.



Figure 6 : Les différentes étapes de la préparation des extraits aqueux (originale 2017)

III.9 Détermination des propriétés biochimiques

A. dosage des polyphénols totaux:

➤ Principe :

Le dosage est réalisé selon la méthode de folin ciocalteu. Le réactif est formé d'acide phosphomolybdique $H_3PMo_{12}O_4$ et d'acide phosphotungstique $H_3PWO_{12}O_{40}$. Il se réduit par l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène W_8O_{23} et de molybdène Mo_8O_3 . (Ollivier et *al.*, 2004).

➤ Technique :

Une quantité de 0.5 ml de l'extrait est mélangée avec 2.5 millilitres du réactif folin ciocalteu dilué 10 fois et 1 millilitres de carbonate de sodium $NaNO_2$ à 20%. L'ensemble est incubé à la température ambiante pendant 15 minutes. Un standard de calibration a été préparé en utilisant des solutions de différentes concentrations d'acide gallique et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide de spectrophotomètre à 760 nm.



Figure 7 : Les différentes étapes de la préparation de polyphénols (originale 2018)

B. dosage des flavonoïdes :

➤ Principe :

La quantification des flavonoïdes a été effectuée selon une méthode adaptée par **Zhishen et al (1999)** avec le trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose absorbé dans la longueur d'onde à 510 nm. Le standard utilisé est la quercitrine.

➤ Technique :

Pour 1.5µl de chaque extrait on ajoute à une solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol) puis l'ensemble a été incubé à température ambiante et à l'abri de lumière, après 10min de réaction l'absorbance est mesurée à 430 nm. Les concentrations des flavonoïdes sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec la quercitrine (0-35µg/ml), et sont exprimées en microgramme d'équivalent de quercitrine par milligramme d'extrait (µg Eq Q/mg). (**Bahorun et al ; 1996**)

La formule suivante permet le calcul de la teneur en flavonoïdes :

$$T = \frac{C \cdot V}{M}$$

T: Teneur en flavonoïdes,

C : Concentration d'extrait équivalente en quercétine (mg/mL),

V : Volume de l'extrait (mL), **m** : Masse de la matière sèche (g).

C . dosage des Tanin condensées: pro anthocyanidines**➤ Principe :**

Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui est absorbé à 500nm (Schofield et al ; 2001)

➤ Technique :

Pour 250µl de chaque extrait on ajoute 2.5ml de la solution de sulfate ferreux (77 mg de sulfate d'ammonium ferrique $Fe_2(SO_4)_3$ dissous dans 500ml de (3:2n-butanol : H Cl) le mélange est incubé à 95°C dans un bain marie pendant 50min, et l'absorbance est lue à 530nm. Les concentrations des tanins condensés sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec la catéchine (0-300µg/ml), et sont exprimées en microgramme d'équivalent catéchine par milligramme d'extrait (µg E CT/mg (Dohou et al ; 2003).

III.10 Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extrais aqueux de *zizyphus lotus L.* :**➤ Milieu de culture utilisé**

Le milieu synthétique Mueller-Hinton (Annexe n° 2) a été utilisé pour le repiquage des bactéries ainsi que pour le test antibactérien.

La gélose Mueller-Hinton est le milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques. Elle peut également être additionnée de sang pour réaliser l'antibiogramme des germes fragiles.

➤ Préparation des pré-cultures(Repiquages) :

Les souches ont été préalablement identifiées aux laboratoires puis utilisées comme souches de références pour des études préliminaires de sensibilité vis-à-vis de différentes concentrations de pulpe des fruits de *zizyphus lotus* récolté à partir de neuf régions d'Algérie.

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées dans des tubes de gélose de conservation (en piqure centrale) puis incubées à 37°C. Après 24h d'incubation, ces tubes sont conservés à la T° de réfrigération (2°C).

Avant la réalisation des tests antibactériens, un repiquage est effectué sur milieu solide. Les différents germes (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) ont été repiqués par la méthode des stries, puis incubés à 37 °C pendant 24 heures afin d'obtenir des cultures jeunes qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

A partir de cette culture bactérienne fraîche, on prélève quelques colonies que l'on mélange avec l'eau physiologique stérile pour la standardisation de la charge de l'inoculum de départ par la méthode de comparaison de la densité bactérienne à celle d'un tube de référence (0.5) Mc Farland dont la charge est supposée être 10^5 ufc/ml.

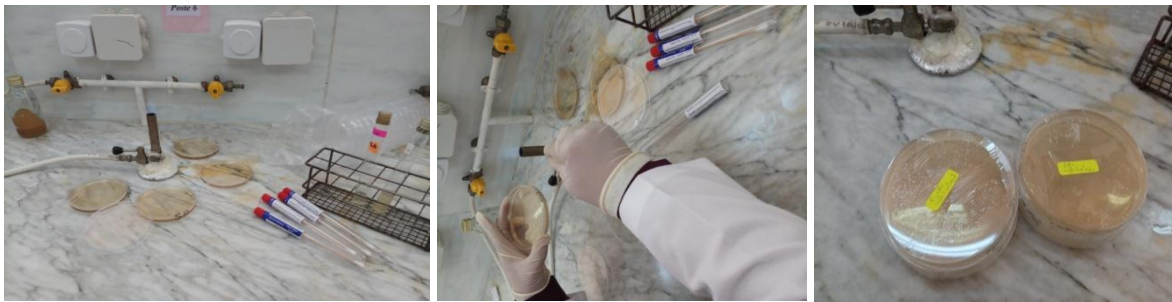


Figure 8 : Repiquage des bactéries (originale 2018)

➤ La mise en culture

Les souches bactériennes utilisées sont : *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, ces deux derniers sont des bactéries à Gram négatif et positif respectivement.

La mise en culture des bactéries a été effectuée à partir des échantillons standardisés afin d'assurer la pureté des souches bactériennes (**Figure 9**). des boîtes de pétrie stériles préalablement coulées, sontensemencées par étalement à l'aide d'un râteau stérile, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des microorganismes L'incubation a été faite dans l'étuve à 37°C pendant 24h.



Figure 9 : Repiquage des bactéries (originale 2018)



Figure 10 : Incubation des bactéries (originale 2018)

➤ **Préparation de l'extrait après la condensation :**

Deux différentes concentrations (0.05g et 0.1g) ont été préparées pour déterminer l'activité antibactérienne le premier est de 0.05g/ml et le deuxième est de 0.1g/ml



Figure 11 : Préparation des extraits après la condensation

III.11 Effet des extraits aqueux de zizyphus lotus L sur les germes pathogènes

➤ **Préparation des disques**

- Préparer les disques de papier filtre de 6nm de diamètre (wattman N°1)
- Stériliser les disques à l'autoclave, à 120°C pendant 20min

➤ Test d'activité antibactérienn

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits obtenus, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé (Choi *et al* ; 2006). Le principe de cette méthode est d'utiliser des disques de papier Whatmann de 6mm de diamètre. Les disques ont été imprégnés dans différentes concentrations des extraits aqueux, dans l'eau distillée (Un disque imbibé par l'eau distillée stérile a été employé en tant que contrôle négative), Puis déposés à la surface d'un milieu écouvillonné par une suspension microbienne, d'une densité optique de 0,5McFarland. À la fin de la durée d'incubation (18-24h), les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés (Choi *et al*, 2006).



Figure 12 : Préparation des solutions bactériennes (originale 2017)

➤ Lecture des résultats

Il est à rappeler que la lecture s'effectue toujours en comparaison avec une boîte témoin qui ne contient que le milieu de culture et le germe à tester. Cette boîte est toujours ensemencée en même temps que les autres boîtes et dans les mêmes conditions. La croissance au niveau des boîtes témoins est totale et complète après incubation de 24h .

➤ Analyse statistique

La partition de la variance est estimée à l'intérieure et entre chaque population par l'analyse statistique de la variance (ANOVA). Les deux groupes homogènes de provenance concernant chaque trait mesuré sont séparés par le test de *Tukey*. L'analyse statistique a été réalisé par le logiciel SPSS.16.

Chapitre 4

Résultats et discussions

IV.1 La teneur en polyphénol :

Le tableau d'analyse de la variance (**tableau 03**) révèle un effet très hautement significatif ($P \leq 0,001$) entre les populations du jujubier sauvage. Cela indique que les extraits sont différents et que la teneur en polyphénols totaux diffère d'un extrait à l'autre.

Tableau 03 : tableau d'analyse de variance de la teneur en polyphénol

Sources de variation	ddl	SCE	CM	F	P
Extraits	8	6219404.4	777425.54	33.422	0***
Résiduelle	36	837383.13	23260.642		
Total	44	7056787.5			

Le test de comparaison de moyenne de *Tukey* a montré la présence de deux groupes homogènes (a et b) (**figure 12**). Le groupe homogène (a) regroupe les extraits aqueux des pulpes des fruits de jujubier sauvage en provenance de Tiaret, El-Bayad, Ain Defla, Ghardaïa et M'sila. Ces extraits sont caractérisés par des teneurs en polyphénols faibles. Alors que les extraits aqueux des pulpes des fruits de *Z. lotus* des populations de Laghouat, Médéa, Chlef et Bécher et qui ont les teneurs en polyphénols les plus élevés sont classés dans le groupe homogène (b).

Cette représentation graphique montre la teneur en polyphénols totaux (mg/ml Eq AG g MS) extraits aqueux des fruits des neufs populations de jujubier sauvage en l'Algérie.

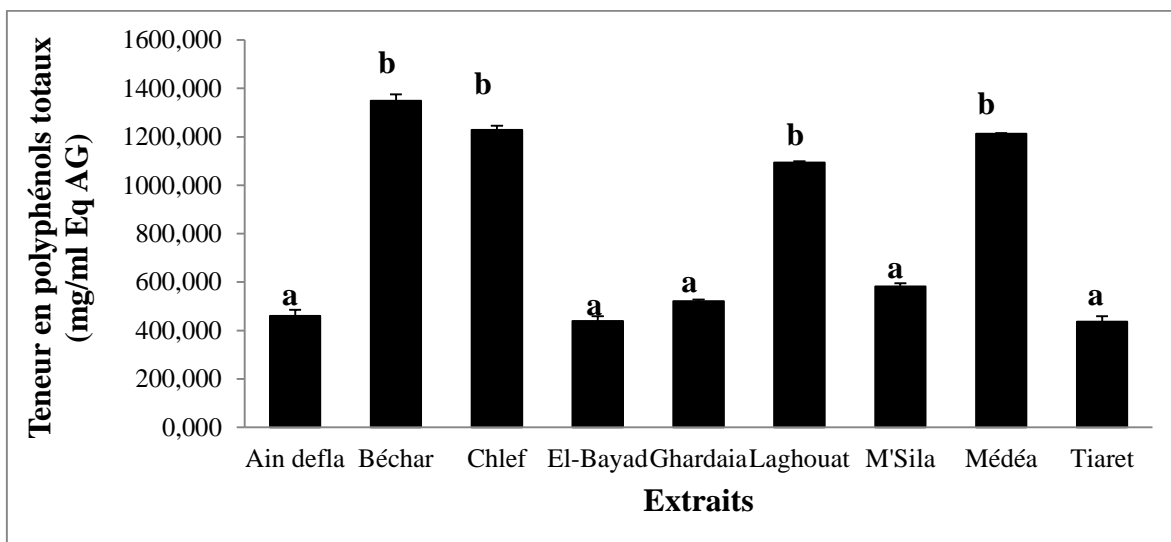


Figure 13 : Variation de la teneur en polyphénols totaux entre les différents extraits aqueux des fruits de jujubier sauvage (*Zizyphus lotus*)

La teneur en polyphénol la plus élevée a été enregistrée chez les extraits aqueux des fruit de la population de Bécher avec $1349,460 \pm 351,789404$ mg/ml Eq AG g MS, suivie par les extraits aqueux des fruits des populations de Chlef, Médéa et Laghouat avec respectivement $1228,390 \pm 209,714$ mg/ml Eq AG g MS, $1213,040 \pm 35,566$ mg/ml Eq AG g MS et $1094,110 \pm 53,222$ mg/ml Eq AG g MS.

La teneur en polyphénol la plus faible a été enregistrée chez les extraits aqueux des fruits de la population de Tiaret avec $436,250 \pm 97,033$ mg/ml Eq AG g MS, suivie des extraits aqueux des fruits des populations d'El-Bayad et de Ain Defla avec respectivement $439,465 \pm 85,434$ mg/ml Eq AG g MS et $460,197 \pm 116,171$ mg/ml Eq AG g MS.

IV.2 Teneur en flavonoïdes

Le tableau d'analyse de la variance (**tableau**) ne révèle pas de différences significatives ($P \geq 0,05$) entre les extraits aqueux des fruits de *Z. lotus*. Cela signifie qu'il n'existe pas une variance inter-populationnelle.

Tableau 04: tableau d'analyse de variance de teneur en flavonoïdes

Sources de variation	ddl	SCE	CM	F	P
Extraits	8	881.992	110.249	1.411	0,225ns
Résiduelle	36	2812.812	78.134		
Total	44	3694.804			

La figure suivante représente la teneur en flavonoïdes (mg/ml EqQ g MS) des des extraits aqueux des fruits des neuf populations de jujubier sauvage.

Les teneurs en flavonoïdes de extraits aqueux des fruits des neuf populations de jujubier sauvage sont élevées et presque égales. Elles varient entre ($98,260 \pm 1,444218$; $83,9086 \pm 9,586527$ mg/ml EqQ g MS)

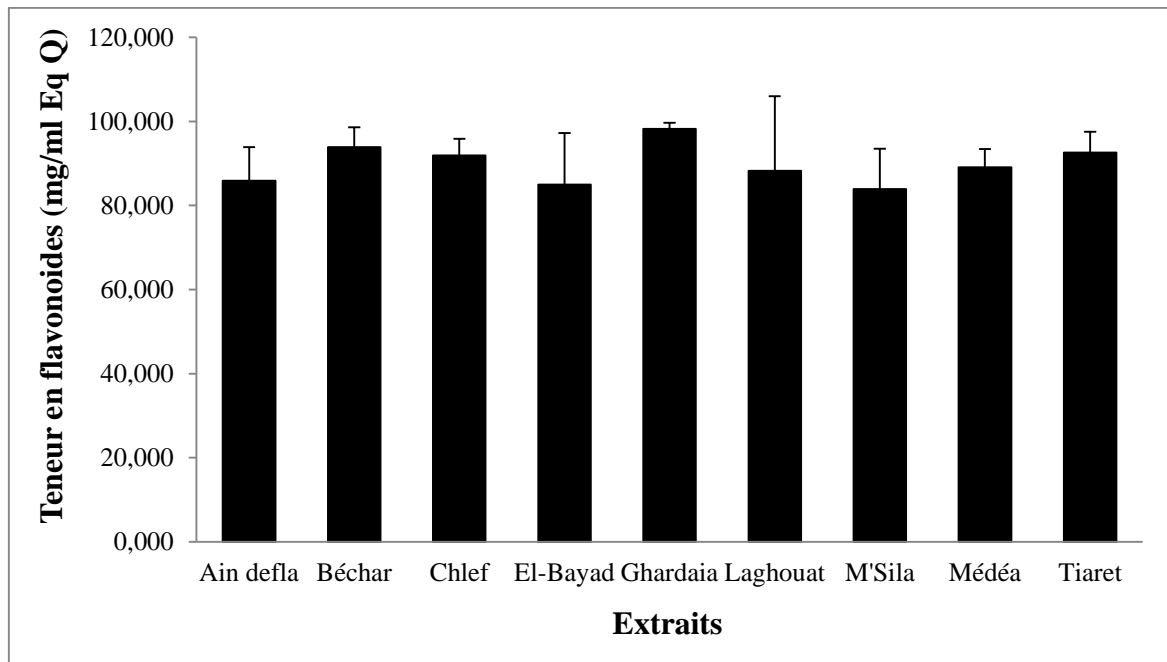


Figure 14 : Variation de la teneur en flavonoïdes des extraits aqueux des fruits des différentes populations de jujubier sauvage (*Zizyphus lotus*)

IV.3 Teneurs en tanins condensées

Le tableau d'analyse de la variance (**tableau**) révèle un effet très hautement significatif ($P \leq 0,001$) entre les extraits aqueux des fruits des différentes populations de jujubier sauvage. Cela indique que les extraits sont différents et que la teneur en tanins condensés diffère d'un extrait à l'autre.

Tableau 05 : tableau d'analyse de variance de teneur en tanins condensées

Sources de variation	ddl	SCE	CM	F	P
Extraits	8	180545.76	22568.219	4.832	0***
Résiduelle	36	168140.53	4670.57		
Total	44	348686.28			

Le test de comparaison de moyenne de *Tukey* a montré la présence de deux groupes homogènes et des groupes chevauchants. Le groupe homogène (a) regroupe les extraits aqueux des pulpes des fruits de jujubier sauvage en provenance de M'sila. Cet extrait est caractérisé par des teneurs en tanins plus faibles. Le groupe homogène (c) regroupe les extraits aqueux des pulpes des fruits de jujubier sauvage en provenance de Bécher. Ce extrait est caractérisé par des teneurs en tanins la plus élevée. Alors que les extraits aqueux des pulpes des fruits de Z.

lotus des populations de Tiaret, Ghardaïa, Médéa, Ain Defla qui sont classés dans le groupe chevauchant (ab) ; et les extraits aqueux des pulpes des fruits de *Z. lotus* des populations de El-Bayad, Chlef qui sont classés dans le groupe chevauchant (abc); et les extraits aqueux des pulpes des fruits de *Z. lotus* des populations de Laghouat qui est classé dans le groupe chevauchant (bc).

L'illustration graphique montre la teneur en tanins condensés (mg/ml Eq AG g MS) des extraits aqueux des fruits des neuf populations de jujubier sauvage en l'Algérie.

La teneur en tanins condensés la plus élevée a été enregistrée chez l'extrait aqueux des fruits de la population de Béchar avec $277,946 \pm 60,803$ mg/ml Eq AG g MS, suivie des extraits aqueux des fruits des populations de Laghouat et de Chlef avec respectivement ($223,215 \pm 27,888$ mg/ml Eq AG g MS) et ($157,411 \pm 23,013$ mg/ml Eq AG g MS).

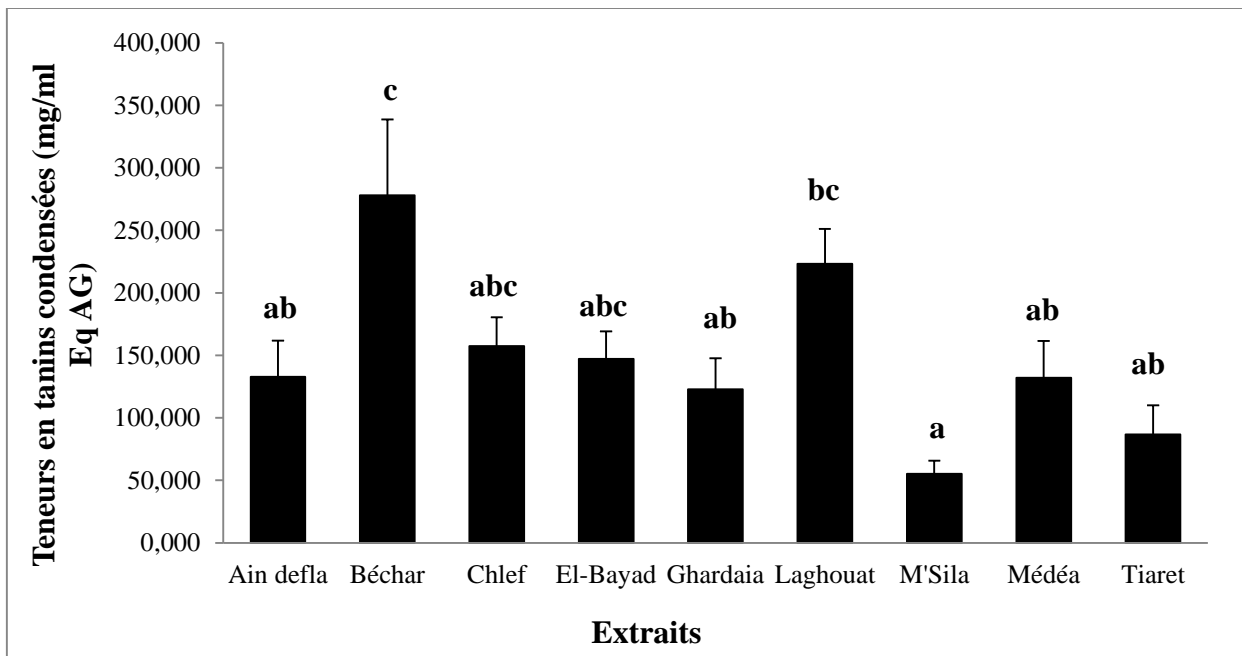


Figure 15 : Variation de la teneur en tanins condensés entre les différents extraits aqueux des fruits des populations de jujubier sauvage (*Zizyphus lotus*).

La teneur en tanins condensés la plus faible a été enregistrée chez l'extrait aqueux des fruits de la population de M'Sila avec $55,268 \pm 10,572$ mg/ml Eq AG g MS) suivie des extraits aqueux des fruits des populations de Tiaret et de Ghardaïa avec respectivement $86,696 \pm 23,44$ mg/ml Eq AG g MS et $122,768 \pm 24,817$ mg/ml Eq AG g MS).

IV.4 Test antibactérien

Notre travail consiste à utiliser des extraits aqueux à partir des pulpes des fruits des neuf populations de jujubier sauvage en deux concentrations (0,05 mg/ml et 0,1 mg/ml) à l'égard de deux souches bactériennes. Les photos dans la figure 16 représentent les zones d'inhibition obtenues après le traitement par les extraits aqueux.

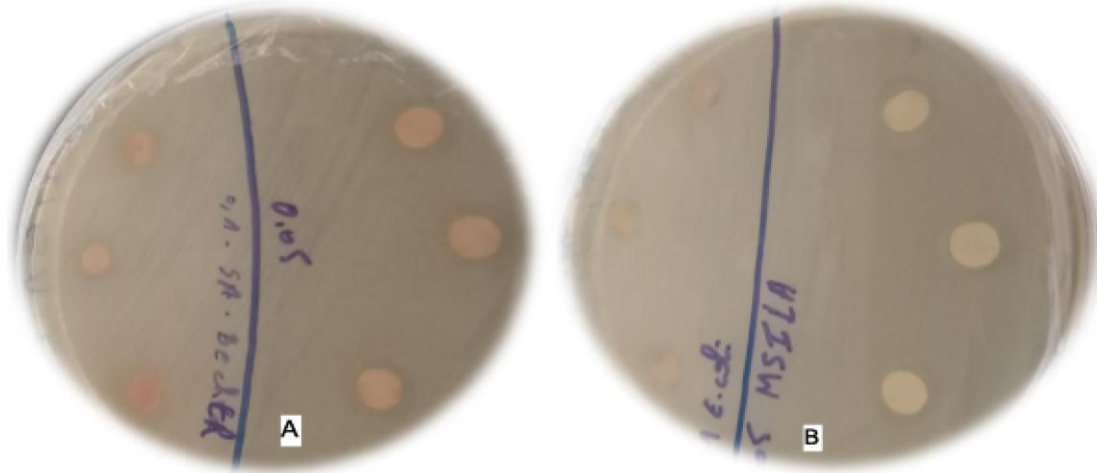


Figure 16: Zones d'inhibition après 18h à 24h (originale 2018)

On peut constater à partir du graphe que les extraits aqueux des fruits des populations de Béchar, Chlef, Ghardaïa, M'sila et Tiaret ont donné des résultats beaucoup plus élevés pour les deux concentrations sur les deux bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, contrairement aux extraits aqueux des fruits des populations de Ain Defla, El-Bayad et Médéa qui ont inhibé le développement de la bactérie *Escherichia coli* seulement, pour les deux concentrations. Par contre, l'extrait aqueux des fruits des populations de Laghouat semble avoir un effet inhibiteur pour *Staphylococcus aureus*.

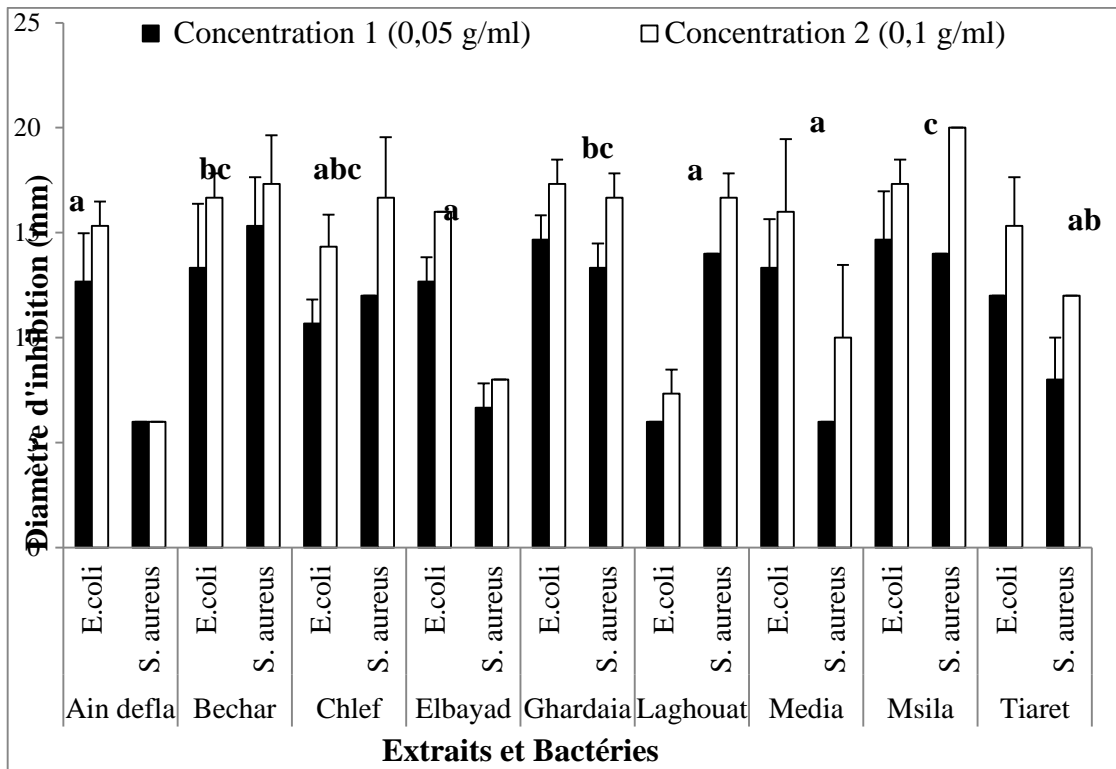


Figure 17 : Diamètres en mm des zones d'inhibition (extraits aqueux)

On remarque que la concentration 2 (0,1 mg/ml), des extraits aqueux des fruits de toutes les populations, présentent des diamètres des zones d'inhibition supérieurs par rapport à la concentration 1 (0,05 mg/ml). La concentration élevée a donné des zones d'inhibition de à 20mm pour l'extrait aqueux des fruits en provenance de M'sila et 17,33 mm pour les extraits aqueux des fruits en provenance de Béchar et de Ghardaïa. L'extrait aqueux des fruits de la population d'Ain Defla ne semble avoir d'effets sur les deux bactéries pour les deux concentrations. Les diamètres enregistrés pour cet extrait sont ceux du disque utilisé.

Le tableau d'analyse de la variance (**tableau 06**) révèle un effet très hautement significatif ($P \leq 0,001$) entre les extraits aqueux et leurs concentrations des fruits des différentes populations de jujubier sauvage. Ainsi ce tableau expose un effet significatif ($P \leq 0,05$) entre les bactéries de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Cela indique que les extraits et les concentrations sont différents et que l'activité antibactérienne diffère d'un extrait à l'autre.

Tableau 06 : tableau d'analyse de variance de l'activité antibactérienne

Sources de variation	ddl	SCE	CM	F	P
Extraits	8	570.296	71.287	7.381	0***
Bactéries	1	60.75	60.75	6.29	0,014*
Concentrations	1	240.009	240.009	24.851	0***
Résiduelle	97	936.824	9.658		
Total	107	1807.88			

Le test de comparaison de moyenne de *Tukey* a montré la présence de cinq groupes homogènes et quatre groupes chevauchants. Le groupe homogène (a) regroupe les extraits aqueux des pulpes des fruits de jujubier sauvage en provenance d'Ain Defla, El-Bayad, Laghouat, Médéa. Le groupe homogène (c) regroupe les extraits aqueux des pulpes des fruits de jujubier sauvage en provenance de M'sila. Ce extrait est caractérisé par une activité antibactérienne plus élevée. Alors que les extraits aqueux des pulpes des fruits de *Z. lotus* des populations de Tiaret qui est classé dans le groupe chevauchant (ab). Le groupe chevauchant (abc) regroupe les extraits aqueux des pulpes des fruits de jujubier sauvage en provenance de Chlef. Les deux groupes chevauchants (bc) Ghardaïa et Béchar

D'après les mêmes résultats, il est clairement observé que les extraits aqueux des fruits des populations d'Ain Defla, El-Bayad, Média et Tiaret présentent des zones d'inhibition inférieures à 8mm sur la bactérie *Staphylococcus aureus*. D'après **Ponce et al. (2003)**, une zone d'inhibition de 0 à 8mm indique que la bactérie est non sensible ou résistante ; Alors la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* est une bactérie résistante pour ces extraits. Par contre, on observe que l'extrait aqueux des fruits de la population de Laghouat présente une zone d'inhibition < 8mm sur *E. coli*, donc la souche bactérienne *E. Coli* est une bactérie résistante à cet extrait.

La sensibilité des bactéries cibles envers les différents extraits aqueux est classée selon les diamètres des halos d'inhibition déterminés par (Ponce, et al, 2003) :

- De 0 à 8 mm : bactérie non sensible ou résistante ;
- De 9 à 14 mm : bactérie sensible ou intermédiaire ;
- De 15 à 19 mm : bactérie très sensible ;
- De 20 mm ou + : bactérie extrêmement sensible.

Selon cette échelle les bactéries étudiées dans notre travail seront classées comme suit :

- *Escherichia coli* à l'égard de l'extrait aqueux des fruits de jujubier sauvage des populations de Ain Defla, Béchar, Chlef, El Bayadh, Médéa et Tiaret : bactérie sensible ou intermédiaire ($\varnothing \approx 9$ à 14 mm) ;
- *Escherichia coli* avec à l'égard de l'extrait aqueux des fruits de jujubier sauvage des populations de Ghardaïa et M'sila : bactérie très sensible ($\varnothing \approx 15$ à 19 mm) ;
- *Escherichia coli* à l'égard de l'extrait aqueux des fruits de jujubier sauvage de la population de Laghouat : bactérie non sensible ou résistante ($\varnothing < 8$ mm) ;
- *Staphylococcus aureus* avec à l'égard de l'extrait aqueux des fruits de jujubier sauvage des populations de Ain Defla, El-Bayadh, Médéa et Tiaret : bactérie non sensible ou résistante ($\varnothing < 8$ mm) ;
- *Staphylococcus aureus* avec à l'égard de l'extrait aqueux des fruits de jujubier sauvage des populations de Chlef, Ghardaïa, Laghouat et M'sila : bactérie sensible ou intermédiaire ($\varnothing \approx 9$ à 14 mm) ;
- *Staphylococcus aureus* à l'égard de l'extrait aqueux des fruits de jujubier sauvage de la population de Béchar : bactérie très sensible ($\varnothing \approx 15$ à 19 mm).

Discussions générale

Les différents paramètres étudiés ont permis de déceler une variabilité au sein des populations.

Un dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes ainsi que des tanins condensés a été effectué afin de caractériser la teneur des extraits aqueux préparés à partir de pulpe des fruits du *Zizyphus lotus*.

-Pawliska et *al.* (2009) a fait une étude sur deux espèces *Zizyphus jujuba* et *Zizyphus spina-Christi*, dont ils ont attribué la différence de teneur en flavonoïdes entre les fruits, non seulement à l'espèce, mais aussi aux conditions de croissance, comme le sol, les conditions environnementales et géographiques durant le développement du fruit, le degré de maturation et la différence génétique.

Selon (**Meslem et Toumli ; 2013**) Les différences des résultats obtenus des teneurs en composés phénoliques peuvent être dues aux solvants utilisés, à la méthode d'extraction, à la température et au temps d'extraction, aussi à la période de récolte de la plante, ainsi qu'au climat.

Des études ont montré que les facteurs extrinsèques tels que les facteurs géographiques et climatiques, les facteurs génétiques, également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols. (**Bouزيد et al ; 2011**)

La quantification des composés phénoliques dépend principalement de leur nature chimique, le procédé de dosage, le choix des standards et la présence des interférents.

D'après **macheix et al (2005)**, les variations quantitatives des composés phénoliques peuvent être particulièrement marquées au cours de la vie de la plante. Les teneurs en composés phénoliques, sont quelque fois élevées dans les organes jeunes, et diminuent en suite au cours de la croissance. A l'opposé, certains organes montrent de fortes concentrations en phénols au stade adulte.

L'activité antimicrobienne des extraits végétaux dépend de deux paramètres essentiels. Le premier paramètre est la nature et la composition de l'extrait. Alors que le second paramètre est le génotype de la souche microbienne. L'effet antimicrobien d'une substance est dû à la présence de certaines molécules dotées de ce pouvoir (**BehidjBenyounes et al., 2013**).

La différence dans la réponse des microorganismes vis-à-vis du même extrait peut être due à la différence de structure de leurs parois. La paroi cellulaire des bactéries Gram positif est constituée par une seule couche contenant 35-60% de polysaccharides et seulement 0-2% de lipides alors que la paroi cellulaire des bactéries Grams négatif a une structure multicouche liée par une membrane externe contenant 15-20% de polysaccharides et 10-20% de lipides. Les parois des levures sont composées en majeure partie de polysaccharides. La teneur en polysaccharides et lipides de la paroi affecte la perméabilité des différents constituants des extraits et ainsi affecte la réponse de chaque type de microorganisme vis-à-vis de ces extraits végétaux (**Egbobor Eja et al ; 2007**).

Il est apparaît que le *Staphylococcus aureus* (gram positive) est la bactérie la plus susceptible par comparaison avec les autres souches (gram négative) ; ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries gram positives et les bactéries gram négatives. La paroi cellulaire des bactéries gram positives est constituée par une seule couche alors que la paroi cellulaire des gram négatives a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe (**Ali-Shtayeh et al ., 1998**)

Selon (**Djemai ; 2009**), il apparaît que toutes les souches microbiennes testées sont inhibées au moins par l'un des extraits, ce qui confirme le spectre large de L'activité antimicrobienne de zizyphus lotus.

Les extraits polaires(AQ) du *Zizyphus lotus* ont montré une activité antimicrobienne avec toutes les souches microbiennes surtout *Staphylococcus aureus*.

Conclusion

Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la médecine traditionnelle.

L'étude des propriétés biologiques des extraits de neufs populations algériens des fruits du *Zizyphus lotus* sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* nous a permis d'obtenir des résultats intéressants.

Dans un premier temps, l'analyse quantitative des extraits aqueux de neufs populations algériens du jujubier sauvage est représenté par le dosage spectrale des trois substances bioactives : les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins.

Il existe une variation de la teneur en polyphénols totaux entre les extraits aqueux de pulpe des fruits de neufs populations étudiées classé en deux groupes (faibles et élevés) ; les populations qui ont une teneur en polyphénols faibles sont Tiaret, El-Bayad, Ain Defla, Ghardaïa et M'sila. , par contre Laghouat, Médéa, Chlef et Bécher représente les populations qui ont une teneur en polyphénols les plus élevés. .

Concernant les teneurs en flavonoïdes des extraits aqueux de pulpe des fruits des neuf populations de jujubier sauvage sont élevées et presque égales.

Pour la teneur en tanins ; une variation est enregistrée aussi chez les différentes populations de jujubier sauvage, avec une teneur en tannin maximale chez la population de Bécher.

Et dans la deuxième partie, L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits aqueux de pulpe de fruit de *Zizyphus lotus* de neufs populations en Algérie (Ain defla , Béchar ,Chlef , El-Bayad , Ghardaïa , Laghouat , M'sila , Media , Tiaret) sur deux bactéries (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) avec deux concentrations différentes (0,05 et 0,1 g/ml) nous a permis de conclure que les extraits aqueux de population de Béchar ,Chlef , Ghardaïa , M'sila ont un pouvoir antibactérien élevé sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* . qui confirme la richesse des extraits aqueux de ces populations en composés responsables de l'activité antimicrobienne par rapport aux autres populations.

Une résistance aux extraits aqueux des fruits de jujubier sauvage est remarquée chez *Escherichia coli* pour la population de Laghouat et chez *Staphylococcus aureus* pour la population d'Ain Defla, El-Bayadh, Médéa et Tiaret.

A travers cette étude, on a essayé de mettre la lumière sur une espèce médicinale très importante (*zizyphus lotus*), qui occupe une surface importante en Algérie et qui a d'autres utilisations très bénéfiques.

En perspective, du point de vue scientifique les extraits aqueux de jujubier sauvage constitue une mine d'or prometteuse à intérêts multiples, et un agents thérapeutiques cible pour la recherche de nouveaux principes actifs naturels.

Références bibliographiques

Les références bibliographiques

- 1-Abu-Zarga M., Sabri S., Al-Boudi A., Ajaz S., Sultana N. et Rahman A-U. (1995). New cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *Journal of Natural Products*, 58:504-511.
- 2-Alain Hugues Olivier N'Guessan, Camille Evelyne Dago Déliko, Janat Akhanovna Mamyrbékova-Békro , Yves-Alain Békro ;(2011) . Teneurs en composés phénoliques de 10 plantes médicinales employées dans la tradithérapie de l'hypertension artérielle, une pathologie émergente en Côte d'Ivoire. *Revue de génie industriel*, 6, 55-61
- 3-Amara Moussa , Benabdeli Khaloufi; (2017), A Geobotanical and Phenological Study of *Zizyphus lotus* in the Naama Region (South-Western of Algeria) . *J. Appl. Environ. Biol. Sci.*, 7(11)1-8
- 4-Atanassova. M, Georgieva. S, et Ivancheva. K ; (2011). Total Phenolic And Total Flavonoid Contents, Antioxidant Capacity And Biological Contaminants In Medicinal Herbs, *J. Chem. Technol. Metall.* 46 - 81–88.
- 5-Bahorun. T, Gressier. B, Trotin. F, Brunete. C, Dine. T, Vasseur. J, Gazin. JC, Pinkas. M, Luycky. M; (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts of phenolic extravts from haworthon fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46:1086-1089.
- 6-Benammar. C, Hichami. A, Yessoufou. A, Simonin. A-M, Belarbi. M, Allali. H, Khan; (2010). N.A. *Zizyphus lotus* L. (Desf.) modulates antioxidant activity and human T-cellproliferation. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10(54): 1472-6882.
- 7-Berche. P, Galillard. J.L, Simonet;(1991). Les bactéries des infections humaines. Flammarion et c^{ie} France . 660p.
- 8-Bnouham. M, Mekhfi. H, Legssyer. A, et Ziyat. A ; (2002). Ethnopharmacology Forum Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco.*Int J Diabetes &Metabolism*, 10, 33-50.
- 9-Boizot. N, et Charpentier. J-P ; (2006).Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des Techniques de l'Inra*.pp79-82.
- 10-Borgi. W, Bouraoui. A, Chouchane. N; (2007). Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts, *Journal of Ethnopharmacology*,12:228-231.
- 11-Borgi. W, Recio. M-C, Rios. J-L, Chouchane. N;(2008).Anti-inflammatory and analgesic

- activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam. *South African Journal of Botany*, 14:320-324
- 12-Boulahbal. F ; (1986). Microbiologie S1 clinique. Office des publications universitaires, place centrale-Ben AKNOUN .Alger.173p
- 13-Bruneton. J, (1999).Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, (3ème éd).Tec et Doc (Ed), Paris ,1120p
- 14-Bsaissi. N, Bouhache. M ;(2002) La lutte chimique contre le jujubier. Programme National de Transfert de Technologie en Agriculture (PNTA), DERD (Ed). n°94, Rabat, p. 4.
- 15-Camille Delarras ; (
- 16-Catalano. L, Franco. I, De Nobili. M et Leita. L; (1999). Polyphenols in olive mill waste waters and their depuration plant effluents: comparaison of the Folin-Ciocalteau and HPLC methods. *Agrochimica*, 43: 193-205.
- 17-Carrillon. E ; (2000) .la phethotherapie face a l'evolution medical. Recherche et l'évaluation relative a la médecine traditionnelles.
- 18-Coran ; Surat el najem verset (14-15-16).
- 19-Dohou. N, Yani. K, Thahrouch. S, Idrissi Hassani. L-M, Badoc. A, G mira. N; (2003). Screaming phytochimique d'une endémique ibéro- Marocaine; *Thynelaea lythroides* .*Bull.Soc.Pharm.Bordeaux*.142:61-78.
- 20-Dogyan. S, Turan. Y, Ertuerk. H et Arslan. D ; (2005). Characterization and Purification of Polyphenol oxidase from artichoke (*Cynarascolymus* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 53: 776-785.
- 21-Federighi. M ; (2005). Bactériologie alimentaire. Réalisé en P.A.O. par STDI – Z.A. route de couterne-53110 Lassay-Les-Châteaux P
- 22-Flandrois.p.j, Court. R, lemeland. F.J, Ramuz. M, Sirot, J, Soussy, C.J; (1997). Bactériologie Médicale .presses universitaire de lyon. Français 309.
- 23-Gast.M et Chaker.S ; (2004). Jujubier, encyclopedieberbere.revues.org/1388, volumes n°26
- 24-Ghedira K.(August 2005). flavonoids : structure, biological activities, prophylactic function and therapeutic uses, Volume 3, issie4,pp 162-169
- 25-Ghedira. K ;(2013). *Zizyphus lotus* (L.) Desf (Rhamnacées) : jujubier sauvage. *Phytothérapie*, 11 : 149-153
- 26-Hosseini,Z.H et Younesi,H.M ; (2002). Antinociceptive and anti-inflammatory effect of *corcus sativas* L. stigma and petol extracts in mice *BMC pharmacology*, 2(7) :1-8

- 27-Larousse ; (2001)/ VUEF pour la présente Edition ; original Tittle : Encyclopedia of medicinal plants (2nd Edition)
- 28-Marfak. A ; (2003). Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES.187 p
- 29-Michael. J, Pelczar. Jr, Chan. E.C.S, Fontaine. J; (1981). Élément de microbiologie. les presses de métropole litho. Montréal. 515P
- 30-Mouni Saadoudi , Leila Hambaba , Mohamed Abdeddaim , Adel Lekbir , Ali Bacha , Soussene Boudraa , Sara Zidani; (2017) , nutritional composition, physical properties and sensory evaluation of biscuit produced from jujubes (fruits of *zizyphus lotus* l.), volume 18, issue 3.
- 31-Nebih Hadj- Sadok, D, Hadrou G, S et Taoussi, F ;(2014). Activité nématocide *in vitro* des extraits aqueux des plantes médicinales « *artemisia campestris*, *zizyphus lotus*, *datura stramonium* et *urginea maritima* » sur des larves de *meloidogyne*. nebihdhaouia@yahoo.fr
- 32-Quezel P et Santa S ;(1962).Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales.Tome2. *Centre national de la recherche, Paris* ,565p.
- 33-Rais.C, Lazraq.A, Nechad.I, Houhou .M, El Harchali.H, El Ghadraoui .L, Meni Mahzoum.A, Louahlia.S; (2017), The biochemical and metabolic profiles of the leaves in *Zizyphus lotus* L. as a potential adaptive criterion to the environmental conditions. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, Volume 8, Issue 5, Page 1626-1633
- 34-Ollivier. D, Boubault. E, Pinatel. C, Souillol. S, Guérèr. M, et Artaud. J ;(2004). Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierge. *Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique*, 965 : 169-196.
- 35-Schofield. P, Mbugua. D-M, Pell. A N; (2001).Analyses of condensed tannins: a review *Animal Food and Technology*, 91:21-40.
- 36-Singleton. P ; (2004).Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies.les presse de SNEL Grafics .Belgique. 542p
- 37-Singleton V.L et Rossi, JA. Jr ; (1965) .colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic –phosphotungstic acid reagents .*american journal of ecology and viticulture*,16: 144-158

- 38-Souleymane Abdoul-Azize ; (2016).Potential Benefits of Jujube (*Zizyphus Lotus* L.)Bioactive Compounds for Nutrition and Health, Journal of Nutrition and Metabolism, Volume, Article ID 2867470, 13 pages.
- 39-Soussen boudraa, Leila hambaba, Sara zidani, Houda Boudraa ; (2010) , Composition minérale et vitaminique des fruits de cinq espèces sous exploitées en Algérie : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Zizyphus lotus* L. vol. 65, p. 75–84, © 2010 Cirad/EDP Sciences All rights reserved
- 40-Suty. L ; (2010). La lutte biologique. Documents fournis bialec, nancye. France. 323p
- 41-Tortora,G.J, Funke, B.R, Case,C.L; (2001). Introduction à la microbiologie. Renouveau pédagogique Inc. Canada.945p
- 42-Zhishen. J, Mengcheng. T, et Jianming. W; (1999). Research on antioxidant activity of flavonoids from natural materials, Food Chemistry, 64: 555-559.
- 43-Zimmer. N et Cordesse. R ; (1996).Influence des tannins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants Ed INRA Prod Anim, 9 :167-179.
- 44-Zouaoui Refka, Ksontini Mustapha et Ferchichi Ali ; (Juin 2013). effect of water stress intensity on germination of *zizyphus lotus* (L.) lam from arid land of tunisia. *algerian journal of arid environment*. vol. 3, n° 1, 35-49
- 45-Wong. S-P, Leong. L-P, William Koh. J-H; (2006).Antioxidant activities of extracts of selected plants.Food chemistry.99:775-783

Annexes

Annexe n° 1

Préparation de l'acide gallique :

1g de l'acide gallique avec 100 ml l'eau distillée et faire l'agitation à l'aide d'un agitateur
On prene 10 tubes d'essais dans chaque tube on met 9ml l'eau distillée avec 1ml acide gallique
2ème tube 8ml ED avec 2ml AG et ainsi de suite jusqu'à 0ml ED avec 10ml AG(témoin) et
obtenir plusieurs concentration de 1mg/ml à 10 mg/ml.

On refait le même protocole de polyphénol c'est-à-dire de chaque dilution on prendre 0.5ml
de AG avec 2.5ml Folin-Ciocalteu diluée 10 fois à incubation quelque minute puis on ajoute
1ml de carbonate de sodium , incubation 15min puis faire la lecture par spectrophotomètre à
longueur d'onde 760 nm.



Figure 18: Les différentes étapes de la préparation de l'acide gallique (originale 2018)

Annexe n° 2

Préparation de milieu de culture :

Les milieux de culture ont été autoclavés à 120 °C pendant 15 minutes sous une pression de 1 bar.

Formule :

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée

Peptone	17.50
Extrait de viande	2.00
Amidon	1.5
Agar	17.00

PH final à 25°C : 7.3 ± 0.1

Milieu de culture utilisé :

Suivant les méthodes employées et selon les souches bactériennes, nous avons préparé le milieu de culture (MH) : 19g de MH poudre avec 500ml ED sous l'agitation jusqu'à point d'ébullition (avec température) et obtenir d'une liquide homogène .ce dernier est placé dans des flacons et faire stérilisation par l'autoclave pendant 15min à 120°C.



Figure 19 : Les différentes étapes de la préparation du milieu de culture (originale 2018)

Préparation de l'eau physiologie :

0.9 NACL + 100 ml ED puis faire l'agitation ensuite posé dans chaque tube 9ml EP et faire stérilisation par l'autoclave.

Résumé

Notre étude comporte l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits aqueux de pulpe des fruits de *Zizyphus lotus* provenant de neuf populations en Algérie vis-à-vis deux souches bactériennes (*staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*).

Les résultats obtenus montrent que la population de M'sila présente un effet inhibiteur plus élevée sur *staphylococcus aureus*, par contre la population de Bechar a révélé une activité antibactérienne plus élevée sur *Escherichia coli*. Cela indique que les extraits aqueux de ces populations sont riches en composé bioactive.

Mots clé : activité antibactérienne, *zizyphus lotus*, polyphénols, *staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, extrait aqueux

Abstrac

Our study involves the evaluation of the antibacterial activity of aqueous extracts of fruit of *Zizyphus lotus* of nine populations in Algeria against two bacterial strains (*staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*).

The results obtained show that the M'sila population has a higher inhibitory effect on *staphylococcus aureus*, whereas the Bechar population showed a higher antibacterial activity on *Escherichia coli*. This indicates that aqueous extracts from these populations are rich in the bioactive.

Key words: antibacterial activity, *zizyphus lotus*, polyphenols, *staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, aqueous extract

الملخص

تشتمل دراستنا على تقييم النشاط المضاد للبكتيريا في المستخلصات المائية من لب الفاكهة من نبات السدر (*Zizyphus lotus*) من تسع ولايات مختلفة في الجزائر ضد سلالتين بكتيرية (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*). تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن فاكهة نبات السدر المأخوذة من ولاية المسيلة لها تأثير كابح أعلى على المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*)، في حين أن الفاكهة من نبات السدر المأخوذة من ولاية بشار أظهرت نشاطاً مضاداً للجراثيم أعلى على (*Escherichia coli*) هذا يدل على أن المستخلصات المائية لهذه المجموعات غنية بالمركبات النشطة بيولوجياً.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للبكتيريا ، العناب البري ، البوليفينول ، المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*)، الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*) ، المستخلص المائي.