

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ahmed DRAÏA - Adrar

Code :



Faculté des Sciences et de la Technologie
Département de Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en :

Filière : Sciences Biologique

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Recherche de l'activité antibactérienne des extraits bruts
des graines de mucilage de *Trigonella foenum – graecum*
L. de la région de Fenoughil (Adrar)**

Préparé par :

Mlle. ABDERRAHMANE Siham

Mlle. BAKHABOU Nejdane

Mlle. AMRAOUI Firdows.

Membres de jury d'évaluation :

M. HENOUDA Sarra	Président	Pr.	Univ. Adrar
M. HADEF Khawla	Encadreur	MCA	Univ. Adrar
Mlle. ZIWANI Sarra	Co-encadreur	MCB	Univ. Adrar
M. MADJIDIE Nour El-Houda	Examineur	MAA	Univ. Adrar

Année Universitaire : 2021/2022



شهادة الترخيص بالإيداع

الأستاذة: عامر خويلد

المشرف مدونة المذكرات الموسومة بـ: Recherche de Picturite dans les membranes de polyamide et de polyimide de T. P. S de 2.5 et 5.0
من المركز الطبي - عمدة محمد بن محمد

والطالبة: محمود نعيقات، عمراد علي، خود ويلي
كلية: العلوم والتكنولوجيا

القسم: العلوم الحياتية والبيئية

التخصص: بيولوجيا، وتطبيقات

تاريخ تقييم المذكرة: 09 جوان 2022

أشهد أن الطلبة قد قاموا بالتعدلات والتصحيحات المطلوبة من طرف لجنة التقييم / الملائمة، وأن المطابقة بين
النسخ الورقية والإلكترونية استوفت جميع شروطها.
وإمكانية إيداع النسخ الورقية (02) والإلكترونية (PDF).

- أعضاء المشرف:

أدرار - 21 جوان 2022

بسم الله الرحمن الرحيم
بمقتضى قرار اللجنة
والتصديق من طرف
عبد الرحمان



Remerciements

Avant tout nous remercions Dieu le tout puissant qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Merci infiniment à notre encadreur Dr **HADEF Khawla** qui a dirigé ce travail et veillé à ce qu'il soit mené à terme. Nous tenons surtout à vous remercier pour vos conseils qui nous ont été de grande utilité.

Grand et respectueux remerciement va au **Mme. HENOUDA Sarra** d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire et aussi aux membres jury **Mme. ZIWANI Sarra** et **M. MADJIDIE Nour El - Houda**, pour leur présence nécessaire et utile au sein du jury.

Nous tenons aussi à remercier **Dr ZERDANI** directeur de laboratoire bio-touât pour le soutenir afin de compléter la partie pratique de notre mémoire.

Nous n'oublions pas de remercier le responsable et toute l'équipe du laboratoire de l'université Ahmed DRAYA

DÉDICACE

*Nous dédions ce travail à nos **Parents** qu'ils trouvent ici toute notre
gratitude Pour leur soutien tout le long de nos études*

*A nos **Sœurs** et nos **Frères***

*À nos **Amis***

A ceux qui nous ont tout donné sans rien en retour.

Résumé

Cette étude consiste à mettre en évidence les constituants du mucilage obtenu à partir des graines de la plante médicinale *Trigonella foenum-graecum L.* cultivée dans la région de sud-ouest Algérien Fenoughil (Adrar).

L'objectif principal de notre travail est d'extraire le mucilage, de le caractériser et d'évaluer ses activités biologiques, essentiellement l'activité *antibactérienne* contre certaines bactéries à Gram négatifs : *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonia* par méthode de diffusion sur gélose.

La caractérisation biochimique des constituants de mucilage a montré que l'extrait présente des composés phytochimiques notamment des métabolites secondaires qui peuvent agir comme un antibiotique tels que les flavonoïdes, le tannin et les polyphénols et des métabolites primaires comme les acides aminés.

Les résultats obtenus de l'antibiogramme montrent que la plante a un fort pouvoir antibactérien contre toutes les souches étudiées et notamment contre la souche de *Klebsiella pneumonia*, avec un diamètre d'inhibition allant jusqu'à 20 mm.

D'autres études doivent être réalisées par la suite pour identifier les composants biologiques actifs dans cette étude.

Mots clés : *Trigonella foenum - graecum L.*, mucilage, activité anti-bactérienne, antibiotique, antibiogramme.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى إبراز مكونات الصمغ المأخوذ من بذور النبات الطبي *Trigonella foenum-graecum L*. المزروع في منطقة جنوب غرب الجزائر فنوغيل (ادرار).

الهدف الرئيسي من عملنا هو استخراج الصمغ لتوصيفه وتقييم نشاطه البيولوجي، وبشكل أساسي النشاط المضاد للبكتيريا ضد بعض البكتيريا سالبة الجرام: *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* عن طريق طريقة الانتشار على الأجار.

التوصيف الكيميائي الحيوي لمكونات الصمغ لتوضيح أن المستخلص يحتوي على مركبات كيميائية نباتية بما في ذلك المستقبلات الثانوية التي قد تعمل كمضاد حيوي مثل الفلافونويد والتانين والبوليفينول والمستقبلات الأولية مثل الأحماض الأمينية.

أظهرت نتائج مخطط المضادات الحيوية التي تم الحصول عليها أن النبات لديه قوة مضادة للجراثيم قوية ضد جميع السلالات المدروسة وخاصة ضد سلالة *Klebsiella pneumoniae*، بقطر تثبيط يصل إلى 20 مم.

يجب إجراء مزيد من الدراسات لاحقاً لتحديد المكون البيولوجي النشط في هذه الدراسة.

الكلمات المفتاحية: *Trigonella foenum-graecum L*، صمغ، نشاط مضاد للجراثيم، مضاد حيوي، مخطط المضادات الحيوية.

Abstract

This study consists in highlighting the constituents of the mucilage obtained from the seeds of the medicinal plant *Trigonella foenum-graecum L.* cultivated in the region of south-west Algeria Fenoughil (Adrar).

The main objective of our work is to extract the mucilage to characterize it and to evaluate their biological activity, essentially the antibacterial activity against certain Gram-negative bacteria: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* by diffusion method on agar.

The biochemical characterization of mucilage constituents to show that the extract has phytochemical compounds including secondary metabolites, which can act as an antibiotic such as flavonoids, tannin and polyphenols and primary metabolites such as amino acids.

The results obtained of antibiogram show that the plant has a strong antibacterial power against all the strains studied and in particular against the strain of *Klebsiella pneumonia*, with an inhibition diameter of up to 20 mm.

Further studies should be performed subsequently to identify the active biological component in this study.

Key words: *Trigonella foenum - graecum L.*, mucilage, antibacterial activity, antibiotic, antibiogram.

Liste des abréviations

AMC : amoxicilline + acide clavulanique

C : concentration

CIP : ciprofloxacine

CTR : ceftriaxone

E. coli : *Escherichia coli*

FeCl₃ : chlorure ferrique 2%

GN : gélose nutritive

Hcl : acide chlorhydrique

I₂ : le diiode

KOH : hydroxyde de potassium

KI : potassium + iode

OMS : organisation mondiale de la santé

UV : ultra-violet

ZI : zones d'inhibition

Liste des figures

Figure 1 : Description de <i>Trigonella foenum-graecum L.</i>	4
Figure2 : Métabolites secondaires.....	5
Figure3 : Composition chimique du fenugrec.....	8
Figure4 : Structure de mucilage.....	12
Figure5 : Méthodes principales d'extraction.....	13
Figure6 : Graines de fenugrec.....	20
Figure7 : Extraction de mucilage.....	22
Figure8 : Préparation des solutions bactériennes.....	24
Figure9 : Présentation d' <i>Escherichia coli</i>	24
Figure10 : Présentation de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
Figure11 : Présentation de <i>Klebsiella pneumonia</i>	25
Figure12 : Photo de mucilage obtenu.....	27
Figure13 : Antibiogramme d' <i>Escherichia coli</i>	30
Figure14 : Antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31
Figure15 : Antibiogramme de <i>Klebsiella pneumonia</i>	31

Liste des tableaux

Tableau1 : Description de l'utilisation de fenugrec.....	8
Tableau2 : Rendement d'extraction.....	27
Tableau3 : Résultats de screening phytochimique.....	28
Tableau4 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par l'extrait brut de graine de mucilage de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.....	30

Table de matière

Remerciements

Dédicace

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I- Présentation de la plante	3
I.1- Historique.....	3
I.2- Description botanique	3
I.3-Systématique.....	4
I.4- Métabolites des plantes.....	5
I.4.1- Métabolites primaires.....	5
I.4.2- Métabolites secondaires	5
I.4.2.1- Composés phénoliques	5
I.4.2.2- Alcaloïdes.....	7
I.4.2.3- Isoprénoïdes (terpénoïdes).....	7
I.5- Composition chimique du fenugrec.....	7
I.6- Utilisations de la plante.....	8
I.7- Propriétés biologiques.....	10
I.8- Propriétés thérapeutiques.....	11
I.9- Mucilage.....	12
I.9.1- Mode d'extraction de mucilage.....	13
I.9.1.1- Méthodes d'extraction traditionnelles.....	13
I.9.1.2- Méthodes d'extraction modernes.....	15
I.9.2- Application pharmaceutique des mucilages.....	15
I.9.3- Propriétés thérapeutiques des mucilages.....	15
I.2- Activité antibactérienne.....	16
I.2.1 Bactéries à Gram négatifs.....	16

❖ Généralité sur les souches bactériennes utilisées.....	17
I.2.2- Antibiogramme.....	18
I.2.3- Concentration minimale inhibitrice.....	18

Chapitre 2 : partie expérimentale

I. Matériel et méthodes.....	20
a. Matériel végétal.....	20
b. Méthodes.....	21
b.1- Extraction du mucilage.....	21
b.2. Test de concentration de mucilage.....	22
b.2.1- Polyphénols et tannins.....	23
b.2.2- Flavonoides.....	23
b.2.3- Amidon.....	23
b.2.4- Acides aminés.....	23
b.3- Etude de l'activité antibactérienne.....	23
b.3.1- Préparation d'inoculum.....	23
b.3.2- Souches utilisées.....	24
b.3.3- Recherche de l'activité antibactérienne selon la méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits).....	25
▪ Lecture de diamètre de zone d'inhibition.....	26
II. Résultats et Discussion	
II.1- Rendement.....	27
II.2- Caractérisation de mucilage.....	28
II.3- Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait brut de graine de mucilage de <i>Trigonella foenum- graecum</i> L.....	30

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes



INTRODUCTION



Face à l'expansion des maladies dont la prise en charge est élevée, l'OMS a encouragé des études ethnobotaniques et des recherches pharmaceutiques pour innover des médicaments à base de plantes médicinales afin de promouvoir leurs utilisations optimales, dans le traitement de certaines pathologies [01] et [02].

Les plantes ont l'aptitude de synthétiser de nombreux composés : métabolites primaires et secondaires qui constituent un immense réservoir de constituants possédant un large éventail d'activités biologiques [03]. Ces constituants jouent un rôle important dans la santé humaine. Leur utilisation comme des agents antimicrobiens et antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et [5]. le traitement de plusieurs pathologies [04]. C'est le cas des polyphénols issus des plantes qui sont utilisés comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique et comme antimicrobiens et antioxydants en thérapeutique. C'est ce qui justifie le nombre croissant de travaux consacrés aux espèces végétales susceptibles d'être de potentielles sources naturelles de traitements [03 ; 04].

Les produits naturels d'origine végétale ont une utilité de longue date dans le traitement des maladies dégénératives [5]. On estime qu'environ les deux tiers de la population mondiale dépendent de la médecine traditionnelle pour besoins médicaux primaires [5].

Des recherches précliniques et cliniques approfondies ont décrit les utilisations pharmaceutiques du fenugrec dans la thérapie et pour divers effets pharmacologique [5]. La phytothérapie par *Trigonella foenum – graecum L.* riches en polyphénols et principalement en flavonoïdes a connu un grand regain. Grâce à leurs propriétés biologiques qui sont très importantes et très vastes [6].

En Algérie, les plantes médicinales occupent une place importante. Des chiffres recueillis auprès du Centre national du registre de commerce, montrent qu'à fin 2009, l'Algérie comptait 1.926 vendeurs spécialisés dans la vente d'herbes médicinales, dont 1.393 sédentaires et 533 ambulants. La capitale en abritait, à elle seule, le plus grand nombre avec 199 magasins, suivie de la wilaya de Sétif (107), Bechar (100) et El Oued avec 60 magasins [7].

Le présent travail vise à la recherche de l'activité antibactérienne des extraits bruts de graines de mucilage de *Trigonella foenum – graecum L.* de la région de Fenoughil (Adrar). Cette étude permet d'ouvrir des perspectives intéressantes dans la recherche des nouveaux moyens thérapeutiques et nouvelles molécules actives, pouvant ainsi apporter des solutions crédibles par la réalisation de médicaments à faibles coûts et efficaces pour le traitement de beaucoup de maladies.

Le présent travail est réparti comme suit :

❖ Chapitre I qui comprend la synthèse bibliographique de la plante *Trigonella foenum – graecum L.* et l'activité antibactérienne.

❖ Chapitre II qui présente la partie expérimentale consiste à présenter la zone d'étude concernée et adopter une méthodologie de travail.



CHAPITRE 01

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE



Chapitre 01 : Synthèse bibliographique

I- Présentation de la plante

I.1- Historique

Le fenugrec est l'une des plus anciennes plantes médicinales et culinaires connues. C'est une plante annuelle, herbacée, de la famille des Fabacées [8].

Au 1er siècle avant JC, les Romains utilisaient du vin aromatisé au fenugrec. Il a été utilisé comme une aide pour induire le travail lors de l'accouchement et comme fourrage [8].

La médecine traditionnelle chinoise utilisait le fenugrec pour traiter la faiblesse et de l'œdème des jambes, le traitement de l'hypertension et des maladies immunitaires [8].

L'Inde l'utilisait comme un constituant majeur des épices indiennes [8].

En Afrique, les graines de fenugrec étaient utilisées comme substitut du café pour contrôler les infestations d'insectes dans les entrepôts de céréales [8].

Au début du 19ème siècle, il a été introduit en Europe. Actuellement, le fenugrec est utilisé pour diverses activités médicinales [8].

Le fenugrec était également cultivé dans certaines parties de l'Europe, de l'Afrique du Nord, de l'Asie de l'Ouest et du Sud, de l'Amérique du Nord et du Sud et de l'Australie [9].

I.2- Description botanique

Fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* Linn.) c'est une plante médicinale, annuelle de courte durée appartenant à la famille des *Fabaceae*, est largement utilisée dans diverses parties du monde comme herbe, nourriture, épice et médecine traditionnelle. Le fenugrec est considéré comme l'un des plus anciens plantes [10].

Il est velu et dressée de 30-60 cm de haut. Il a des feuilles aromatiques en trois folioles, les longues tiges minces portent des feuilles obovales tripartites et dentées. Ils sont caractérisés par une couleur gris-vert et une longueur de 20 à 25 mm [10].

Les fleurs sont axillaires sessiles, en grappes, blanchâtres ou jaune citron. Gousse de 5,7 cm de long avec un bec persistant et poilu avec 10 à 20 graines [10].

Les graines de fenugrec sont petites de 5 mm de long, dures et jaune brunâtre, la couleur peut varier, à forte odeur caractéristique et à saveur amère [10]. (fig 1)

Les plantes mûrissent en quatre mois environ. La saison de floraison du fenugrec est généralement au milieu de l'été [10].



Figure 2 : Description de *Trigonella foenum-graecum* L. [11 ; 12]

I.3- Systématique

- Règne : *Plantae*.
- Sous-règne : *Tracheobionta*.
- Classe : *Magnoliopsida*.
- Ordre : *Fabales*.
- Famille : *Fabaceae*.
- Genre : *Trigonella* L.
- Espèce : *Trigonella foenum-graecum* [13].

I.4- Métabolites des plantes

Les plantes synthétisent deux types de métabolites : métabolites primaires et métabolites secondaire [14].

1.4.1 Métabolites primaires

Métabolisme primaire regroupe toutes les voies de synthèse de composés indispensables à la croissance et au développement de la plante. Ils ont un rôle clé chez tous les végétaux. Parmi ces métabolites on a : les acides aminés, les protéines, les acides gras, les sucres, les polysaccharides ... [15].

1.4.2- Métabolites secondaires

Métabolites secondaires chez les plantes est une exclusivité du monde végétal. C'est une structure chimique souvent complexe, très dispersée et très différente selon les espèces [16]. Ils pourraient jouer un rôle dans la défense contre les herbivores et dans les relations entre les plantes et leur environnement.

On distingue trois classes principales :

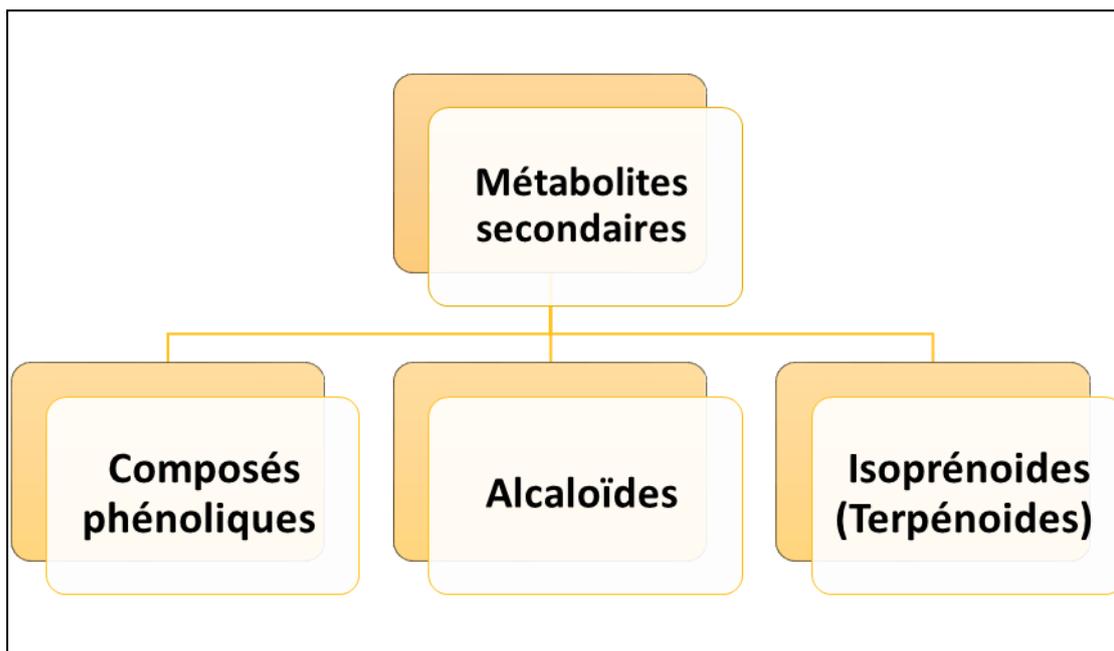


Figure2 : Métabolites secondaires.

I.4.2.1- Composés phénoliques

Présents chez toutes les plantes vasculaires et joue un rôle protectrice contre les pathogènes. Parmi ces composés on trouve les acides phénoliques, les coumarines, les quinones, les tanins, les flavonoïdes et les anthocyanes [17].

❖ Fonctions des composés phénoliques

Fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV. Les composés phénoliques forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes [18].

❖ Classes des composés phénoliques

Flavonoïdes

Des flavonoïdes comme l'héspéridine et la rutine, présentes dans plusieurs plantes, dont le Sarrasin et le Citronnier, renforcent les parois capillaires et préviennent l'infiltration dans les tissus voisins [18].

Tannins

Plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure. Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'autooxydation des lipides [18].

Coumarines

Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes.

Coumarines sont connues par leurs activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau de cœur) et hypotensives. Elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées [18].

Phénols

Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages. Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales [18].

Xanthonnes

Les propriétés pharmacologiques reconnues des xanthonnes sont essentiellement : leur activité antimicrobienne, leur cytotoxicité et surtout l'inhibition de la monoamine-oxydase). La manguiférine est une xanthone qui possède la propriété d'inhibition en vers la peroxydation des lipides, ainsi que des propriétés de capteurs de radicaux libres contre les anions super oxydes [18].

I.4.2.2- Alcaloïdes

Sont un groupe de composés azotés, issus principalement des végétaux. Ils présentent des réactions communes de précipitation [19]

I.4.2.3- Isoprénoïdes (terpénoïdes)

Cette voie de biosynthèse donne naissance à de très nombreux métabolites secondaires. Elle participe à la synthèse de certains composés comme la β -carotène, les chlorophylles, l'ubiquinone ou la plastoquinone, qu'on ne positionne généralement pas dans le métabolisme secondaire [20 ; 21].

I.5- Composition chimique du fenugrec

C'est une plante d'intérêt pharmaceutique parce qu'elle contient divers composés polyphénoliques (stéroïdes, flavonoïdes et alcaloïdes) [22].

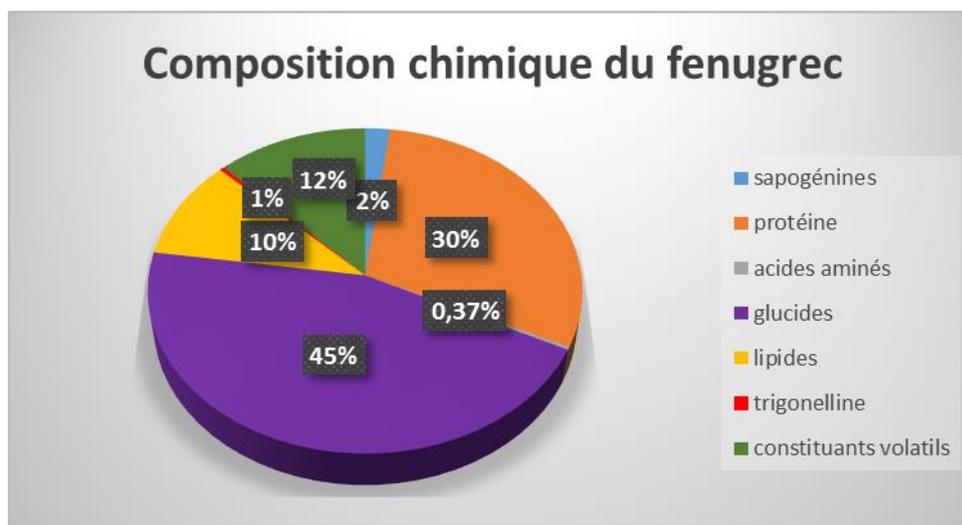


Figure3 : Composition chimique du fenugrec [11].

I.6- Utilisations de la plante

I.6.1- Plante médicinale

Tableau 1 : Description de l'utilisation de fenugrec

Troubles/maladies	Description
Diabetes	Acide aminé, 4-hydroxyisoleucine : stimule la production d'insuline et donc contrôle la glycémie. Composés polyphénoliques exercent des effets antidiabétique [23].
Cancer	Composés polyphénoliques possèdent des activités anti-carcinogéniques [24].
Hypercholestérolémie	Baissent le cholestérol sanguin. Les flavonoïdes dans les extraits d'acétate d'éthyle exercent des effets hypocholestérolémiques [24].
Infarctus du Myocarde	Désintoxication par la trigonelline des radicaux libres et des produits de la peroxydation des lipides empêche des blessures du myocarde [24].

Irritation cutanée	Réduisent l'irritation cutanée et la douleur. La pâte de poudre de graines hydrate la peau, la rend mince et blanche [24].
Inflammation	Détoxifie les oxydants et les radicaux libres pour réduire l'inflammation [24].
Anémie	Empêche l'oxydation de globule rouge. Etant riches en fer (Fe), les graines réduisent l'anémie. Nutrition et restauration du Fe chez le patient carencé en fer [24].
Immunodéficience	Antioxydants naturels aident au renforcement du système immunitaire. Effet stimulateur de l'immunité et immunomodulateurs. [24].
Viellissement	Réduisent la mort cellulaire et le vieillissement [24].
Troubles des reins	Protège contre les anomalies fonctionnelles et histopathologiques des reins chez le patient diabétique. Réduit le niveau de la catalase et l'activité de dismutase de superoxyde chez des patients. hypercholestérolémiques. Empêche l'accumulation de l'ADN oxydé pour empêcher les blessures de rein [24].
Effet antioxydant	Capacité d'absorption des radicaux oxygène et inhibition de la peroxydation lipidique [25].
Troubles gastroduodénaux	Soulage les ulcères gastriques et intestinaux. Les fibres hydroluble nettoie les intestins, élimine la constipation et augmente la force des intestins [26].
Hépatoprotecteur	L'intoxication à l'éthan et ans la stéatose hépatique associée à l'obésité [27].
Gagner du poids	Utilisé en tant qu'un stimulant de l'appétit [28].
Lactation	Stimule la production de lait chez la mère qui allaite [28].
Prévenir la chute des cheveux	Traiter la calvitie, l'amincissement des cheveux et la chute des cheveux. Il contient également de la lécithine, un émollient naturel qui aide à renforcer et hydratation des cheveux. Il éloigne également les pellicules et garde les cheveux exempts de poux [27].
Antidote aux	Aident à prévenir les rides, les points noirs, les boutons, la

problèmes de peau	sécheresse et les éruptions cutanées [24] .
Autres	Les troubles respiratoires, l'infection bactérienne, l'épilepsie, la toux chronique, paralysie, l'hydropisie, la toxicité de métaux lourds, le désordre hépatique et l'arthrite [24].

I.6.2- Plante condimentaire

Fenugrec est utilisé comme épice et herbe dans de nombreux plats culinaires. Ses feuilles vertes et ses graines sont les seules parties de la plante qui sont comestibles dans la cuisine indienne [5].

Dans la cuisine africaine, le fenugrec est utilisé comme complément pour faire du pain. La présence de galactomannane, source de la fibre alimentaire soluble dans l'endosperme de la graine, améliore les propriétés nutritionnelles et physico-chimiques du pain [5].

I.6.3- Engrais vert et fourrage

Fenugrec était utilisé comme fourrage dans l'antiquité ce qui lui vaut son nom de (foin grec), il est utilisé aussi en agriculture biologique comme engrais vert [5].

I.6.4- Industrie pharmaceutique

Fenugrec est largement utilisé comme culture chimique à des fins industrielles. Ses graines sont d'une importance commerciale en tant que source de diosgénine stéroïde [10].

I.7- Propriétés biologiques

Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs. En effet, les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches *in vivo et in vitro*, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels les composés phénoliques, les saponosides, les huiles essentielles, polysaccharides et surtout le mucilage [28].

Fenugrec constitue l'une des nombreuses légumineuses possédant des propriétés thérapeutiques connues depuis des siècles. Il est riche en métabolites secondaires notamment en saponines, stéroïdes, alcaloïdes et flavonoïdes qui représentent sur le plan pharmaceutique le point de départ de nombreuses réactions chimiques et biotechnologiques l'aboutissant à des médicaments tels que les corticostéroïdes, les hormones sexuelles, les anabolisants, les contraceptifs et les spironolactones [29].

I.8- Propriétés thérapeutiques

Fenugrec compte parmi les plus anciennes plantes médicinales et culinaires. Ses graines, grâce à leurs composés chimiques, se révèlent être d'une grande valeur alimentaire et présentent de multiples vertus phytothérapeutiques [31].

I.8.1- Activité antibactérienne

Les extraits méthanoliques et aqueux des graines de fenugrec ont montré une activité antibactérienne contre des bactéries Gram positifs et négatifs notamment vis-à-vis de *Escherichia coli*, et *P. aeruginosa* [32].

I.8.2- Activité anti-inflammatoire

Trigonella foenum-graecum L. est riche en nombreux composés anti-inflammatoires. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti inflammatoires, Ils bloquent les voies de la cyclooxygénase et la lipoxygénase ainsi que par d'autres mécanismes [33].

I.8.3- Activité antioxydante

Plusieurs études sur *Trigonella foenum-graecum L.* rapportent que les extraits de cette plante présentent des propriétés antioxydantes. La supplémentation de la poudre de graines de fenugrec dans l'alimentation conduit à une réduction des biomarqueurs de dommages oxydatifs chez les rats diabétiques alloxanes [34].

I.8.4- Activité antidiabétique

Cette graine est largement utilisée en phytothérapie en raison de ses effets hypoglycémiques. En outre, d'autres mécanismes antidiabétiques comprennent le retard de l'évacuation du contenu de l'estomac en raison de la teneur en fibres, le ralentissement de l'absorption des glucides et l'inhibition du transport du glucose, ainsi que l'augmentation des récepteurs de l'insuline et l'utilisation périphérique du glucose [35].

I.8.5- Activité anti- cancérigène

Fenugrec a présenté des capacités modificatrices de l'apoptose induite par le cyclophosphamide et la peroxydationlipidique. Cette propriété du Fenugrec en fait une plante médicinale prometteuse pour la thérapie complémentaire chez les patients cancéreux [36].

I.9- Mucilage

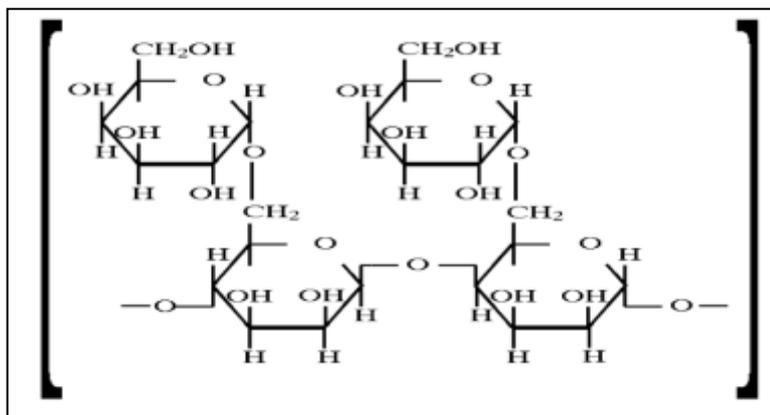


Figure 4 : structure chimique du mucilage [37].

Le mucilage est un mélange de polysaccharides que l'on trouve couramment dans divers organes de nombreuses espèces végétales supérieures [38].

En raison de sa haute variabilité en termes de constituants chimiques, le mucilage probablement assume une multitude de fonctions physiologiques chez les plantes. Il se trouve dans les rhizomes, les racines et les endospermes des graines, où il peut agir, principalement comme réserves d'énergie [38].

Les mucilages sont des produits physiologiques liés aux gommés, mais ils sont généralement des esters d'acides sulfuriques, le groupe ester étant un polysaccharide complexe. Les mucilages sont des hémicelluloses étroitement liées à la composition, à l'exception des sucres produits par les hémicelluloses qui sont le glucose, le mannose et le xylose, tandis que ceux produits par les mucilages sont le galactose et l'arabinose [39].

Les mucilages foliaires aussi jouent un rôle dans les réactions aux plaies [40].

I.9.1- Mode d'extraction de mucilage

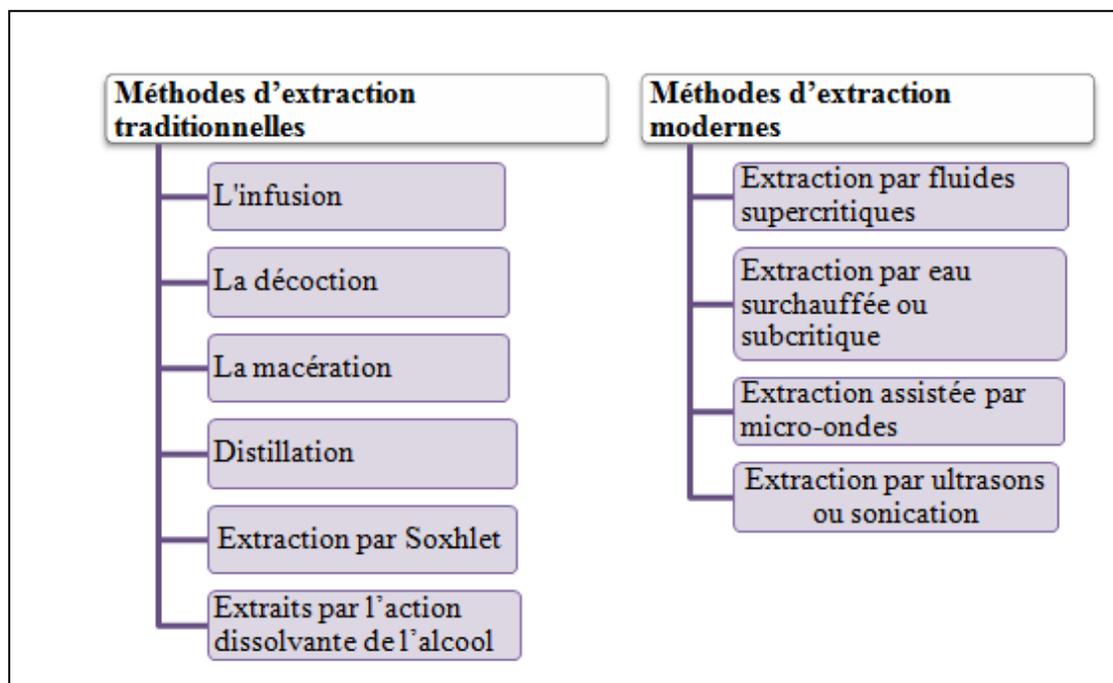


Figure 5 : Méthodes d'extraction de mucilage[33].

I.9.1.1- Méthodes d'extraction traditionnelles

a) **Infusion**

L'infusion est la forme de préparation la plus simple ; on l'applique aux organes délicats de la plante : fleurs, feuilles aromatiques, sommités. Cette forme permet d'assurer une diffusion optimale des substances volatiles : essences, résines et huiles essentielles [33].

b) **Décoction**

La décoction s'applique en général aux racines, écorces, bois, rameaux, fruit. Elle consiste à faire bouillir, dans de l'eau, une partie ou la totalité de la plante, pendant un temps déterminé, laissé ensuite refroidir et enfin au filtrage à l'aide d'un papier spécial ou d'une toile à trame fine. Le mucilage, riche en composés polaires, se solubilise assez facilement dans l'eau. [41] En présence de ce dernier, le mucilage va rapidement gonfler, éclater les cellules mucilagineuses se déploier autour de la graine. Sa diffusion dans le milieu sera élevée. De même, une température élevée permettra d'augmenter cette vitesse d'extraction [42].

c) Macération

Les macérations concernent généralement les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur. Elles peuvent être définies comme des infusions froides de longue durée (de plusieurs jours). Cette préparation s'obtient en mettant les plantes, en contact, à froid, avec un liquide quelconque [33].

d) Distillation

C'est une pratique très ancienne utilisant la vapeur d'eau pour récupérer les principes volatils. Développée par Jabir Ibn Hayyan qui a rajouté l'alambic à l'ancien appareil de distillation pour la réfrigération, mais utilisée par Al Kindi et Ibn Sina pour la préparation des parfums [33].

e) Extraction par Soxhlet

Un extracteur Soxhlet est une pièce de verrerie utilisée en chimie analytique et en chimie organique qui permet de faire l'extraction par solvant continue d'une espèce chimique contenue dans une poudre solide [43].

f) Extraits par l'action dissolvante de l'alcool

L'extraction c'est une technique basée sur l'utilisation des solvants principalement l'éthanol à partir d'une drogue végétale, qui passe par différents traitements comme l'inactivation des enzymes, un broyage. Comme la Teinture elle consiste à placer la plante dans un bocal en verre avec de l'alcool et le conserver dans un endroit frais pendant quelques semaines tout en mélangeant le pot de temps à autre. Après filtration, le mélange peut se conserver plus de trois ans [33].

I.9.1.2- Méthodes d'extraction modernes**1- Extraction par fluides supercritiques**

Est un procédé d'extraction en utilisant un fluide supercritique comme solvant d'extraction le dioxyde de carbone (CO₂) est le plus utilisé. L'inconvénient du CO₂ est qu'il a une faible polarité qui le rend idéal pour les lipides, les graisses et les substances non polaires, et elle possède un avantage environnemental car il ne laisse aucun résidu de solvant dans le produit [33].

2- Extraction par eau surchauffée ou subcritique

L'eau surchauffée est attribuée à l'eau liquide sous pression à température comprise entre 100°C et 374°C qui est sa température critique. Les avantages de cette

technique sont : faible coût, non toxique, un meilleur rendement et une bonne qualité des produits propres [33].

3- Extraction assistée par micro-ondes

Cette technique s'applique à toute extraction par un liquide tel que l'extraction liquide-liquide et surtout l'extraction solide-liquide. Les micro-ondes ou hyperfréquences sont des ondes électromagnétiques de longueur d'onde différent, avantages de cette technique augmente la pureté de l'extrait, réduit la dégradation par la chaleur, rapide, application de très faible énergie et usage de très faibles quantités de solvant [33].

4- Extraction par ultrasons ou sonication

Elle représente une adaptation de l'hydro distillation ou de l'extraction par solvant organique. En effet, la matière première est immergée dans l'eau ou dans le solvant, et au même temps elle est soumise à l'action des ultrasons. Cette technique peut être utilisée pour l'extraction des huiles essentielles, mais elle a surtout été développée pour l'extraction de certaines molécules ayant un intérêt thérapeutique [33].

I.9.2- Applications pharmaceutiques des mucilages

Les mucilages possèdent, un polymère complexe de structure ramifiée, pour laquelle ils présentent une forte cohésion et des propriétés adhésives. Ces propriétés sont très utiles dans préparations pharmaceutiques. Par conséquent, les mucilages trouvent diverses applications en pharmacie. Ces polymères sont utilisés comme liants dans la fabrication des comprimés, possédant les propriétés émulsifiantes et gélifiantes. Ils sont aussi utilisés autant qu'agents de suspension, stabilisants, épaississants, comme des agents désintégrant dans les comprimés et des colloïdes protecteurs en suspension [33].

I.9.3- Propriétés thérapeutiques des mucilages

Les propriétés thérapeutiques des mucilages sont reliées à leurs pouvoir hydratant, sa capacité de gonflement en présence de l'eau et de donner des solutions visqueuses et des gels [33].

Ces propriétés sont classées comme suit :

1- Diminution de la sensation de douleur et du goût

Dans le cas d'inflammations des muqueuses des voies respiratoires ou digestives, les substances mucilagineuses ont une action adoucissante de par le fait qu'elles forment sur la muqueuse une couche protectrice empêchant l'accès de substances irritantes. On les utilise également en douches vaginales, urèthrales, etc. pour calmer les douleurs et les

inflammations. Les solutions mucilagineuses ont également la propriété de diminuer dans une assez forte mesure la sensation du goût, spécialement du goût acide [33].

2- Rétention d'eau et application prolongée de chaleur humide

On utilise très fréquemment les drogues à mucilages sous forme de cataplasmes. Le but est de produire une accumulation de chaleur et d'humidité, surtout sur les inflammations d'origine infectieuse et aussi d'origine rhumatismale [33].

3- Pouvoir adsorbant et anti-diarrhéique

Les propriétés anti-diarrhéiques des mucilages sont dues en partie à leur faculté d'adsorber dans l'intestin les substances irritantes, et, ce qui est encore discuté, même les bactéries [33].

4- Action laxative

Cette action est due aux propriétés qu'ont les substances mucilagineuses de retenir l'eau, de gonfler sous son action et de créer ainsi une certaine pression de gonflement. De cette façon elles vont augmenter le volume du bol intestinal et de par la pression qu'elles exercent sur la paroi intestinale, elles provoquent par voie réflexe l'augmentation des mouvements péristaltiques, ce qui contribue à faciliter l'élimination des selles [33].

I.2- Activité antibactérienne

Quelques bactéries sont naturellement résistantes à certains antibiotiques. Mais la résistance est souvent acquise par l'incorporation de gènes de résistance. Cette résistance peut être transmise par l'intermédiaire de plasmides [44].

I.2.1- Bactéries à Gram négatifs

Les bactéries à Gram négatifs sont classées selon la coloration de Gram. Ces bactéries sont également responsables de différents types d'infection et sont sensibles à différents types d'antibiotiques [45].

Les bactéries Gram négatives sont enfermées dans une capsule protectrice. Cette capsule empêche les globules blancs d'y ingérer. Sous la capsule, les bactéries Gram négatifs

possèdent une membrane externe qui la protège contre certains antibiotiques, comme la pénicilline. Lorsqu'elle se déchire, cette membrane libère des substances toxiques appelées endotoxines. Les endotoxines contribuent à la sévérité des symptômes lors des infections bactériennes Gram négatives [45].

Le groupe le plus infectieux des bactéries à Gram négatives incluent : Brucellose, Infections à *Amylobacter*, maladie des griffes du chat et Choléra,

Infection à *Escherichia coli* (*E. coli*), Infections à *Haemophilus influenzae*, infections à *Klebsiella*, maladie du légionnaire (légionellose), coqueluche, peste, infections à *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigellose*, tularémie, fièvre typhoïde [45].

Les bactéries Gram négatifs peuvent provoquer de nombreuses infections graves, telles que pneumonie, péritonite, infections des voies urinaires, infections du sang, infections des plaies et des sites chirurgicaux et méningite [45].

❖ Généralité sur les souches bactériennes utilisées

○ *Klebsiella*

Ce sont des bacilles à Gram négatif. Les *Klebsiella* sont immobiles et possèdent une volumineuse capsule de nature polysaccharidique. Essentiellement saprophytes et très répandues dans la nature, elles peuvent se retrouver à l'état commensal dans le tube digestif et les cavités naturelles, en particulier les voies respiratoires pour *Klebsiella pneumoniae* [46].

Les *Klebsiella* ont une résistance naturelle à l'ampicilline. Elles sont normalement sensibles aux céphalosporines, CTR [47].

○ *Escherichia coli*

Est une bactérie à Gram négatif qui appartient à la famille des entérobactéries. Elles ont comme dimensions moyennes 2 à 3 micromètres de long et 0,6 micromètre de large [48].

Cette bactérie est connue depuis longtemps comme commensale du tube digestif et pathogène pour l'appareil urinaire. La majorité des infections urinaires de la jeune femme observée en pratique médicale de ville est due à *Escherichia coli*. [49].

Les souches d'*E.coli* sont généralement sensibles aux antibiotiques actifs sur les bacilles gram négatif : amino-pénicillines, céphalosporines, quinolones, aminosides, triméthoprim – sulfaméthoxazole et AMC [49].

Néanmoins cette sensibilité doit toujours être vérifiée par un antibiogramme car il y a souvent des résistances [47].

○ *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* appartiennent aux -Protéobactéries. Ce groupe englobe la majorité des espèces de bactéries phytopathogènes : les *Pseudomonas*, les *Xanthomonas* et les *Erwinia* [50]. Le groupe des *Pseudomonas* se compose de bâtonnets, Gram négatifs, mobiles, non sporulantes, elles sont aérobies obligatoires [51].

Résiste à plusieurs classes d'antibiotique : Aminopénicillines, Céphalosporines, Céfotaxime, Ceftriaxone, tétracyclines, Ertapénème, kanamycine .généralement sensibles à CIP [52].

I.2.2- Antibiogramme

Antibiogramme est une technique de laboratoire vise à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus. Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de bactérie. Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre de la zone d'inhibition : souche ou bactérie sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) [53].

I.2.3- Concentration minimale inhibitrice

Les antibiotiques peuvent être distingués sur base du type d'activité qu'ils exercent. Un antibiotique bactériostatique arrête la croissance des bactéries. Un antibiotique bactéricide tue les bactéries [54].

L'activité des antibiotiques sur les bactéries rencontrées en pathologie est évaluée in vitro. L'effet bactériostatique est étudié par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI). Les méthodes de référence sont des méthodes de dilution en gélose ou en

milieu liquide. En pratique courante, la sensibilité aux antibiotiques est étudiée par des méthodes de diffusion en milieu solide comme l'antibiogramme ou par des techniques automatisées. La concentration minimale bactéricide (CMB) rend compte de l'effet bactéricide des antibiotiques. Il est cependant préférable d'étudier la bactéricide de manière cinétique en fonction du temps. Les principes de ces différentes méthodes peuvent aussi être utilisés pour l'étude d'associations d'antibiotiques [55].

La distinction entre les deux types d'activité peut se faire en comparant in vitro la CMI (concentration minimale inhibitrice) et la CMB (concentration minimale bactéricide). Un antibiotique peut être considéré comme bactéricide lorsque sa CMB est sensiblement égale à sa CMI. Un antibiotique dont la CMB est très supérieure à la CMI, de telle sorte que sa concentration au site d'infection in vivo ne permet pas d'atteindre la valeur de la CMB, sera considéré comme bactériostatique [54].



CHAPITRE 02

PARTIE EXPÉRIMENTALE



Chapitre 02 : Partie expérimentale

I- Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire pédagogique de département sciences de la nature et de la vie, Faculté des Sciences technologiques, Université d'Adrar.

L'objectif principale de notre travail est d'extraire le mucilage des graines sèches de fenugrec cultivé de Fenoughil (Adrar), le caractériser et d'évaluer leur activité biologiques, essentiellement l'activité antibactérienne contre certains bactéries Gram négatifs :

Pseudomonas aeruginosa, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonia* par méthode de diffusion sur gélose.

a- Matériel végétal

Le présent travail consiste à l'étude de l'activité antibactérienne des extraits brute de graine de mucilage des grains de *Trigonella foenum-graecum L.* de la région de Fenoughil, commune dont le territoire se situe au centre-ouest de la wilaya d'Adrar [56], La distance entre le centre de cette Wilaya et Fenoughil est de 26 Km [57].

Nous avons apporté des graines sèches de fenugrec d'un vendeur des épices de la même commune au cours mois de Mars 2022. Elles sont nettoyées de petites pierres et rincées à l'eau puis laissées sécher pendant quelques heures avant de leur utilisation.



Figure6 : les graines de fenugrec
(Photo autonome prise le 11/03/2022)

b. Méthode

b.1- Extraction du mucilage

Le but de cette étape est d'extraire le mucilage contenu dans les graines de *Trigonella foenum-graecum L.* cultivé de Fenoughil (Adrar).

L'extrait aqueux est préparé par décoction selon le protocole de Verma et ses collaborateurs (2014) [58] avec modification. Une quantité de 25g des graines de *Trigonella foenum-graecum L.* est mise en contact avec 250mL d'eau distillée puis chauffer le mélange à 70 °c en plus d'agitation pendant 15 minutes La solution ainsi obtenue est filtrée sur une mousseline. Le filtrat est gardé séparément dans un erlenmayer fermé par papier aluminium, et conservé dans réfrigérateur pendant 24 h Après 24h nous mesurons le filtrat (par une éprouvette graduée) et mettre dans Erlenmeyer et on y ajouter le même volume d'éthanol l'obtention d'un précipité floconneux indique la présence de mucilage (L'éthanol permet de précipiter le mucilage) .ajouter la solution en les tube de l'appareil de centrifugation. Centrifuger le mélange à 8000 tours /min pendant 10 min afin récupérer le culot. En étuve sécher le culot à 45°C pendant 20 heures. La poudre marron obtenue est l'extrait brut de mucilage (**fig 7**).

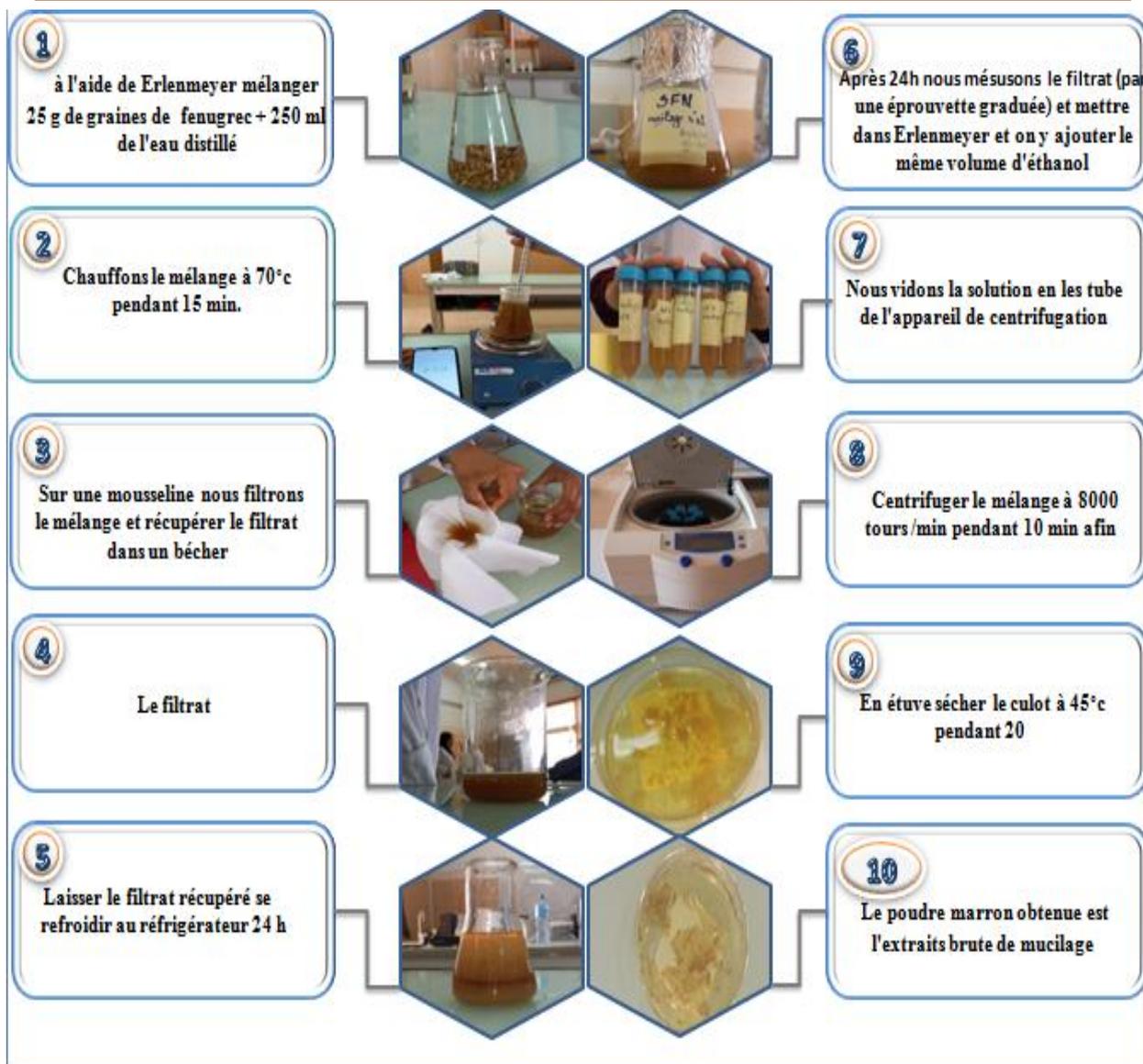


Figure 7 : Extraction de mucilage



Le rendement d'extraction (%) est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (\text{Masse de l'extrait sec} \times 100) / \text{Masse du matériel végétal utilisé} \quad [20].$$

b.2 Tests de caractérisation de mucilage

Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation. Les tests phytochimique ont été réalisés sur les extraits bruts préparés par mucilage. [20 ; 48].

b.2.1- Polyphénols et tanins

On ajoute 2 ml d'extrait brute avec quelque goutte de chlorure ferrique 2% (FeCl₃).

La présence des polyphénols est confirmée par l'apparition d'une couleur bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée [20 ; 59].

b.2.2- Flavonoïdes

On mélange 2 ml d'extrait brute avec 2 ml d'acide chlorhydrique (HCl) concentré puis on ajoute quelques gouttes d'hydroxyde de potassium (KOH).

La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune claire. [20 ; 60].

b.2.3- Amidon :

On mélange 1,2g du diode (I₂) et 2,5 g de potassium + iode (KI) dans 100 ml d'eau distillée. On traite les extraits, brut et on les purifie avec le réactif d'amidon. L'apparition d'une couleur bleue violacée indique la présence d'amidon [20].

b.2.4- Acides aminés :

Pour chaque ml d'extrait à tester on ajoute 1ml de la solution de ninhydrine préparée dans l'acétone ou l'éthanol dont la concentration est de 1%. On chauffe dans un bain marie et observe le changement de couleur. La présence des acides aminés donne une couleur violette [20].

b.3- Etude de l'activité antibactérienne**b.3.1- Préparation de l'inoculum**

Après la revivification des souches bactériennes jeunes sur un milieu nutritive, l'inoculum de chaque souche étudiée est préparé séparément.

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on prélève les bactéries et on les place dans un tube stérile contenant 9 ml de l'eau physiologique. La turbidité obtenue pour la réalisation de l'étude antibactérienne est équivalente à celle d'un standard Mc Farland 0,5 ou à une densité optique de 0,08 à 0,1 lue à 625nm.



Figure 8 : Préparation des solutions bactériennes.

(Photo autonome prise le 29-03-2022)

b.3.2- Souches utilisées

Dans cet étude on a choisir 3 bactéries Gram négatifs : *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonia* qu'on a les obtenu du laboratoire d'analyses médicales Bio-touât Adrar.

On a choisit l'étude sur Les bactéries Gram-négatives car elles sont plus dangereuses et résistantes à de nombreux antibiotiques, et grâce aux résultats obtenus, ces bactéries peuvent être résistées par des extraits de plantes médicinales.

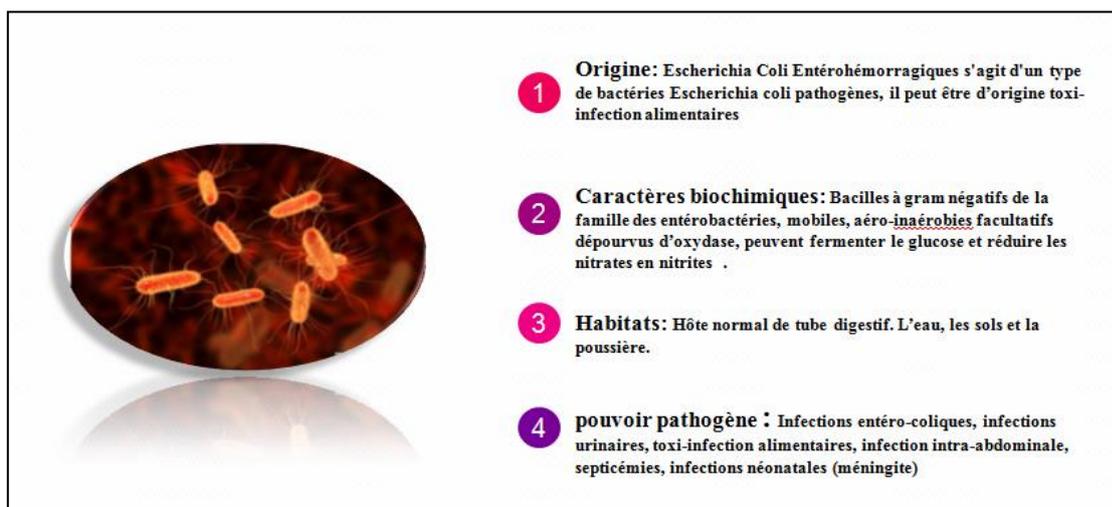


Figure9 : souche bactérienne *Escherichia coli* [45 ; 61 ; 62].

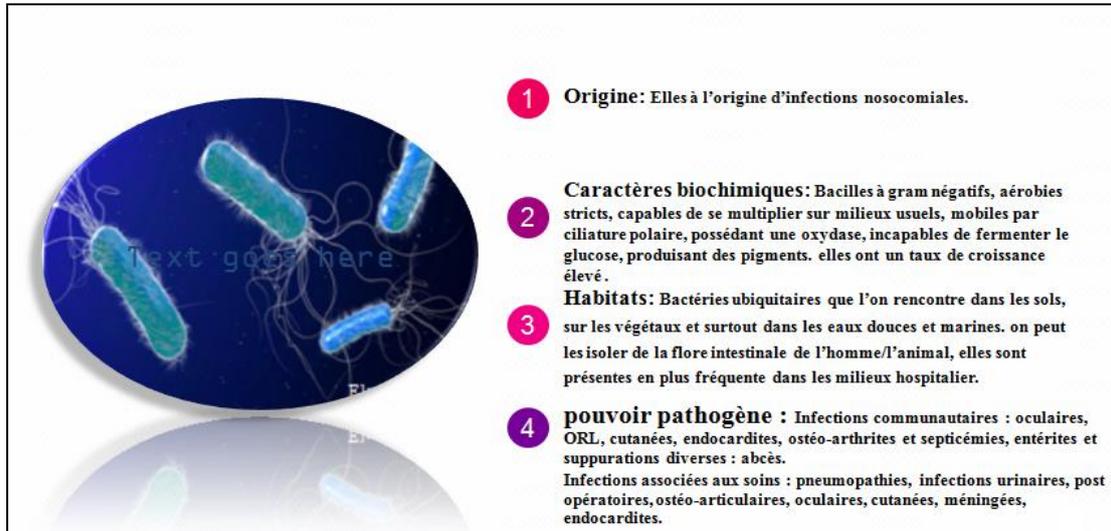


Figure10 : souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* [61 ; 62].

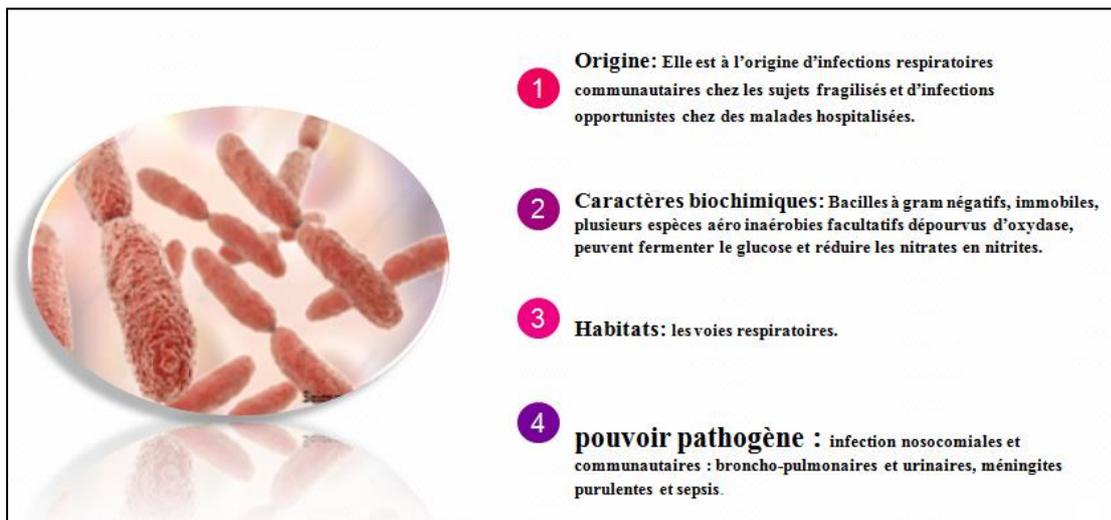


Figure11 : souche bactérienne *Klebsiella pneumonia* [46 ; 61].

b.3.3- Recherches de l'activité antibactérienne selon la méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits)

C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet anti bactérienne, elle est aussi appelée : la technique de dilution en gélose pour la détermination des extraits actifs.

Des boites de Pétri contenant du GN sontensemencées avec la solution mère pour chaque bactérie. L'ensemencement se fait par écouvillonnage.

Après le séchage des boîtes, la gélose est perforée quatre puits à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur stérile. Les cavités ainsi formées sont remplies de solution aqueuse de *Trigonella foenum-greacum L.* à différentes concentrations 12.5mg/ml ,25mg/ml ,50mg/ml ,100mg/ml.

Les boîtes sont mises à incubées dans une étuve à 37°C pendant 24h, L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Un produit est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 6 mm [63].

▪ Lecture du diamètre de zone d'inhibition

La lecture du diamètre d'inhibition est réalisée au niveau de la zone de complète inhibition de la culture. Il est nécessaire de placer la boîte à 30 cm de l'œil, de ne pas utiliser de loupe grossissante et de ne pas tenir les boîtes face à une lampe. Les diamètres des zones d'inhibition doivent être mesurés au millimètre le plus proche à l'aide d'une règle ou d'un pied à coulisse [64].

Cette variabilité est notamment la conséquence d'une grande diversité des types de bordures de la zone d'inhibition. Elles sont tantôt nettes tantôt floues ou présentant parfois des micro-colonies rendant la lecture difficile. Les caractéristiques de la zone d'inhibition sont déterminées par la relation entre l'antibiotique et la bactérie avec ses éventuels mécanismes de résistance. Certains antibiotiques sont connus pour être à l'origine de bords flous qui peuvent mesurer de 1 à 5 mm, Il est alors nécessaire d'estimer à l'œil nu (sans loupe) [64].

II-Résultats et Discussions

II.1- Rendement

Le but de ce travail est de récupérer la plus grande quantité possible de culot de mucilage à l'aide d'un volume donné de solvant d'éthanol. Pour étudié le rendement d'extraction (mucilage brut) il faut connaitre la quantité extraite par le solvant qui se compose de filtrat plus éthanol à partir de la quantité initiale présente dans le solvant composé de filtrat.

Tableau 2 : Rendement d'extraction

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement%
Extrait aqueuse	Poudre fine (mucilage)	Marron	0.968 %

Après avoir réalisé une extraction, le rendement massique moyen d'extraction de notre extrait aqueux a été estimé à 0.968%. Cette résultat est largement inférieur par rapport celle de **Bencheikh et al., (2021)** qui ont noté un rendement de 55.24%, dans un extrait aqueux préparé par la même mode d'extraction dans notre étude. Ces derniers ont utilisé 50g de poudre de *Trigonella foenum-greacum L.* avec 500ml d'eau distillée à une température de 100°C. Donc on peut dire que la différence entre les deux résultats due à la différence dans les quantités utilisé et les paramètres de protocole.

Dans une étude réalisée par **Bukhari et al., (2008) [65]**, les résultats ont montré que l'extrait éthanolique de *Trigonella foenum-greacum L.* présent un rendement 25.89% plus supérieur par rapport à notre extrait aqueux de 0.968%.

La différence entre les deux extraits est due aux techniques d'extraction utilisées, qui sont totalement différentes et à la composition chimique qui diffère d'un extrait à l'autre. Par ailleurs cette différence en rendement est lié aux conditions climatiques dures (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité) **Falleh et al., (2008) [67]**.

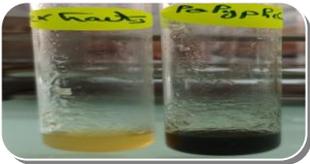
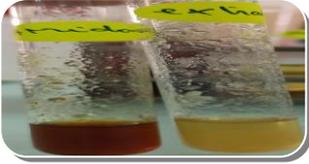


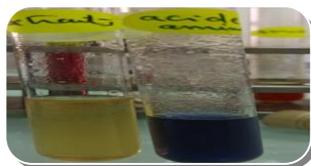
Figure12 : photo de mucilage obtenu
(Photo autonome prise le 24-03-2022)

II.2- Caractérisation de mucilage

Les tests effectués sur nos échantillons ont permis de détecter les différentes familles de composés chimiques dans les extraits préparés.

Tableau 3 : Les résultats de screening phytochimique

Métabolites	Couleurs observés	Résulta
<i>Polyphénols</i>		+++
<i>Flavonoïdes</i>		+++
<i>Tanins</i>		+++
<i>Amidon</i>		++

Acides aminés

+++

Les résultats expérimentaux mentionnés dans le tableau ont montré la présence de certains groupes chimiques : tanins, amidon, acides aminés, polyphénols, Flavonoïdes dans l'extrait brut de graine de mucilage de *Trigonella foenum –graecum L.*

L'étude phytochimique qualitative des extraits bruts de notre plante a révélé la présence d'un nombre important des groupements chimiques de nature variée : polyphénol ,tanin ,amidon , flavonoïde, acide amine. Par contre, les anthocyanes, les coumarines, les terpénoïdes ,les anthraquinones et les composés réducteurs sont pratiquement absents. Tandis que, l'analyse phytochimique de **Yadav *et al.*, (2011) [67]** et **Mishra *et al.*, (2016) [68]**, sur l'extrait des graines de fenugrec ne révèle que la présence des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des terpénoïdes.

Dans l'étude réalisée par **Nagulapalli *et al.* (2017) [05]** les résultats des tests biochimiques ont montré que l'extrait de fenugrec contient plusieurs métabolites qui sont : Saponines et composés stéroïdiens, Fibres alimentaires, Alcaloïdes, Acides aminés Flavonoïdes, Lipides, acides gras et esters, Composés divers, Dérivés phénoliques et acides Vitamines et minéraux. Bien que nos résultats ont : polyphénol, tanin, amidon, flavonoïde, acides aminés.

Les différences observées dans la composition phytochimique entre les différentes études peuvent être expliquées par l'origine de la plante, l'état de maturation, le moment de la récolte et aussi la nature des composés recherchés par chaque étude.

Concernant les doses quantitatives, les possibilités et le temps ne nous ont pas permis de les faire, et cela est dû au manque de réactifs et l'appareillage.

II.3- Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait brut de graine de mucilage de *Trigonella foenum-graecum L.*

Les souches de bactéries (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) ont montré des sensibilités différentes aux antibiotiques standards testés : AMC, CTR, CTP et différentes concentration de l'extrait 100mg/ml, 50mg/ml, 25mg/ml, 12.5mg/ml

Les résultats des zones d'inhibition sont présentés dans les (fig13), (fig14), (fig15) et (tab4).

Tableau 4 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par L'extrait brut de graine de mucilage de *Trigonella foenum-graecum L.*

Souches	AIB disque	C1= 12.5mg	C2=25mg	C3=50mg	C4=100mg
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35mm	10mm	11mm	12mm	12mm
<i>E. coli</i>	6 mm	10mm	14mm	14mm	15mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	35mm	8mm	10mm	12mm	20mm



Figure 13 : L'antibiogramme d'*Escherichia coli*.

Dans l'étude de Alwhibi *et al.*, (2014) sur cinq types des solvants préparés par de graines de fenugrec de deux cultivars : un d'Arabie Saoudite (Al-Qassim) et l'autre du

Yémen, les deux extraits aqueux ont une faible activité antibactérienne contre *Escherichia coli* avec des zones d'inhibitions de 5.2 mm et 6.8 mm pour chacun des extraits de d'Arabie Saoudite et du Yémen successivement.

Par contre, *Escherichia coli* présente une grande sensibilité à notre extrait aqueux des graines sèches de fenugrec avec des ZI de 10mm, 14mm, 14mm et 15mm à des concentrations de 12.5 mg/ml ,25 mg/ml,50 mg/ml et 100 mg/ml respectivement.



Figure14 : L'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa*.

Au cours de notre étude, les résultats obtenus montrent que l'extrait de mucilage concentré (100mg/ml) des graines de *Trigonella foenum graecum* L. avait une forte activité antibactérienne vis-à-vis à la bactérie de *Pseudomonas aeruginosa*. Ceci n'est pas en accord avec les travaux de **Alwhibi et al., (2014) [69]** et **Hazzit et al., (2015) [29]** où l'extrait de fenugrec avait une faible activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*.



Figure 15 : L'antibiogramme de *Klebsiella pneumoniae*.

Au cours d'un travail réalisée par **Alwhibi et al., (2014) [69]** l' extrait aqueux de graines de fenugrec du Yémen a une très faible activité antibactérienne avec une zone d'inhibition de 3.6mm .Tandis que la bactérie *klebseilla pneumonia* a été sensible à l'extrait aqueux de l'autre cultivars (Al-Qassim) .

par un autre étude de **Hazzit et al., (2015) [29]** , l'extrait éthanolique de la plante de *Ruta montana* L a une activité très faible vis-à-vis *klebseilla pneumonia* par contre à nos résultats qui montre que notre extrait de mucilage a une activité antibactérienne supérieure à celui de leur extrait avec un diamètre d'inhibition allant 20mm, cette résultat est en accord avec l'extrait acétonique de *Trigonella foenum-greacum* L. de **Alwhibi et al., (2014) [69]** du Yémen.

A partir de ce résultat, on peut dire que notre plante a eu sa plus grande activité antibactérienne contre la bactérie de *klebsiella pneumonia*.

➤ On remarque que : plus que la concentration est élevé plus que le diamètre de zone d'inhibition est élevé chez les bactéries *E. coli* et *klebsiella pneumonia*.

Concernant *Pseudomonas aeruginosa* la concentration de l'extrait n'influence pas sur la sensibilité de bactérie, alors il est conseillé d'utiliser une faible concentration au traitement pour éviter la résistance acquise.

➤ La bactérie *E. coli* est résistante à la AMC avec de diamètre de zone d'inhibition 6mm, mais sensible à l'extraits.

En vue des résultats obtenus pour l'antibiogramme et tenant compte des concentrations des disques d'antibiotiques, le pouvoir inhibiteur de *Trigonella foenum-greacum* L. sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* est très satisfaisant en comparaison à la CTR et CIP ce qui est très encourageant pour développer des préparations médicamenteuses à base de *Trigonella foenum-greacum* L.

Cela est interprété par le fait que les plantes produisent une variété énorme de petites molécules ayant un large spectre de structures telles que les tannins, les amidons les flavonoïdes et les polyphénols.



CONCLUSION



La valorisation des ressources de la médecine traditionnelle et des plantes locales est un sujet d'actualité, et qui est très important dans la découverte de nouvelles activités des biomolécules des plantes médicinales ou alimentaires.

Nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude phytochimique et l'évaluation du pouvoir antibactérienne de l'extrait aqueux des graines sèches de l'espèce *Trigonella foenum-graecum* L. connu sous le nom de fenugrec cultivé dans la région de Fenoughil contre certains bactéries à gram négatif .

Les résultats obtenus de cette étude nous ont permis de conclure que :

- Les graines de notre plante sont riches en tanins, flavonoïdes, polyphénols, Acides aminés et amidon.
- Les tests d'antibiogramme ont montré que l'extrait aqueux de mucilage a exercé un effet antibactérien intéressant sur *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *E.coli*.

Trigonella foenum-graecum L. est un agent antibactérien naturel et non toxique. Ce qui assure que les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.



REFERENCES



- [1] : Ghourri, M., Zidane, L., & Douira, A. (2013). Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 17(1), 2388-2411.
- [2]: Hamden, K., Keskes, H., Belhaj, S., Mnafigui, K., & Allouche, N. (2011). Inhibitory potential of omega-3 fatty and fenugreek essential oil on key enzymes of carbohydrate-digestion and hypertension in diabetes rats. *Lipids in health and disease*, 10(1), 1-10.
- [3]: Haddouchi, F., Chaouche, T. M., & Halla, N. (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 1-9.
- [4] : Tanoh, S. K., N'Gaman-Kouassi, C., Boa, D., Mamyrbekova-Békro, J. A., & Békro, Y. A. (2019). Activité antioxydante des extraits bruts hydroéthanoliques et hydroacétoniques des organes de quatre plantes de Côte d'Ivoire médicinales. *Nature & Technology*, (21), 28-34.
- [5]: Nagulapalli Venkata, K. C., Swaroop, A., Bagchi, D., & Bishayee, A. (2017). A small plant with big benefits: Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* Linn.) for disease prevention and health promotion. *Molecular nutrition & food research*, 61(6), 1600950.
- [6]: Ngene, J. P., Ngoule, C. C., Kidik, C. P., Ottou, P. M., Dibong, S. D., & Mpondo, E. M. (2015). Importance dans la pharmacopée traditionnelle des plantes à flavonoïdes vendues dans les marchés de Douala est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 88, 8194-8210.
- [7] : SEBAI, M., & BOUDALI, M. (2012). LA PHYTOTHERAPIE ENTRE LA CONFIANCE ET MEFIANCE. chlef: Institut de formation paramédical CHETTIA.
- [8]: Naeem ,m., Aftab ,T., Masroor , m., Khan ,A .,Ratnakar, A. & A. Rai.(2014) Fenugreek: Biology and Applications p5_6_7.
- [9]: Basu, S. K. (2006). *Seed production technology for fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) in the Canadian prairies* (Doctoral dissertation, Lethbridge, Alta.: University of Lethbridge, Faculty of Arts and Science, 2006).
- [10]: Branch, S. (2013). Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) as a valuable medicinal plant. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 1, 922-931.
- [11] : Oueslati, H. A., & Ghédira, K. (2015). Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonella foenum-graecum*. *Phytothérapie*, 13(4), 234-238.

- [12] : BATTA, H., & BOUZIDI, N. (2017). *Contribution à l'étude de protéines de fenugrec *Trigonella foenum-gracum* L.(Fabacées) et évaluation de leur fonctionnalité alimentaire* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Boudiaf, M'sila).
- [13]: Mehani, M., & Segni, L. (2012). Antimicrobial Effect of Essential oil of Plant *Trigonella foenum-gracum* on some Bacteria Pathogens. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 69, 358-361.
- [14]: HADDOUCHI, F., & BENMANSOUR, A. (2008). Huiles essentielles, obtentions, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoire*, 3(8).
- [15] : Chaabani, E. (2019). *Eco-extraction et valorisation des métabolites primaires et secondaires des différentes parties de *Pistacia lentiscus** (Doctoral dissertation, Université d'Avignon ; Université de Carthage (Tunisie).
- [16] : Cuendet M., (1999). Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : « *Fagraea blumei* » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : « *Bartsia alpina* » (Scrophulariaceae), « *Loiseleuria procumbens* » (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat, p 24.
- [17] : Lebham., (2005). Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).
- [18] : RAHMANI, M. (2017). *Etude physiologique et valorisation des plantes fourragères et médicinales dans la wilaya de Sidi Bel-Abbés, Algérie occidentale: Cas de Fenugrec (*Trigonella foenum-gracum* L.)* (Doctoral dissertation).
- [19] : Kansole .R., (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* Vahl et *Orthosiphon pallidus* Royle ex Benth. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.
- [20]: Harborne, A. J. (1998). *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. Springer science & business media.
- [21] : Bruneton J., (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2eme édition, Paris : Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisier, p 1120.

- [22]: Marzougui, N., Elfalleh, W., Boubaya, A., Guasmi, F., Ferchichi, A., Lachieheb, B. and BeJi M., (2010). Répercussion de la polyplôidie sur le profil moléculaire ISSR et sur les contenus en vitamines et en protéines chez *Trigonella foenum-graecum* L. *Acta Bot. Gallica*, 157(1), 89- 99
- [23]: Sauvaire, Y., Petit, P., Broca, C., Manteghetti, M., Baissac, Y., Fernandez-Alvarez, J., ... & Ribes, G. (1998). 4-Hydroxyisoleucine : a novel amino acid potentiator of insulin secretion. *Diabetes*, 47(2), 206-210.
- [24]: Ahmad, A., Alghamdi, S. S., Mahmood, K., & Afzal, M. (2016). Fenugreek a multipurpose crop: Potentialities and improvements. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(2), 300-310.
- [25]: Ravikumar, P., & Anuradha, C. V. (1999). Effect of fenugreek seeds on blood lipid peroxidation and antioxidants in diabetic rats. *Phytotherapy research*, 13(3), 197-201.
- [26]: TAHRI, N., EL BASTI, A., ZIDANE, L., ROCHDI, A., & DOUIRA, A. (2012). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la province de Settât (Maroc). *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 12(2), 192-208.
- [27]: Kaviarasan, S., & Anuradha, C. V. (2007). Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seed polyphenols protect liver from alcohol toxicity: a role on hepatic detoxification system and apoptosis. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62(4), 299-304.
- [28]: Rquibi M. *et al*, *East Mediterr Health J*. 2006 Sep ; 12(5) :619-24.
- [29]: Hazzit, M., Benchabane, A., Baaliouamer, A., Alloun, K., & Kaci, M. COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE DE L'EXTRAIT NON VOLATIL ET DES HUILES ESSENTIELLES DE LA RUE DES MONTAGNES (*Ruta montana* L.).
- [30] :Rouibi, A. (2018). Propriétés pharmacologiques de l'extrait aqueux et des huiles essentielles des graines de fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.). *AGROBIOLOGIA*, 8(1), 913-919.
- [31]: Harchane, H., El Addas, H., Amsaguine, S., El Amrani, N., & Radallah, D. (2012). Effets de l'extrait aqueux des graines du fenugrec (*Trigonella foenum graecum*) sur l'amélioration du profil lipidique et la prise de poids chez le rat. *Phytothérapie*, 10(6), 357-362

- [32]: Morhange, C., Marriner, N., Blot, M. L., Bony, G., Carayon, N., Carmona, P., ... & Porotov, A. (2015). Dynamiques géomorphologiques et typologie géoarchéologique des ports antiques en contextes lagunaires. *Quaternaire. Revue de l'Association française pour l'étude du Quaternaire*, 26(2), 117-139.
- [33] : Radhia REMICHE, K. B. Etude des quelques caractéristiques phytochimiques d'un hydrodistillat «extrait traditionnel» de la plante médicinale «Artemisia herba alba»
- [34]: Ravikumar, P., & Anuradha, C. V. (1999). Effect of fenugreek seeds on blood lipid peroxidation and antioxidants in diabetic rats. *Phytotherapy research*, 13(3), 197-201.
- [35]: Bi, X., Lim, J., & Henry, C. J. (2017). Spices in the management of diabetes mellitus. *Food chemistry*, 217, 281-293.
- [36]: Meghwal, M., & Goswami, T. K. (2012). Effect of moisture content on physical and textural properties of fenugreek seeds. *Food In: Global Science Books*, 6(1), 14-21.
- [37] : Rabie, S., Berkani, A. (2014-2015). Contribution à l'étude des propriétés émulsifiantes du mucilage extrait à partir des graines de « Trigonella foenum-graecum »
- [38]: Franz, G. (1979). Metabolism of reserve polysaccharides in tubers of *Orchis morio* L. *Planta medica*, 36(05), 68-73.
- [39]: Deore, S. L., & Khadabadi, S. S. (2008). Standardisation and pharmaceutical evaluation of *Chlorophytum borivillianum* mucilage. *Rasayan J Chem*, 1(4), 887-92.
- [40]: Clarke, A. E., Anderson, R. L., & Stone, B. A. (1979). Form and function of arabinogalactans and arabinogalactan-proteins. *Phytochemistry*, 18(4), 521-540.
- [41]: Wanasundara, P. K. J. P. D., & Shahidi, F. (1997). Removal of flaxseed mucilage by chemical and enzymatic treatments. *Food chemistry*, 59(1), 47-55.
- [42]: Singer, M. (1981). Permeability of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine bilayers. *Chemistry and Physics of Lipids*, 28(3), 253-267.
- [43] : Ilhem, B., & Sarra, B. (2019). *Dosage des composés phénoliques et détermination de l'activité antioxydante de Linum usitatissimum L* (Doctoral dissertation).
- [44]: Jacoby, G. A., & Archer, G. L. (1991). New mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *New England Journal of Medicine*, 324(9), 601-612
- [45]: Présentation des bactéries Gram négatives Par Larry M. Bush , MD, FACP, Charles E. Schmidt College of Medicine, Florida Atlantic University.

- [46] : FERRON A., (1983) Bactériologie medicale.12 ème édition. LA MADELEINE : C etR : 88-135
- [47] : AVRIL J.L., DABERNAT, H., DENIS F. (1992) .Bactériologie Clinique. 2ème édition.Paris : édition Marketing : 9 – 195.
- [48] : LE MINOR L., SANSONETTI P.H., RICHARD CI. (1990) .Entérobactéries. In Bactériologie Médicale. 2ème édition. Paris : Flammarion, 389p.
- [49] : FLANDROIS J.P. Bactériologie Médicale. Lyon : Presses Universitaires de Lyon, 1997 : 107 – 180.
- [50] : Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X., & Gardan, L. (2000). The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*:current status and need for revision. *Agronomie*, 20(1), 51-63.
- [51]:Schroth, M. N., Hildebrand, D.C. ET Panopoulos, N. (2006). Pseudomonads and Related Plant-Associated Pseudomonads. *Prokaryotes*. 6:714–740. DOI : 10.1007/0-387-30746-x_23.
- [52]: Bouskraoui, M., Zouhir, S., ,Soraa ,N., Benaouda ., Zerouali ,K ., Mahmoud , M. Société marocaine d'Infectiologie Pédiatrique et de vaccinologie.
- [53] : Bactériologie.Centre médical Réaumur : Paris(2016).
- [54]: Van Bambeke, F., & Pharm, S. (2007). Pharmacologie et Pharmacothérapie anti-infectieuse. *Syllabus Natl Belge Pharmacol*, 2008, 1-134
- [55]: Leclercq, R., Huet, C., Picherot, M., Trieu-Cuot, P., & Poyart, C. (2005). Genetic basis of antibiotic resistance in clinical isolates of *Streptococcus gallolyticus* (*Streptococcus bovis*). *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(4), 1646-1648
- [56] : [Journal officiel de la République Algérienne \[archive\]](#), 19 décembre 1984. Décret n° 84-365, fixant la composition, la consistance et les limites territoriale des communes. Wilaya d'Adrar, [page 1472](#).
- [57] :<https://www.distancede.com/dz/distance-entre-adrar-et-fenoughil-algerie/HistoiredDistance/1566049.aspx>
- [58]: Shubham, V., Jharna, B., Nitin, K., Rishabha, M., & Kumar, S. P. (2014). Isolation And Characterization Studies Of Mucilage Obtained From *Trigonella Foenum Greacum* L. Seed

And Tamarindus Indica Polysaccharide As A Pharmaceutical Excipient. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 4(3), 106-109.

[59]: Karumi, Y. (2004). Identification of Active Principles of M. balsamina (Balsam Apple) Leaf Extract Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ougbuaja. *Journal of Medical Sciences*, 4(3), 179-182.

[60]: Trease, G. E., & Evans, M. C. (1989). Text book of Pharmacognosy 13th Edition Bailliere Tindall, London, Toronto. Tokyo. Pgs, 200-201.

[61]: BOUSKRAOUI, M., ZOUHAIR, S., SORAA, N., BENAOUA, A., ZEROUALI, K., & MOHMOUD, M. (2017). Guide pratique des bactéries pathogènes. Marrakech : Société Marocaine d'infectiologie pédiatrie et de vaccinologie.

[62] : SAADI, S. (2009). Détection et caractérisation de bactériocines produites par des soches de rhizobia contre des souche de pseudomonas phytopathogènes . Oran : UNIVESITER D'ORAN ES-SENIA.

[63] : Bhangar, M. I., Bukhari, S. B., & Memon, S. (2008). Antioxidative activity of extracts from a Fenugreek seeds (Trigonella foenum-graecum). *Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry*, 9(2), 6.

[64]: Ela M.A., El-Shaer N.S. et Ghanem N.B. (1996) Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and tixed olls. *Pharmazie*; 51 pp.993-995.

[65]: Bhangar, M. I., Bukhari, S. B., & Memon, S. (2008). Antioxidative activity of extracts from a Fenugreek seeds (Trigonella foenum-graecum). *Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry*, 9(2), 6.

[66]: Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372-379.

[67]: Yadav, R., Kaushik, R., & Gupta, D. (2011). The health benefits of Trigonella foenum-graecum: A Review. *Int J Eng Res Appl*, 1, 32-35.

[68]: Mishra, R., Mandloi, S., Yadav, N., & Choithani, J. (2016). Phytochemical analysis of trigonella foenum graecum and its antibacterial activity against staphylococcus aureus.

[69]: Alwhibi, M. S., & Soliman, D. A. (2014). Evaluating the antibacterial activity of fenugreek (Trigonella foenum-graecum) seed extract against a selection of different pathogenic bacteria. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 8(2), 817-821.

Annexes

Annexe 1 : Appareillage et verrerie

Tableau : Appareillage et verrerie utilisée.

Appareillages	Verreries	Matériels pour test de sensibilité
Centrifugeuse Bain-marie Étuve Baron magnétique balance Vortex Thermomètre	Éprouvette, Entonnoir, Erlenmeyer Béchers,	Boites de pétri stérile. pipettes Pasteur stérile, micropipettes, embouts pour micropipettes stérile, tubes à essai stérile, bec bunzen, étuve, GN, pince.

Annexe 2 : Réactifs



-Solution ninhydrique préparée dans l'acétone ou éthanol.

-KI + I₂ diluée = 1.2g d'I₂ + 2.5g de KI + 500ml d'eau distillé.

-Hcl.

I₂ / KOH / KI / FeCl₃

Annexe 3



Figure : Méthode d'antibiogramme (méthode de diffusion par puits).