

République algérienne démocratique et populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
Université d'Abderrahmane mira Bejaia  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département de biologie physico-chimique  
Spécialité Pharmacotoxicologie



# Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme de

## Master

Option : Pharmacotoxicologie

### Thème

**Activité antibactérienne des extraits  
de *Centaurea calcitrapa. L* et de *Pistachia lentiscus. L***

Présenté par : SLAIM Meriem & TEBRI Yasmine

Soutenu le : 15 / 09 /2022

Devant le jury :

- |                      |                       |            |
|----------------------|-----------------------|------------|
| ➤ Président (e) :    | Mme ABDERAHIM.S       | MCB        |
| ➤ Encadreur(e) :     | Mme AYOUNI .K         | MCB        |
| ➤ Co- Encadreur(e) : | Mme Kendi Epse KARA.S | MAA        |
| ➤ Examineur :        | Mr. BELKACEM .N       | MAB        |
| ➤ Invitée:           | Mme.Kadi.R            | Doctorante |

Année universitaire : 2021 /2022

# Remerciements

Nous tenons à remercier en premier lieu Dieu le tous puissant de nous avoir donné la volonté et la patience d'achever ce travail.

Nos vifs remerciements et notre profonde gratitude à **Mme AYOUNI Karima** de nous avoir encadré et pour ses conseils et remarques précieuses, ainsi **Mme KARA Salima** de nous avoir Co-encadré dans notre mémoire de fin de cycle master, merci pour votre disponibilité et vos encouragements.

Un grand merci aux membres du jury qui ont accepté de juger ce travail.

**A Mme ABDERAHIM Sabiha** pour le grand honneur de présider le jury.

**A Mr BELKACEM Nassim** pour avoir examiné ce travail.

Nous remerciant également les personnels du laboratoire Biochimie Appliquée, de nous offrir l'opportunité de faire ce travail, notamment les doctorantes Melle KADI Radia un grand merci, Melle ATIA Amina et Melle SAIDEN Naima, sans oublier ZAIDI Sid-Ali, pour leurs aides, informations en or et disponibilité.

Un grand merci à nos parents et familles pour leur soutien aussi bien moral que financier.

Merci nos chers professeurs d'UAMB pour votre sacrifices, de nous avoir enseignées durant notre cursus universitaire.

*Merci*

# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à ceux qui ont tout sacrifié pour moi*

*A mes chers parents*

*Pour leur amour inestimable, à ma chère maman Saida pour ses sacrifices, sa confiance et toutes les valeurs qu'elle a su m'inculquer, ma bougie J'ai réussi grâce à tes prières.*

*A mes adorables grands parents*

*Djeddi Boualem et Setti Aicha*

*Pour tout l'amour qu'ils m'ont donné et leurs encouragements durant tout le parcours de ma vie. Que dieu vous protège et vous garde.*

*A mes oncles*

*Un par un, du plus grand vers le petit*

*Khali Hadj Mohamed, Khali Fatah, Khali Kamel*

*pour leurs amour et aide morale et financière. Que Dieu vous garde.*

*A mes tantes*

*Nora, Naima, Razika, Fadila, Wahiba*

*A mes belles tantes*

*Meriem et Nadjema*

*Merci pour votre encouragement de proche et de loin mes chéries vous êtes mes sœurs.*

*A mes cousines et cousins*

*Votre bonheur est ma joie, Que Dieu vous garde et vous aide à réaliser vos vœux les plus chers.*

*A tous les membres de ma famille **SLAIM***

*A mes chères amies Karima, Yasmine, Nora, Chanez, Celia, Sarah,*

*Wissam et toutes mes amies depuis mon enfance.*

*A toute la promotion Pharmacotoxicologie et mes chers enseignants d'Université d'Abderrahmane mira de Bejaïa*

*A ceux qui ont été là pour moi et que j'ai oublié de citer.*



**SLAJM Meriem**

# Dédicace

*A terme de ce parcours, je remercie enfin celles et ceux qui me sont chers et que j'ai quelque peu délaissés ces derniers mois pour achever ce travail. Leurs attentions et encouragements m'ont accompagnée tout au long de ces années.*

*Je dédie ce travail à*

*Allah le tout puissant, Qui m'a permis de voir ce jour tant attendu*

*A la mémoire de mes grands-parents maternels Jedi Larbi et Nana Taous, à ma grande mère paternelle et mon cher oncle Khali Kamal, vous me manquez énormément que Dieu vous accueille dans son vaste paradis inchallah*

*A mes grands-parents paternels Jedi Akli et Nana Houria Dieu vous garde inchallah*

*A ma très chère mère **Malika***

*A la plus douce, la plus combattante et merveilleuse de toutes les mamans. A une personne qui m'a tout donné sans compter. Aucun hommage ne saurait transmettre à sa juste valeur, tu m'as fait appris les premières lettres d'alphabets, tu n'as pas cessé de m'encourager, ton amour et ta présence constante ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Tes prières ont été un grand soutien pour moi tout au long de mes études. Puisse Dieu tout puissant te protéger du mal, te procurer longue vie, santé et bonheur afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois. Je t'aime maman chérie.*

*A mon très cher papa **Hocine***

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour toi. Merci pour l'éducation et les valeurs que tu m'as appris. Que Dieu t'apporte santé, bonheur et longue vie. Je t'aime papa.*

*A mes très chers frères Mouhamad Lamine et Omar*

*Vous êtes mes héros mes anges mon tout, vous êtes la lumière de ma vie votre amour inquiétude, tendresse et générosité et votre soutien tout au long de ma vie. Vous êtes mes frères et sœurs et vous avez même était mère et père pour moi, sans vous ma vie est incomplète. Je suis tellement fière et chanceuse que je remercie Dieu de vous avoir dans ma vie. Je vous aime tellement mes chers frères je supplie Dieu que je puisse un jour vous rendre un peu de ce que vous me faites et qu'il vous garde et vous apporte le bonheur, la réussite dans votre vie.*

*A ma belle-sœur Marina et mon petit ange qui va bientôt arriver inchallah en bonne santé et qu'il illumine notre maison je demande Dieu qu'il vous protège, Je vous aime.*

*A mes chers oncles Houcem et Farid*

*Houcem t'es loin mais t'es toujours dans nos cœurs, je prie Dieu de vous protéger et vous apporter bonheur et réussite dans chaque chemin que vous en prenez.*

*A mes chères et tendres tantes Nabila, Ghania, Lili, Sihem et Aicha je vous aime.*

*A mes cousines Tinhinane, Imilia et Malak et mes petits cousins Ayoub, Seddik et Adam et à toute ma famille.*

*A mes copines Karima, Meriem, Hanane, Sarah et Wissam*

*A tous la promotion Pharmacotoxicologie 2022 et tous mes profs de mon parcours*

*A toute personne qui à contribué à ce mémoire de près ou de loin*

*CE MOMOIRE est dédié pour vous tous, merci beaucoup ....*

**YASMINE**



## *Liste des abréviations*

---

<b>Abréviations</b>	<b>Mot ou expression</b>
<b>ABC</b>	ATP Binding Cassette
<b>ADN</b>	Acide Désoxyribose Nucléique
<b>CMI</b>	Concentration minimale inhibitrice
<b>DMSO</b>	Diméthylsulfoxyde
<b>EAG</b>	Equivalent acide gallique
<b>FPP</b>	Farnesyl pyrophosphate
<b>GPP</b>	Précurseur de monoterpène
<b>IPP</b>	Isopentenyl pyrophosphate
<b>MATE</b>	Multidrug And Toxic compound Extrusion
<b>MBC</b>	Minimum bactéricide concentration
<b>MDR</b>	Multi drug résistance
<b>MFS</b>	Major Facilitator Super family
<b>MRSA</b>	Methicillin resistant staphylococcus aureus
<b>MH</b>	Mueller Hinton
<b>PACE</b>	Proteobacterial Antimicrobial Compounds Efflux
<b>RND</b>	Resistance Nodulation cell Division
<b>SMR</b>	Small Multi drug Résistance

## *Liste de figures*

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
<i>01</i>	<i>Centaurea calcitrapa (Purple Starthistle)</i>	<b>04</b>
<i>02</i>	<i>Pistacia lentiscus L.</i>	<b>05</b>
<i>03</i>	Structure chimique de la cnicine	<b>08</b>
<i>04</i>	Structure chimique de $\beta$ -Sitosterol	<b>08</b>
<i>05</i>	Squelette de base des flavonoïdes	<b>09</b>
<i>06</i>	Structure de l'Apigénine	<b>09</b>
<i>07</i>	Structure chimique de flavonol	<b>10</b>
<i>08</i>	Structure chimique de la quercétine	<b>10</b>
<i>09</i>	Structure de la myricétine	<b>10</b>
<i>10</i>	Structure chimique des tannins hydrosolubles	<b>11</b>
<i>11</i>	Séchage des parties <i>Centaurea calcitrapa</i> et <i>Pistacia lentiscus</i>	<b>17</b>
<i>12</i>	Extraction éthanolique par macération et séchage au rotavapeur	<b>18</b>
<i>13</i>	(A) Extraction par soxhlet (B) composantes du soxhlet	<b>19</b>
<i>14</i>	Teneur en composés phénoliques pour les deux extraits éthanolique de <i>Centaurea calcitrapa</i> et <i>Pistacia lentiscus</i>	<b>25</b>
<i>15</i>	Illustration de la sensibilité de quelques souches aux extraits étudiés ( <i>Pistacia lentiscus</i> : B=Feuilles,C= Graines ; <i>Centaurea calcitrapa</i> : G=Feuilles ,H=épines)	<b>28</b>
<i>16</i>	Histogramme des diamètres de zones d'inhibition (mm) en fonction de la concentration en extraits de <i>C. calcitrapa</i> (mg /Disque).	<b>29</b>
<i>17</i>	Histogramme des diamètres de zones d'inhibition (mm) en fonction de la concentration en extraits de <i>P. lentiscus</i> (mg /Disque).	<b>29</b>

## Liste des tableaux

---

---

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Classification hiérarchique (Taxonomie) de <i>Centaurea calcitrapa</i>	<b>03</b>
<b>II</b>	Classification hiérarchique (Taxonomie) de <i>Pistacia lentiscus</i>	<b>06</b>
<b>III</b>	Les rendements des extraits éthanoliques de <i>Centaurea calcitrapa</i> et <i>Pistacia lentiscus</i>	<b>24</b>
<b>IV</b>	Concentrations minimales inhibitrices (mg/ml) de la croissance bactérienne par les extraits de feuilles et épines de <i>C.calcitrapa</i> et feuilles et graines de <i>P.lentiscus</i> .	<b>32</b>

# Table des matières

*Liste des abréviations*

*Liste de figures*

*Liste des tableaux*

**Introduction ..... 01**

## **Chapitre I : Revue bibliographique**

I.1. <i>Centaurea calcitrapa</i> .....	03
I.1.1. Description .....	03
I.1.2. Distribution géographique.....	04
I.1.3. Utilisation en médecine.....	04
I.2. <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	05
I.2.1. Description... ..	05
I.2.2. Distribution géographique.....	06
I.2.3 Utilisation en médecine.....	06
I.3. Les métabolites .....	07
I.3.1. Les métabolites primaires.....	07
I.3.2. Les métabolites secondaires .....	07
I.3.2.1. Métabolites secondaires de <i>Centaurea calcitrapa</i> L.....	07
I.3.2.1. Métabolites secondaires de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	09
I.4. Activité antibactérienne .....	12
I.4.1. Activité antibactérienne de <i>Centaurea calcitrapa</i> L.....	12
I.4.2. Activité antibactérienne de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	12
I.5. Les infections bactériennes .....	13
I.5.1. Les facteurs de pathogénicité microbienne.....	13
I.5.2. Les antibiotiques .....	13
I.6. La résistance bactérienne .....	14
I.6.1. Mécanismes de résistance bactériens .....	15

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

<b>II.1 Matériel .....</b>	<b>16</b>
II.1.1 Matériel biologique.....	16
II.1.1.1 Choix des plantes <i>Centaurea calcitrapa</i> et <i>Pistacia lentiscus</i> .....	16
II.1.1.2 Les souches bactériennes.....	16
II.1.2 Matériel non biologique.....	16



# Table des matières

<b>II.2 Méthodes</b> .....	<b>17</b>
II.2.1. Préparation des poudres sèches .....	17
II .2.2 Méthodes d'extraction .....	17
II .2.2.1 Extraction par macération de la plante <i>Centaurea calcitrapa</i> .....	17
II.2.2.2 Extraction par soxhlet de la plante <i>Pistacia lentiscus</i> .....	18
II.2.3 Préparation des solutions d'extraits de plantes utilisés dans les tests.....	18
II.3 Rendement des extractions .....	19
II.4 Dosage des polyphénols totaux des deux plantes.....	19
II.5 Méthodes microbiologiques .....	20
II. 5.1 Préparation de la solution Mc Farland .....	20
II .5.2 Effet antibactérien des différents extraits de feuilles, épines et graines des espèces végétales <i>Centaurea calcitrapa et Pistacia lentiscus</i> .....	20
II .5.2.1 Préparation de l'inoculum bactérien .....	20
II.5.2.2 Méthode de diffusion en milieu gélosé.....	21
II.5.2.3 Méthode de diffusion en milieu liquide.....	22
<b>Chapitre III : Résultats et discussion</b>	
III.1 Méthodes d'extraction et taux des extraits .....	24
III.2 Résultats de dosage des polyphénols totaux .....	25
III.3 Résultats des tests antibactériens.....	27
III.3.1 Résultats des tests de diffusion sur milieu solide (Disques) .....	27
III.3.2 Résultats des tests de diffusion sur milieu liquide (Microplaque) .....	32
<b>Conclusion</b> .....	<b>34</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>35</b>
<b>Annexes</b> .....	<b>42</b>



# Introduction



# Introduction

---

Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Elles sont dérivées soit de plantes entières, soit de parties de plantes (feuilles, pédoncules, bourgeons, fleurs, racines, tubercules). Ces végétaux incluent les herbes simples, les préparations traditionnelles et les mélanges d'herbes à une médication occidentale active. Les plantes possèdent plusieurs principes actifs qui leurs permettent d'avoir des vertus sur l'organisme **(Ezzahra, 2018)**.

La famille des Astéracées est la plus vaste famille de la division des spermatophytes et la plus étudiée, avec plus de 900 genres et au moins 12 000 espèces répandues sur toute la planète **(Ayad, 2013)**. Le grand genre *Centaurea* (Astéracée) a été largement utilisé dans la médecine traditionnelle dans de nombreux pays. Diverses espèces de ce genre ont été étudiées pour leurs propriétés microbiologiques et biologiques d'un point de vue antioxydant **(Dob et al., 2011)**. Par ailleurs, la famille des Anacardiacees comprend 600 à 700 espèces regroupées, dans 70 à 77 genres. La plupart des espèces sont distribuées dans les régions intertropicales. Certains genres (*Rhus*, *Pistacia*, *Cotinus*) comptent quelques représentants extratropicaux **(Morat, 1997)**.

Les pathologies infectieuses sont causées essentiellement par des bactéries et dont les manifestations sont en fonction de l'organe atteint **(Coulibaly, 2007)**. Les plus couramment rencontrées sont les suivantes : la méningite, la pneumonie, la pleurésie, les arthrites, la fièvre typhoïde, la septicémie et la pyomyosite **(Attarassi et al., 2009)**, mais aussi on trouve des pathologies infectieuses dont l'agent pathogène n'est pas forcément une bactérie, mais peut être due à un virus, un parasite ou tout autre agent pathogène **(Coulibaly, 2007)**.

La résistance de ces bactéries aux antibiotiques désarme souvent les médecins face à certaines infections d'origine bactérienne, donc il est important d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et surtout vers les plantes qui sont la base à de nouveaux médicaments. Certaines de ces bactéries ont un effet bénéfique sur l'organisme, comme celles qui vivent dans l'intestin et contribuent à la digestion, et celles qui sont présentes en permanence sur la peau et empêchent les bactéries pathogènes de la coloniser. D'autres sont pathogènes et à l'origine de nombreuses affections. L'activité antimicrobienne *in vitro* d'une substance ou d'un extrait peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide **(Ayad, 2013)**.

# Introduction

---

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude, ayant comme objectif l'investigation de l'activité antibactérienne d'extraits éthanoliques de différentes parties de *Centaurea calcitrapa* de la famille des astéracées et *Pistacia lentiscus* de la famille des Anacardiacees. Ce travail est axé sur trois chapitres essentiels :

Le premier chapitre, consacré à l'étude bibliographique des deux plantes *Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus*, leurs présentations et leurs métabolites secondaires, suivi d'un aperçu sur les infections bactériennes ainsi que les mécanismes de résistances des bactéries aux antibiotiques.

Le deuxième chapitre concerne la partie expérimentale relative à nos travaux. Nous avons procédé à l'extraction éthanolique à partir de *Centaurea calcitrapa* (feuilles et épines) et *Pistacia lentiscus* (feuilles et graines), à leurs rendements d'extraction et les teneurs en polyphénols totaux. Par ailleurs, nous avons réalisé des tests d'antibiogrammes (sur gélose et milieu liquide) avec les extraits sur des souches bactériennes pathogènes à fin d'évaluer leurs effets.

Le troisième et dernier chapitre rapporte les discussions des résultats concernant le rendement d'extraction, en teneurs de polyphénols et l'effet de *Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus* sur la croissance bactérienne, avec une caractérisation de cette activité par la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI), suivies d'une conclusion générale.



# Chapitre I

## Revue bibliographique



## I.1. *Centaurea calcitrapa* L.

### I.1.1. Description

Le nom de genre *Centaurea* vient du grec Kentaurion : le centaure Chiron qui dans la mythologie, a utilisé cette plante pour se soigner. *Calcitrapa* signifie qui piège ou qui s'accroche aux chaussures (GIFA, 2012). C'est un genre de plante herbacée annuelle ou bisannuelle, de la famille des Astéracées (Aster) (Tableau I), atteignant 3,5 pieds (CTUIR, 2014), communément connu sous le nom de chardon pourpre (Dimkić *et al.*, 2020). *Centaurea calcitrapa* L. (Figure 01) forme une rosette basale de feuilles alternes de 4 à 8 pouces de long à poils fins avec des tiges ramifiées (CTUIR, 2014). L'involucre de cette espèce est ovoïde, possède de longues épines jaunes à l'extérieur, caractéristique de ces espèces. Par ailleurs, ses capitules floraux sont sessiles, disposés latéralement au sommet de la pousse avec de nombreuses fleurs tubulaires rouge pourpre vif (Dimkić *et al.*, 2020). Ce genre de plante fait sa reproduction par graines sans plumes, se forme au printemps, puis fleurit du milieu de l'été à l'automne (CTUIR, 2014).

**Tableau I** : La classification hiérarchique (Taxonomie) de *Centaurea calcitrapa* L.1753, selon l'inventaire national du patrimoine naturel (INPN, 2003).

Taxonomie	
Domaine	Botanique
Règne	Plante
Classe	Dicotylédones
Ordre	Astrales
Famille	Astéracées
Genre	<i>Centaurea</i> L.
Espèce	<i>Centaurea calcitrapa</i> L.

*Centaurea calcitrapa* L. est connue sous le nom local *Hassak* et *Bou Neggar* (Dob *et al.*, 2009). Les arabes l'ont nommée aussi *Ad Dardariyah*, *Bou Shweika*, *Murrâr*, *Murrayr* et *Nowar Bellaremj*. Les anglais lui ont donnée les noms de *Caltraps*, *Common Star Thistle*, *Corn Flower*, *Mouse Thorn*, *Purple Star Thistle*, *Red Star Thistle*, *Star Thistle*, et les français l'ont appelée *Centauree Chausse-Trape*, *Chardon Étoilé* et *Chausse trape* (Duke, 1929).



Figure 01 : *Centaurea calcitrapa* (Purple Star thistle) (CTUIR, 2014).

## I.1.2. Distribution géographique

*Centaurea calcitrapa* est répandu dans l'ouest et la partie sud de l'Europe centrale, de l'Afrique du Nord et de l'Asie occidentale jusqu'au nord-ouest de l'Inde (Dimkić *et al.*, 2020). Elle est présente autour du bassin méditerranéen et très commune en Algérie (GIFA, 2012). Elle pousse le long des routes, dans les endroits des déchets, entre les rails et elle préfère les endroits rocaillieux, arables pentes terrestres, ensoleillées et chaudes (Dimkić *et al.*, 2020). Elle se trouve aussi dans les champs, les pâturages ainsi que les sites perturbés (CTUIR, 2014), les cultures, les lieux incultes et les décombres (GIFA, 2012).

## I.1.3. Utilisations en médecine traditionnelle

Les espèces de *Centaurea* ont été utilisées, pour des centaines d'années, en médecine populaire pour le traitement de diverses maladies comme anti-diarrhéiques, anti-inflammatoires, antirhumatismales, antipyrétiques, antibactériennes et cytotoxiques (Dimkić *et al.*, 2020). Indiquées en cas d'aménorrhée, d'anorexie, de coups de froid, de cors dyskinésie, de fistule, de grippe, de calculs biliaires et rénaux, de gravier, d'hypertension artérielle, d'hyperglycémie, de jaunisse, de paludisme, de néphrose, d'ophtalmie, ... (Duke, 1929). Le Chardon étoilé est utilisé contre la fièvre, selon Ibn al Beithar, « elle est salutaire contre les anciennes fièvres » (GIFA, 2012).

Il s'est montré que les jeunes le consomment crues en Égypte, comme herbe potagère, par ailleurs les Bédouins récoltent les graines oléifères et les broient pour en faire de la nourriture. Les argentins utilisent le jus pour traiter les cors mais les européens prennent de la poudre de graines dans le vin pour les pierres et utilisent des racines en poudre aussi pour la fistule et le gravier. D'autres part, les Libanais mangent des tiges bouillies pour la jaunisse et le prends avec des herbes dilatantes comme la belladone pour aider à faire passer les calculs biliaires et rénaux. Par ailleurs les Maghrébins considèrent les graines comme anodines, antilithiques,

fébrifuges et vulnéraires, en utilisant la plante entière pour le paludisme et l'ophtalmie, et les feuilles pour les maux de tête. Les Portugais utilisent les fleurs et les feuilles comme fébrifuges et vulnéraires, et les racines et les fruits comme diurétiques. En fin, les Espagnols suggèrent la plante pour l'anorexie, le rhume, le diabète, la dyspepsie hépatobiliaire, l'hyperglycémie, la dyspepsie hypo sécrétoire, la grippe et les plaies (Duke, 1929).

Cependant, il faut faire très attention pendant l'usage de cette plante, car elle est Contre-indiquée chez la femme enceinte et allaitante, aussi les diabétiques doivent surveiller les niveaux d'insuline (Duke, 1929).

## I.2 *Pistacia lentiscus* L.

### I.2.1 Description

Le pistachier lentisque « *Pistacia lentiscus* L. » de la famille d'anacardiacees (Tableau II), couramment appelé « *Dro* » en arabe local est un arbrisseau ramifié de trois mètres de hauteur, à odeur de résine fortement âcre. Ses feuilles composées paripennées (Bammou *et al.*, 2015), à 4-10 folioles elliptiques-obtuses, mucronulées, coriaces, luisantes en dessus, mates et pâles en dessous avec pétiole étroitement ailé, ses fleurs sont maron en grappes spiciformes denses, pédicelles très courts. Cet arbrisseau possède un petit fruit, subglobuleux, apiculé, rouge, puis noir à la maturité (1) (Figure 02).



Figure 02 : *Pistacia lentiscus* L. (Bammou *et al.*, 2015).



**Tableau II** : La classification hiérarchique (Taxonomie) de *Pistacia lentiscus* L. 1753 selon l'inventaire national du patrimoine naturel (INPN ,2003).

Taxonomie	
Domaine	Botanique
Règne	Plante
classe	Dicotylédones
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceae
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia lentiscus</i>

## I.2.2 Distribution géographique

On le rencontre en plaines, basses et moyennes montagnes, sous bioclimat semi-aride, subhumide, humide et per humide. Les variantes thermiques sont chaudes à fraîche et les substrats sont de type marneux ou argileux. Du point de vue étage de végétation, le lentisque s'encarte en infra méditerranéenne et thermo méditerranéenne (**Bammou et al., 2015**).

## I.2.3 Utilisation en médecine traditionnelle

*Pistacia lentiscus* L. est connu pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité, les médecines traditionnelles pratiquées de part et d'autre des rives de la méditerranée, attribuent au lentisque des vertus dans le traitement des ulcères, l'hypertension, la toux, les maux de gorge, l'eczéma, des calculs rénaux et la jaunisse (**Bammou et al., 2015**). Les feuilles de cette plante par décoction sont utilisées pour laver la bouche en cas de maux de dents, par infusion par voie per os pour la jaunisse et les problèmes respiratoires et les manger tels qu'ils sont pour les problèmes d'énurésie, de diarrhée, de maux de ventre. L'extraction aqueuse de ses feuilles utilisées par voie externe pour les infections mycosiques du cuir chevelu, hépatoprotecteur, antioxydant, antifongique. Le Fruit de cette plante par infusion par voie per os est

utilisé pour les constipations et les gonflements, par contre son huile est utilisée pour les blessures et la gale (Amram et Akos, 2015).

Le Pistachier lentisque fait partie de la liste des plantes utilisables dans les compléments alimentaires en France et au sein de la communauté européenne (Arrêté du JORF du 24 juin 2014) (Debbabi, 2017).

## I.3. Les métabolites

### I.3.1 Métabolites primaires

Les plantes contiennent des métabolites primaires qui peuvent être définis comme des molécules qui alimentent les grandes voies du métabolisme central (Ayad, 2013).

### I.3.2 Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires des plantes sont un groupe diversifié de molécules qui participent à l'adaptation des plantes à leur environnement, mais ne font pas partie des principales voies biochimiques de la croissance et de la reproduction cellulaire. L'intérêt pour les métabolites secondaires des plantes a considérablement augmenté ces dernières années, en raison de leur diversité des effets antioxydants, antiviraux, antibactériens et anti cancéreux (Harinder *et al.*, 2007). Ils participent efficacement à la tolérance des végétaux à des stress variés (attaque de pathogènes d'insectes, sécheresse et lumière UV). D'un point de vue applicatif, ces molécules constituent souvent la base des principes actifs des plantes médicinales (Ayad, 2013).

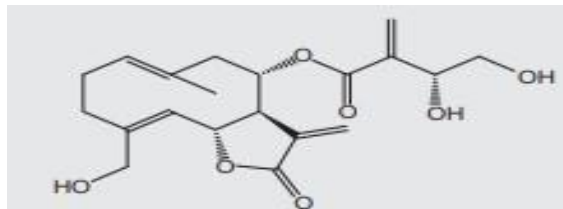
#### I.3.2.1 Métabolites secondaires de *Centaurea calcitrapa* L.

##### a) Sesquiterpènes Lactone

L'unité de départ des Sesquiterpènes est le FPP, qui est produite par la réaction du GPP avec une molécule d'IPP. Le FPP peut se cycliser pour former des sesquiterpènes linéaires (acycliques) et cycliques (Barnes, 2018). Ces métabolites forment un des plus larges groupes des composés cytotoxiques et anti-tumoraux d'origine végétale, dont la majorité a été isolée de la famille des « Astéracées » (Ayad, 2013).

Parmi les constituants sesquiterpéniques détectés dans le genre *Centaurea calcitrapa* L. « La cnicine » (Al-Easa et Rizk, 1992). Elle est l'agent responsable de l'activité antimicrobienne (Oriani *et al.*, 2004), signalée comme un agent hypoglycémiant, phytotoxique (Al-Easa et Rizk, 1992). Ces composés sont des constituants de plusieurs huiles volatiles et dans certains

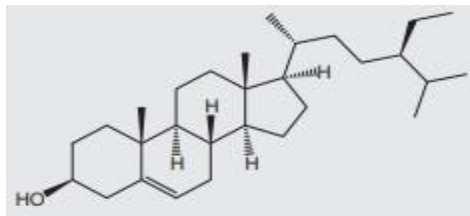
cas sont largement anti-insecticides, contribuant ainsi à la défense chimique globale de l'organisme producteur (**Barnes, 2018**).



**Figure 03** : Structure chimique de la cnicine (**Akkal et Ayad, 2019**).

## b) Triterpène

Les triterpènes sont des terpénoïdes qui ont une distribution exceptionnellement large, y compris l'homme, les plantes, les champignons, les bactéries, et les amphibiens. Elles comprennent des molécules très importantes, comme les stéroïdes (Ex : la testostérone). D'autres types incluent les stérols (Ex :  $\beta$ -sitostérol), qui sont des stéroïdiens tétra cycliques courants (**Barnes, 2018**). La  $\beta$ -sitostérol et 3-amyrin font partie des constituants du genre *Centaurea calcitrapa L.* de la famille des astéracées (**AL-EASA et RIZK, 1992**).



**Figure 04** : Structure chimique de  $\beta$ -Sitostérol (**Akkal et Ayad, 2019**)

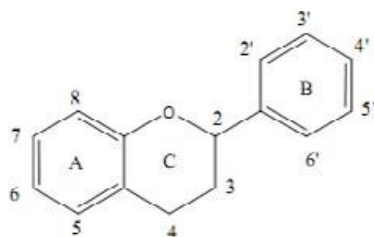
## C) Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont très importants car étant des composés phénoliques. Les aliments riches dans ce groupe ont été proposés comme étant importants dans l'amélioration des maladies comme le cancer et les maladies cardiaques (**Barnes, 2018**).

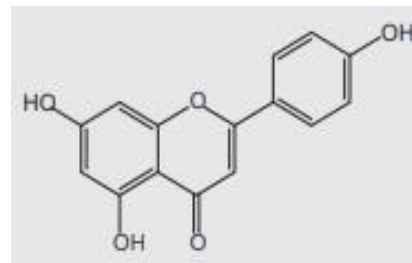
Les flavonoïdes contribuent à de nombreuses couleurs retrouvées dans la nature, en particulier le jaune et l'orange des pétales, même les flavonoïdes incolores absorbent la lumière dans les spectres UV (en raison de leurs chromophores étendus). Certains flavonoïdes affectent aussi nettement le goût de nourriture (Ex : certains sont très amers et astringents) (**Barnes, 2018**).

Parmi les polyphénols présents dans le genre *Centaurea calcitrapa L.* en Algérie : Jaceosidine, Cirsiliol, Eupatorine, Eupatiline, Jeceidine et l'Apigénine (**Ayad, 2013**). Cette dernière est le

flavonoïde le plus courant qui présente des propriétés antibactériennes (Al-Easa et Rizk, 1992).



**Figure 05** : Squelette de base des flavonoïdes (Ayad, 2013).



**Figure 06** : Structure de l'Apigénine (Akkal et Ayad, 2019)

## d) Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe diversifié de bases organiques contenant des amines secondaires, tertiaires ou cycliques qui incluent généralement "les substances de base et qui contiennent un ou plusieurs atomes d'azote, majoritairement en combinaison dans le cadre d'un système cyclique" (Harinder *et al.*, 2007). Ce sont des produits naturels présents dans les plantes, les champignons, les bactéries, les amphibiens, les insectes, les animaux marins et l'homme, qui contribuent aux préparations pharmaceutiques qui possèdent un groupe à éventail exceptionnellement large d'activités biologiques, utilisés par l'homme primitif pour soulager la douleur comme stimulants récréatifs (Douglas et Mark, 2018). Beaucoup entre eux ont des activités physiologiques et neurologiques dramatiques (Harinder *et al.*, 2007).

## e) Les huiles essentielles

La teneur en huiles essentielles des espèces *Centaurea* se caractérise par la présence du squelette sesquiterpène, d'hydrocarbures et des acides gras et monoterpènes. La composition en huile essentielle de *calcitrapa* a été obtenue par distillation à la vapeur (Akkal et Ayad, 2019).

### I.3.2.2 Métabolites secondaires de *Pistacia lentiscus* L.

Les deux classes majeures de sources bioactives présentes entièrement dans *Pistacia lentiscus* L. sont les phénols et les terpènes (Amram et Akos, 2015 ; Djedaia, 2017).

## a) Flavonoïdes

Ce sont des métabolites secondaires de la classe des phénols décrits précédemment. La classe bioactive constituée dans les feuilles et les tiges (Nativ et Zohara, 2015), qui se présente aussi par une forte teneur dans le fruit de *Pistacia lentiscus L.* (Djedaia, 2017). Parmi ces composés les plus abondants dans ce genre de plante on distingue : les glucosides de flavonol et les glucosides de myricétine, de cyanidine et de quercétine) (Amram et Akos, 2015 ; Dragovi et al., 2020).

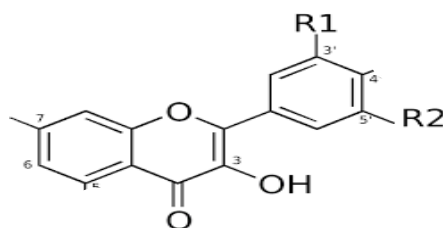


Figure 07 : Structure chimique de flavonol (Grotewold , 2006).

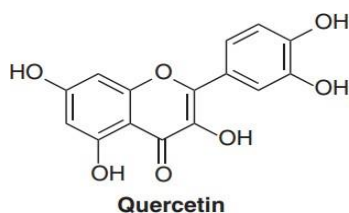


Figure 08 : Structure chimique de la quercétin  
(Barnes, 2018).

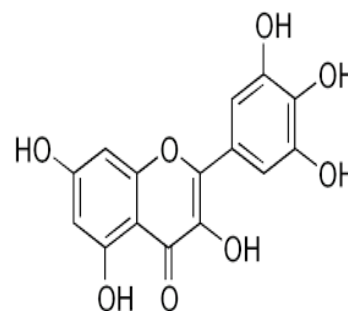


Figure 09 : Structure de la myricétine  
(2)

## b) Tannins

Ce groupe comprend des composés poly phénoliques solubles dans l'eau, qui ont un poids moléculaire, distribués largement dans le règne végétal, qui peuvent être produits par la plante comme un moyen d'alimentation. Ces composés sont divisés en deux groupes : les tanins hydrosolubles, qui sont formés par estérification des sucres (glucose) avec des acides phénoliques simples (les dérivés de l'acide shikimique comme l'Acide gallique), et les tanins non hydrolisables qui s'en réfèrent au tanin condensé qui se produit en raison de la réaction de polymérisation entre les flavonoïdes. Une caractéristique clé des tanins est leur capacité à

lier les protéines. Ils ont été utilisés aussi comme préparations astringentes en pharmacies (Barnes, 2018).

Le feuillage et les tiges de *Pistacia lentiscus* L. sont riches en tannins (proanthocyanidins) (Cherbal, 2012 ; Amram et Akos, 2015), et en dérivés de galloyles (tanins hydrolysables) (Amram et Prof, 2015 ; Dragovi *et al.*, 2020), de même leurs fruits présentent de fortes teneurs de ces composés (Djedaia, 2017).

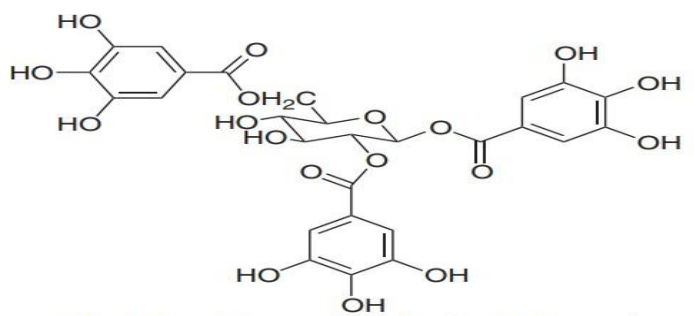


Figure 10 : Structure des tannins hydrosolubles (Barnes, 2018).

## c) Terpènes

Les terpènes sont des composés très répandus dans la nature et se produisent dans la plupart des espèces, y compris l'homme, un exemple parfait de classe de produits naturels qui sont structurellement diversifiés. Les terpènes (hemiterpènes, mono terpènes et sesquiterpènes) contribuent à de nombreuses arômes associées aux plantes et varient en complexité depuis de simples unités : de C5 jusqu'aux poly isoprènes qui comprennent le latex, la cire de feuilles et le caoutchouc. Les terpènes sont dérivés d'un nombre extensif de réactions entre deux unités, C5 diméthylallyl pyrophosphate et isopentenyl pyrophosphate (Barnes, 2018).

Ces métabolites (les terpènes) sont entièrement présents dans *Pistacia lentiscus* L. mais dominants dans ses huiles essentielles et sa résine (Amram et Akos, 2015).

## d) Les alcaloïdes

Ils sont présents dans les fruits et absents dans les feuilles et les tiges de *Pistacia lentiscus* L. (Chaabani, 2019).

## I.4. Activités antibactériennes

### I.4.1 Activité antibactérienne de *Centaurea calcitrapa* L.

Les espèces de *Centaurea* sont antimicrobiennes et antifongiques (Aras-Perk *et al.*, 2011). *Centaurea calcitrapa* L. présente une action antibactérienne potentielle contre les agents pathogènes bactériens multi résistants. Les résultats du MBC ont indiqué que cette plante a un effet bactéricide (El-Sherbiny *et al.*, 2016). Elle présente un effet antibiotique montré par des zones d'inhibition, contre *Brucella abortus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* et plus efficacement sur *Staphylococcus aureus* qui montre une CMI, tandis qu'*Escherichia coli* est résistante. Le cnicin et les sesquiterpènes lactones sont les agents responsables de cette activité (Oriani *et al.*, 2004). C'est une plante qui peut être considérée comme plus efficace que la plupart des antibiotiques commerciaux (El-Sherbiny *et al.*, 2016).

### I.4.2 Activité antibactérienne de *Pistacia lentiscus* L.

*Pistacia lentiscus* L. est connue pour ces effets bénéfiques sur la santé attribuée en grande partie aux polyphénols accumulés dans toutes les parties de la plante (Dragovi *et al.*, 2020).

Plusieurs études ont rapporté l'activité antimicrobienne des huiles et des extraits de *P.lentiscus* L., essayant de clarifier scientifiquement leur utilisation populaire dans les maladies infectieuses (Bortone *et al.*, 2022). Le screening photochimique des feuilles et des petits rameaux du lentisque a mis en évidence la présence de plusieurs composés chimiques réputés avoir des activités biologiques intéressantes. Il s'agit des substances poly phénoliques dont les tanins catéchiques et galliques, les flavonoïdes, les stérols et les triterpènes, les saponosides et en fin les composés réducteurs (oses, holosides et mucilages) (Bammou *et al.*, 2015).

L'activité antimicrobienne des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de lentisque est en partie due à leur richesse en composés poly phénoliques (Romani *et al.*, 2002 ; Boubakar *et al.*, 2004 ; Cherbal *et al.*, 2014). Ces composés sont actifs contre plusieurs bactéries Gram-positives et Gram-négatives, notamment les bactéries multi-résistantes, parmi lesquelles le SARM et la *Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénèmase (Bortone *et al.*, 2022).

## I.5 Les infections bactériennes

Les infections bactériennes sont responsables de maladies allant de l'angine bénigne aux épidémies de choléra et de peste. Les bactéries sont des micro-organismes remarquablement adaptables à l'origine de maladies graves ou de simple colonisation de la peau. Elles sont capables de survivre et se multiplier dans l'environnement et certaines forment des spores qui survivent pendant des décennies. D'autres ne peuvent survivre qu'au contact intime de leur hôte humain. Alors que la plupart des bactéries se répliquent en quelques heures ou jours. D'autres ont une croissance beaucoup plus lente, entraînant des infections chroniques difficiles à traiter (**Hart et Shears, 1997**).

Les bactéries ont un important potentiel d'adaptation génétique, elles contiennent souvent de l'ADN plasmique, capable de transférer du matériel génétique au sein de l'espèce ou vers des espèces différentes. Cette adaptabilité génétique peut accroître à la fois leur pouvoir pathogène et leur résistance aux antibiotiques (**Hart et Shears, 1997**).

### I .5 .1 Facteurs de pathogénicité microbienne

Les microbes pathogènes possèdent de nombreuses stratégies de virulence sophistiquées qui sont conçues pour surmonter les mécanismes de défense de l'hôte, généralement efficaces qui défendent contre l'exposition continue aux microbes. Généralement, ces mécanismes de virulence ciblent un ou plusieurs processus cellulaires normaux des hôtes, et c'est l'action collective de ces mécanismes qui aboutit finalement à la maladie (**Patrice et Emmanuel, 2005**). Ces facteurs de pathogénicité sont : la capsule, celle-ci empêche la phagocytose, ce qui les rend plus virulents. Les enzymes : des protéines bactériennes qui ont une activité enzymatique, désorganisent les tissus et aident à la diffusion locale des bactéries. Les toxines : ce sont des molécules protéiques qui peuvent déclencher une maladie ou l'aggraver, en se fixant sur des récepteurs spécifiques des cellules cibles. D'autres facteurs se trouvent capables de rendre le microorganisme plus virulent, grâce à leurs capacités de perturber la production d'anticorps, la résistance à l'effet lytique du complément sérique et les étapes oxydatives de la phagocytose et en fin la production des super antigènes (**Bush et al., 2020**).

### I .5.2 Antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances naturelles ou synthétiques capables d'inhiber ou de détruire les microorganismes (**Bowassa et al., 2022**). Ils sont élaborés par des micro-



organismes, le plus souvent des champignons inférieurs qui ont le pouvoir de s'opposer à la multiplication des germes microbiens en inhibant leur multiplication (**Coulibaly, 2007**). Ces substances sont soit bactériostatiques (ralentissement ou inhibition de la multiplication des germes dans un milieu donné, soit bactéricides (Ils tuent les germes dans le milieu de culture) (**Veyssiere, 2019**).

La création des antibiotiques a commencé en 1877, lorsque Louis Pasteur a découvert que la croissance de l'anthrax pathogène pourrait être inhibée par des bactéries saprophytes. Puis, en 1928, la plus importante contribution au monde des antibiotiques s'est produite lorsqu'Alexander Flemming a fait la découverte qui a conduit à la pénicilline. Depuis les années 1970, la plupart des nouveaux antibiotiques sont des modifications synthétiques d'antibiotiques naturelles. Le processus de création d'antibiotiques est la fermentation et elles sont principalement utilisées pour les infections bactériennes (**Hart et Shears, 1997**).

La prescription d'une antibiothérapie adaptée est fondamentale dans la prise en charge précoce du choc septique, lorsqu'est probabiliste inadaptée peut-être définie comme l'absence d'antibiotique actif sur la bactérie responsable de l'infection, ou l'utilisation d'un antibiotique vis-à-vis duquel la bactérie responsable de l'infection est résistante. Ce traitement doit être actif contre les bactéries habituellement responsables de l'infection suspectée, mais la difficulté est donc de prescrire une antibiothérapie adaptée en l'absence de documentation bactériologique (**Leone et al., 2011**).

## **I.6 La résistance bactérienne**

La résistance aux antibiotiques est une forme de résistance aux médicaments où les bactéries sont capables de survivre après avoir été exposé à un ou plusieurs antibiotiques. Ceux-ci deviennent connus sous le nom de « Multi Drug Resistant » (MDR) ou plus communément « Super bugs ». Le plus connu de ces super bactéries est le MRSA. Ces super bactéries doivent souvent être traitées avec une combinaison de puissants antibiotiques (**Jones, 2016**).

Cette résistance peut être due à des mutations spontanées avec activation ou modification de déterminants chromosomiques déjà présents dans le génome bactérien ou la conséquence de l'acquisition de gènes situés sur des éléments génétiques mobiles (**Vincent, 2004**). Bien que cela puisse également être attribué à l'utilisation généralisée des antibiotiques. Nos corps sont

devenus tellement habitués à les utiliser, qu'ils n'ont plus l'impact souhaité sur notre système immunitaire (Jones, 2016).

## I.6.1 Mécanisme de résistance bactérienne

Les micro-organismes ont développé trois types de mécanismes de résistance aux antibiotiques qui sont : la production d'enzymes inactivatrices des antibiotiques (ex.  $\beta$ -lactamases), la modification des cibles des antibiotiques empêchant l'action de ces derniers (ex. fluoroquinolones) et la réduction des concentrations intracellulaires d'antibiotique a importance clinique croissante qui est peut-être due à une imperméabilité (Vincent, 2004).

Les bactéries Gram-négatives ont une résistance élevée par rapport aux bactéries Gram-positives et cela est dû à la membrane externe hautement hydrophobe qui agit comme barrière de perméabilité principalement pour les composés hydrophiles (El-Sherbiny, 2016). Un nombre de nouvelles antibiotique a été produit par les industries pharmaceutiques mais l'effet toxiques et l'émergence globale de la résistance multiple des microbes au médicament ont limité l'efficacité des médicaments en raison des pompes à efflux MDR (Akhtar *et al.*, 2015).

Les pompes à efflux MDR sont des protéines utilisées par les bactéries comme mécanisme d'extrusion de composés considérés toxiques. Les gènes codant pour ces structures protéiques sont présents chez presque toutes les bactéries et se localisent sur le chromosome ou sur un plasmide. On distingue les familles des SMR, MFS, ABC, PACE et MATE présentent chez les bactéries gram positif, négatif et sont localisées au niveau de la membrane interne par contre les RND et ABC associées sont présentes chez les grams négatifs au niveau de la membrane interne et externe) (Anne *et al.*, 2020).

Chaque famille a ses propriétés (Domaine transmembranaire, types de la bactérie, ...) et son mécanisme d'action, pour l'extrusion d'antibiotiques hors les cellules (Anne *et al.*, 2020).



## Chapitre II

### Matériel et méthodes



## II.1 Matériel

### II.1.1 Matériel biologique

#### II.1.1.1 Choix des plantes *Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus*

Le choix des deux plantes *Centaurea calcitrapa* L. et *Pistacia lentiscus* est fait pour leurs effets thérapeutiques connus et rapportés dans la bibliographie. La plante *Centaurea calcitrapa* L. a été récoltée à la fin du mois de mai et début du mois de juin 2022, dans la région de Zeyama Wilaya de Jijel, Algérie par contre *Pistacia lentiscus* a été récoltée en mois de décembre 2021, dans la commune d'Amizour, Wilaya de Bejaia, Algérie.

#### II.1.1.2 Les souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude sont : *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) sont des souches référencées fournies par l'Institut Pasteur (Alger), par contre *Pseudomonas sp*, *Salmonella sp*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* et *Acinetobacter Baumannii* sont des isolats fournis par le laboratoire de Biochimie appliquée de l'Université de Bejaïa.

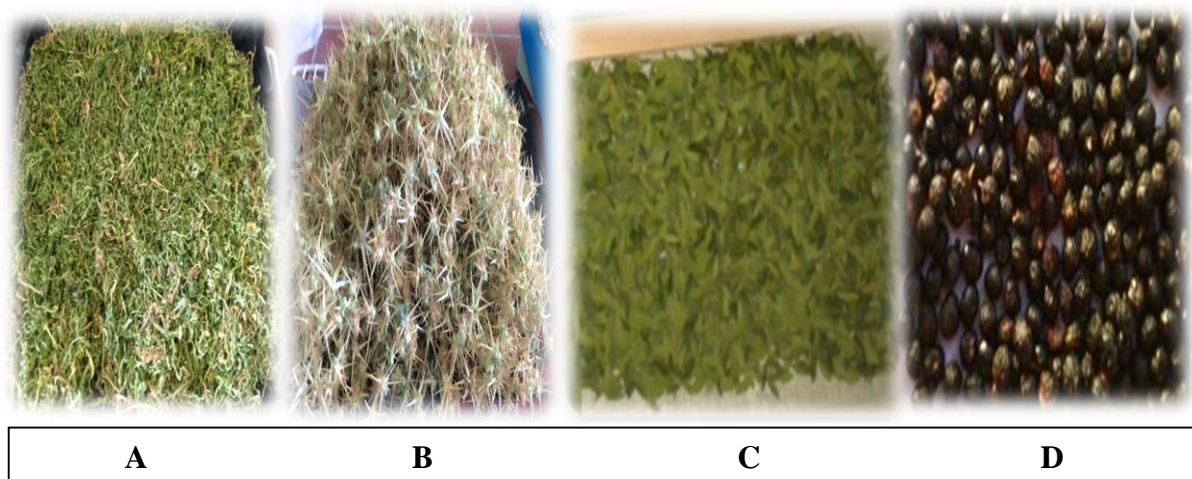
### II.1.2 Matériel non biologique

<b>Milieus de cultures</b>	❖ Bouillon nutritif ❖ Bouillon MH	❖ Gélose nutritive ❖ Gélose MH
<b>Réactifs</b>	❖ DMSO ❖ Carbonate de sodium Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ❖ Folin – Ciocalteu ❖ Ether de pétrole ❖ Acide gallique	❖ Eau distillée ❖ Eau physiologique ❖ Eau Javel ❖ Alcool ❖ Ethanol
<b>Appareillages</b>	❖ Autoclave ❖ Etuve ❖ Spectrophotomètre ❖ Broyeur électrique ❖ Balance ❖ Plaque chauffante ❖ PC	❖ Tamiseur électrique ❖ Sonicateur ❖ Vortex ❖ Four pasteur ❖ Soxhlet ❖ Rota vapeur ❖ Lecteur microplaques
<b>Verreries et autres matériel</b>	❖ Flacons ❖ Tubes à essai ❖ Bécher ❖ Entonnoir ❖ Pipettes Pasteur ❖ Eprouvette graduée ❖ Ependorfes ❖ Barreau magnétique	❖ Erlenmeyer ❖ Fioles ❖ Boîtes de pétri ❖ Ecouvillons ❖ Bec bunsen ❖ Spatule ❖ Pince ❖ Micropipette ❖ La paraffine
		❖ Cuve ❖ Papier film ❖ Microplaques ❖ Papier d'aluminium ❖ Papier absorbant ❖ Papier Whatman

## II.2.Méthodes

### II.2.1. Préparation des poudres sèches

Les plantes fraîches *C. calcitrapa* et *P. lentiscus* ont été réparties en feuilles, épines et graines soigneusement ; puis séchées dans une étuve à 40°C pendant 24h.



**Figure 11** : Séchage des différentes matrices végétales de *Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus* (A= Feuilles sèches de *C. calcitrapa* ; B=Epines sèches de *C. calcitrapa* ; C=Feuilles sèches de *P. lentiscus*, D=Graines sèches de *P. lentiscus*).

Les parties de plantes ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention des poudres fines ; ensuite tamisées avec une tamiseuse électrique (63µm, 1mm de diamètres). Les poudres obtenues ont été pesées et conservées à l'abri de l'air et de la lumière dans des flacons en verre fumé.

### II.2.2 Méthodes d'extraction

#### II .2.2.1 Extraction par macération à partir de *Centaurea calcitrapa*

L'extraction a été réalisée par macération à froid des poudres sèches de *C. calcitrapa*, selon la méthode de **Bohui et al. (2018)**, avec quelques modifications. 50g de poudres de chaque partie (épines et feuilles) ont été mélangé avec 500ml du solvant éthanolique (80%), les suspensions sont laissées sous agitation pendant 24h, ensuite décantées puis filtrées à travers à un papier Whatman sous l'action d'une pompe à vide. Par ailleurs, les solutions filtrées obtenues ont été séchées au rotavapeur pendant 15 à 20 min et enfin ont été mises dans une étuve ventilée à 40C° jusqu'au séchage total et la stabilisation des poids de ces extraits.



**Figure 12 :** Extraction éthanolique par macération et séchage au Rotavapeur

### II.2.2.2 Extraction par soxhlet à partir de *Pistacia lentiscus*

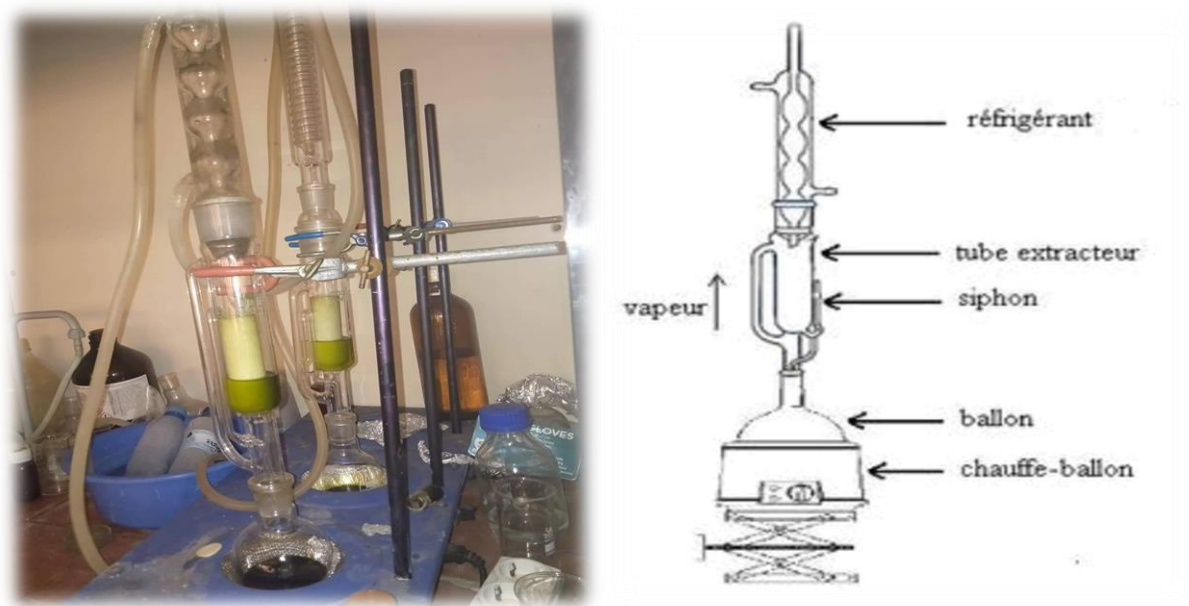
L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première (El Mansouri, 2013).

Pour cette plante, on a d'abord procédé à une délipidation des feuilles et des graines afin d'éliminer les huiles végétales, en utilisant l'éther de pétrole comme solvant. Après le séchage total des poudres délipidées, l'extraction a été lancée sur le soxhlet par un solvant éthanolique (80%) et a continué jusqu'à l'épuisement des poudres des feuilles et des graines chargées dans la cartouche. Les extraits obtenus ont été séchés au rotavapeur pendant 15 à 20 min. Les verser dans des boîtes pétris déjà pesée jusqu'à la stabilisation de leurs poids et les conservés à de basses températures.

### II.2.3 Préparation des solutions d'extraits

Les solutions sont préparées par l'ajout de 0,5ml de DMSO et 2 ml d'eau distillée, respectivement, à chaque 50 mg d'extrait de plantes, afin d'obtenir des concentrations de 1mg/disque et 0,5mg sur chaque disque d'antibiogramme.

Les solutions obtenues ont été mises au vortex et au sonicateur afin d'assurer leurs solvations, puis filtrées par des seringues à filtre (0.45 $\mu$ m) dans des tubes Eppendorf stériles.



**Figure 13 :** (A) Extraction par soxhlet, (B) Composantes du soxhlet

## II.3 Rendements des extractions

Les rendements des extractions sont exprimés en pourcentages et déterminés par le rapport entre le poids du matériel végétal et celui de l'extrait sec, selon **Bohui *et al.* (2018)**, avec la formule suivante :

$$(\%) = (P1 - P0) / E \times 100$$

P0 = Poids des boîtes de pétri vides (g)

P1 = Poids des boîtes de pétri contenant l'extrait après évaporation du solvant (g)

E = poids de la matière végétale initiale (g).

## II.4 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux des extraits est obtenu par la méthode de réactif folin-Ciocalteu, selon (**Ali-Rachedi *et al.*, 2018**) par le mélange de 1ml de réactif de folin à 1N, avec 800µl de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) et 200 µl de l'acide gallique ou des solutions d'extraits, les solutions préparées ont été mises à l'abri de la lumière pendant 30min, puis leurs absorbances ont été enregistrées par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760nm.

Le dosage en polyphénols des extraits a été réalisés à partir de dilutions de solutions d'extraits préparées par la dissolution de 20mg de chaque extrait sec (*Centaurea calcitrapa* feuilles, *Centaurea calcitrapa* épines, *Pistacia* L. feuilles, *Pistacia* L. Graines) dans 2ml de l'éthanol (50%).

La courbe d'étalonnage est réalisée avec différentes concentrations (dilution à moitié) de l'acide gallique (100 ; 50 ; 25 ; 12,5 ; 6,25 ; 3 µg/ml) dissout dans de l'éthanol (50%). Les tests ont été menés en trois essais pour chaque concentration contre un blanc.

## II.5 Méthodes microbiologiques

### II. 5.1 Préparation du standard Mc Farland

Le standard Mc Farland sert de standard de turbidité pour préparer les suspensions de microorganismes et d'inoculum bactériens pour les tests de sensibilité aux agents antimicrobiens. Le Mc Farland 0,5 correspond approximativement à une suspension homogène d'*E. coli* de  $1.5 \times 10^8$  cellules par ml<sup>3</sup>. (Becton M et Dickinson FS, 2005).

Le standard Mc Farland est préparé, selon la méthode de (Christian et François, 2019), par l'ajout de 0,5 ml d'une solution à 0,048 mol/L de chlorure de baryum BaCl<sub>2</sub> (1,175%) dans 99,5 ml d'une solution de 0,18 mol/L (1N) d'acide sulfurique H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1% v/v) et au vortex vigoureusement. La suspension de ces deux composés forme un précipité de sulfate de baryum.

### II .5.2 Effet antibactérien des différents extraits de *Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus*

Le laboratoire de bactériologie clinique aide à la thérapeutique par l'évaluation de la sensibilité des agents pathogènes aux différents agents antibactériens par la réalisation des antibiogrammes (Durosoir et al., 1979). C'est par cette procédure réalisée en trois étapes que nous avons évalué dans cette étude la sensibilité des différentes souches bactériennes aux extrait de feuilles et épines de *Centaurea calcitrapa* et feuilles et graines de *Pistacia lentiscus*.

#### II .5.2.1 Préparation de l'inoculum bactérien

L'inoculum standard de chacune des souches bactériennes a été préparé, selon la méthode de CATTOEN et JEHL (2019).



- Après la stérilisation de la zone de travail avec de l'eau de javel, les souches bactériennes ont été repiquées dans un bouillon nutritif et incubées dans l'étuve à 37°C pendant 18h.
- Ces souches ont été revivifiées avec la méthode des stries séries à l'aide d'une pipette Pasteur sur des boîtes de pétri, préalablement coulées de la gélose nutritive, puis incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24h, afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées qui vont servir à préparer l'inoculum bactérien.
- A l'aide d'une anse de platine, quelques colonies bien isolées et identiques de la souche bactérienne à tester étaient alors raclées, déchargées dans un tube stérile contenant de l'eau physiologique, puis homogénéisées à l'aide d'un vortex.
- La lecture de la suspension bactérienne a été faite à une densité optique de (0,08 à 0,10), à la longueur d'onde 630 nm et qui doit être égale à la densité optique du standard McFarland 0.5 préparé.

## II.5.2.2 Méthode de diffusion en milieu gélosé (sur disque)

L'activité antimicrobienne des extraits a été testée *in vitro* par la méthode de diffusion sur gélose ou méthode des disques, qui est l'une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine. Elle convient pour la majorité des bactéries pathogènes incluant les bactéries à croissance lente qui permet une variété dans le choix des antibiotiques.

La technique utilisée dans ce test est celle décrite par **Bouguetof *et al.*, (2016)**, avec quelques modifications :

Après la préparation des boîtes de pétri coulées avec la gélose semi solide MH (Mueller Hinton), on a réalisé des tapis bactériens en ensemençant l'inoculum standard comme suit :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération trois fois en tournant la boîte de Pétrie à chaque fois. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

- À l'aide d'une pince stérilisée au bec benzène, les disques de papier Whatman ont été déposés à la surface de la gélose inoculée.

25µl et 50µl de chaque solution d'extraits ont été déposées sur les disques contre un blanc au centre de la boîte. Les boîtes ont été mises à l'étuve pendant 24h à 37°C. La sensibilité a été évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition par précision (**Durosoir *et al.*, 1979**) à l'aide d'une règle autour des disques.

## II .5.2.3 Méthode de diffusion en milieu liquide

L'antibiogramme, par la méthode de micro-dilution, a pour but de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'une souche microbienne vis-à-vis des divers antibiotiques. Les tests ont été réalisés sur des microplaques stériles de 96 puits, sur quatre extraits : feuilles, épines de *Centaurea calcitrapa* et feuilles et graines de *Pistacia lentiscus*. Ce test a été mené selon la méthode de **Hilpert Kai *et al.*, (2008)**, avec quelques modifications.

Cette technique repose sur la mise en culture d'un inoculum bactérien standardisé en présence de séries de dilutions des différents extraits à partir d'une solution mère, il est réalisé selon les étapes suivantes :

- ✓ **Contrôle négatif** : Sur la ligne G, un volume de 200µl de bouillon MH a été déposé.
- ✓ **Groupe témoin positif** : Sur la ligne H, 100µl de bouillon MH et 100µl la suspension bactérienne ont été déposés.
- ✓ **Groupe Blanc de l'extrait** : Sur les colonnes 3 ,6 ,9 et 12 verticalement, un volume de 160µl de bouillon MH, 40µl d'extrait ont été déposés dans les premiers puits et 100µl dans les 5 puits suivants de ces mêmes colonnes, après des dilutions à moitié du premier jusqu'au 6ème puits de chaque colonne. Les volumes des puits sont complétés par 100µl d'eau physiologique.
- ✓ **Groupe test** : Les tests des quatre extraits ont été réalisés dans les colonnes 1 et 2 pour l'extrait des feuilles, 4 et 5 l'extrait des épines de *Centaurea calcitrapa* 7 et 8 pour l'extrait des feuilles et 10 et 11 pour l'extrait des graines de *Pistacia lentiscus*. Les premiers puits de ces colonnes comprennent 160µl de bouillon MH, 40µl d'extrait et 100µl de bouillon MH dans les 5 puits suivants ces même colonnes. Après une série des dilutions à moitié des premiers puits jusqu'ou 6ème puits de chaque colonne (en prélevant 100µl des puits

précédents et l'ajouter au suivants de sorte d'obtenir une gamme de concentration d'extrait allant de 4mg/ml à 0,125mg/ml par puit avec 100 ul de chaque 6 ème puit qui sera jeter) a été effectuées et 100µl de la suspension bactérienne (inoculum standard) ont été rajouté.

Les microplaques ont été recouvertes et incubées à 37°C pendant 24h. La lecture des résultats a été faite par une évaluation visuelle et un lecteur de densité optique des microplaques.



# Chapitre III

## Résultats et discussions



## III.1 Méthodes d'extraction et taux des extraits

L'étude a été réalisée sur deux espèces *Centaurea calcitrapa* (Feuilles et épines) de la famille des Astéracées et *Pistacia lentiscus* (Feuilles et graines) de la famille des Anacardiacees, dont on a effectué deux extractions (solide-liquide) par macération à froid pour *Centaurea calcitrapa* et par soxhlet pour *Pistacia lentiscus*, en utilisant un solvant éthanolique (80%). Les rendements des extractions sont mentionnés dans le tableau suivant :

**Tableau III** : Les rendements des extraits éthanoliques de *Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus*

Matière végétale	Solvant d'extraction	Méthode d'extraction	Rendement (%)
<i>Centaurea calcitrapa</i> (Feuilles)	Ethanol 80%	Macération	15,02
<i>Centaurea calcitrapa</i> (épines)			6,48
<i>Pistacia lentiscus</i> (Feuilles)		Soxhlet	43,47
<i>Pistacia lentiscus</i> (Graines)			4,25

Les rendements en extraits de *Centaurea calcitrapa* ont montré que le rendement de l'extrait éthanolique obtenu par macération des feuilles de *Centaurea calcitrapa*, est le plus élevé, il a donné un pourcentage de **15,02%** par rapport à l'extrait éthanolique de ses épines (**6,48%**) obtenu par la même méthode d'extraction. Concernant les rendements des extraits de *Pistacia lentiscus*, obtenus par soxhlet, on a noté que le bon rendement est celui des feuilles avec un pourcentage de **43,47%** par rapport à celui des graines avec (**4,25%**).

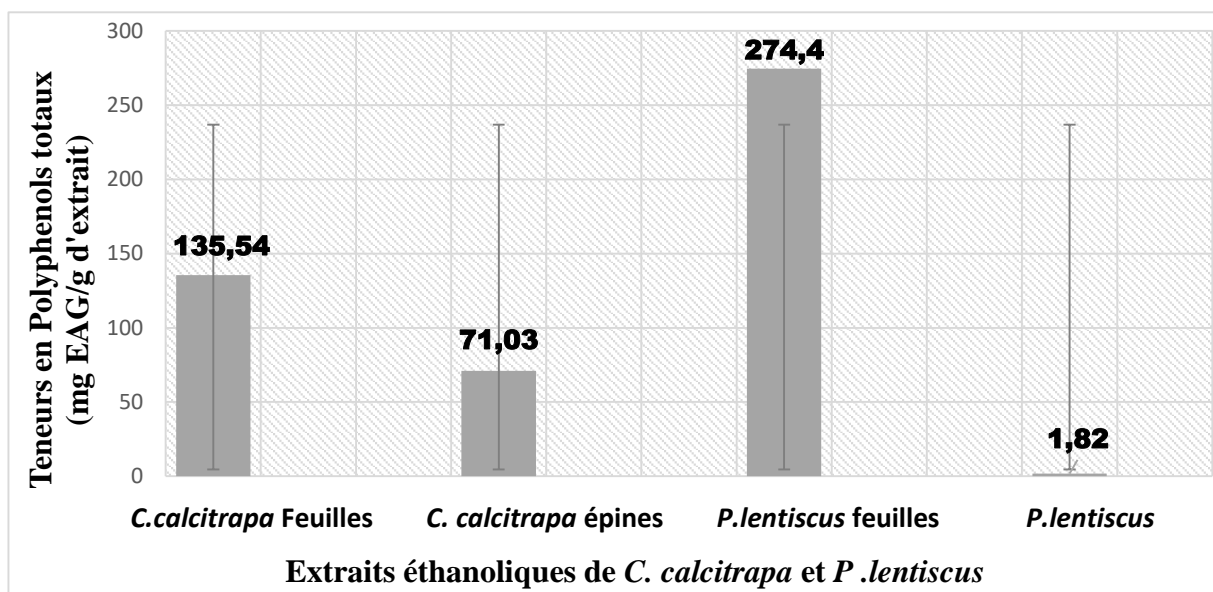
Ces résultats suggèrent une plus grande présence de métabolites solubilisés par l'éthanol dans les parties qui possèdent les rendements les plus élevés par rapport aux autres. L'étude de **Dimkić et al., (2020)** trouve que le rendement d'extraction augmente avec l'augmentation de la polarité du solvant d'extraction utilisé, par conséquent, ces résultats peuvent être modifiés si on change le solvant d'extraction.

Kouané *et al.* (2020) ont précisé dans leurs travaux que la différence des rendements d'extraction entre les plantes peut être aussi due à plusieurs autres facteurs, tels que la différence de matrice végétale, de méthode d'extraction, de période de récolte et des facteurs intrinsèques (climat, nature du sol).

### III.2 Résultats du dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en composés phénoliques totaux de chaque extrait de *Centaurea calcitrapa* (Feuilles, épines) et de *Pistacia lentiscus* (Feuilles, graines), ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique, les résultats sont organisés dans la **figure (14)**.

Les teneurs en polyphénols totaux suivant la méthode de Folin-Ciocalteu **Ali-Rachedi et al., (2018)** correspond à la quantité de polyphénols contenus dans chaque extrait éthanolique étudié, ces résultats ont été calculés par l'équation de la droite de régression ( $Y=0,0062X-0,0099$ ) : Y=Absorbances des extraits ; X= Concentration en polyphénols totaux, exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait.



**Figure 14** : Teneurs en composé phénoliques pour les extraits éthanoliques de *Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus*

D'après les résultats de la méthode de dosage des polyphénols totaux, par le réactif Folin Ciocalteu dans le **tableau III** et ceux montrés dans la **figure 14**, on a déduit que les quatre extraits de plantes étudiés possèdent des polyphénols totaux, mais a des teneurs différentes.

La meilleure parmi ces teneurs est enregistrée pour l'extrait de feuilles de *Pistacia lentiscus*, suivi par celles de *Centaurea calcitrapa* puis ses épines et enfin les graines de *Pistacia lentiscus*.

Chez *Centaurea calcitrapa*, les résultats ont montré que l'extrait éthanolique le plus dosé en polyphénols, est celui des feuilles de *Centaurea calcitrapa*, qui a marqué une teneur avec une moyenne de **135,54 ±0,028** mg EAG/ g d'extrait, par rapport à l'extrait éthanolique de ses épines qui donne une concentration avec une moyenne de **71,03±0,060** mg EAG/ g d'extrait.

Par ailleurs, les extraits éthanoliques des feuilles de *Pistacia lentiscus* ont révélé une meilleure teneur en polyphénols totaux avec une moyenne de **274,4±0,060** mg EAG/ g d'extrait, par rapport à l'extrait éthanolique des graines de la même plante, qui a enregistré une très faible teneur de **1,82±0,099** mg EAG/ g d'extrait.

De ces résultats on peut dire que la teneur en polyphénols de chaque partie de plante est relative au rendement d'extraction de ces dernières, les extraits de feuilles des deux espèces ont marqué les rendements les plus élevés (**43,67%**, **15,02%**), par conséquent, les mêmes extraits qui ont marquées les plus grandes teneurs élevées en polyphénols totaux (**274,4 ; 135,54 mg EAG/ g**), puis vient l'extrait des épines de *Centaurea calcitrapa* et enfin les graines de *Pistacia lentiscus*.

De plus, les méthodes d'extraction, réalisées pour les deux espèces *Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus* sont différentes (Macération et Soxhlet, respectivement), ceci est un autre paramètre qui fait différencier le dosage en ces composés entre les deux plantes. Par comparaison aux travaux de **Dragović-Uzelac et al. (2020)**, après le changement de la méthode d'extraction avec l'extraction assistée par micro-ondes optimisée, les teneurs en polyphénols totaux de feuilles de *Pistacia lentiscus* a diminué de 274,4 mg EAG/g à 46,07mg EAG/g d'extrait par contre la teneur de ses graines a augmenté de 1,82 mg EAG/g à 124,1 mg EAG/g d'extrait.

Le solvant d'extraction joue un rôle crucial, l'élévation des teneurs en polyphénols totaux pour les extraits de feuilles de *Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus*, est peut-être due à la polarité élevée entre ces extraits de feuilles et le solvant d'extraction qui est l'éthanol (80%).

Les parties de plantes étudiées possèdent des composées phénoliques différents, selon les travaux et la littérature de **Al-Easa et Rizk, (1992) ; Akkal et ayad ,(2019) Centaurea**

*calcitrapa* contient beaucoup plus de Flavonoïdes (Apigénine) et à partir de plusieurs études phytochimiques **Grotewold, (2006)**; **Amram et Akos M,( 2015)** ; **Barnes,( 2018 )**; **Dragovi ć Uzelac et al., (2020)** *Pistachia lentiscus* contient de plus fortes quantités de Flavonols, Quercetin, Myricétine et en tannins, tannin hydrosolubles) a des structures chimiques différentes.







Selon les études de **Cherbal et al., (2012)** les caractéristiques structurales chimiques des composés polyphénoliques sont un paramètre à prendre lors de l'application de réactif Folin-ciocalteu pour le dosage des polyphénols. Dans cette étude, ils ont rajouté, que la taille des particules qui forme chaque échantillon, le temps et les conditions de stockage aussi influence leur teneur, alors dans notre étude les échantillons de feuilles des deux espèces *Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus* sont les plus fines et c'est eux qui ont marqués les teneurs les plus élevés en polyphénols totaux par rapport aux épines et graines.

### III.3 Résultats des tests antibactériens

#### III.3.1 Test de diffusion sur milieu solide (disques)

La présente figure (15) montre les photographies illustratives des diamètres des zones d'inhibition, autours des disques imbibés en extraits éthanoliques de *Centaurea calcitrapa* (Feuille, épines) et de *Pistacia lentiscus* (Feuilles, graine) étudiés à deux concentrations différentes 0,5mg (C/2) par disque et 1 mg (C) par disque, pour quelques souches utilisées après 24h d'incubation a 37C°.



<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
		
		
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacille subtilis</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>

**Figure 15** : Illustration de la sensibilité de quelques souches aux extraits étudiés (*Pistacia lentiscus* : B= feuilles, C=Graines ; *Centaurea calcitrapa* : G=Feuilles, H=épines).

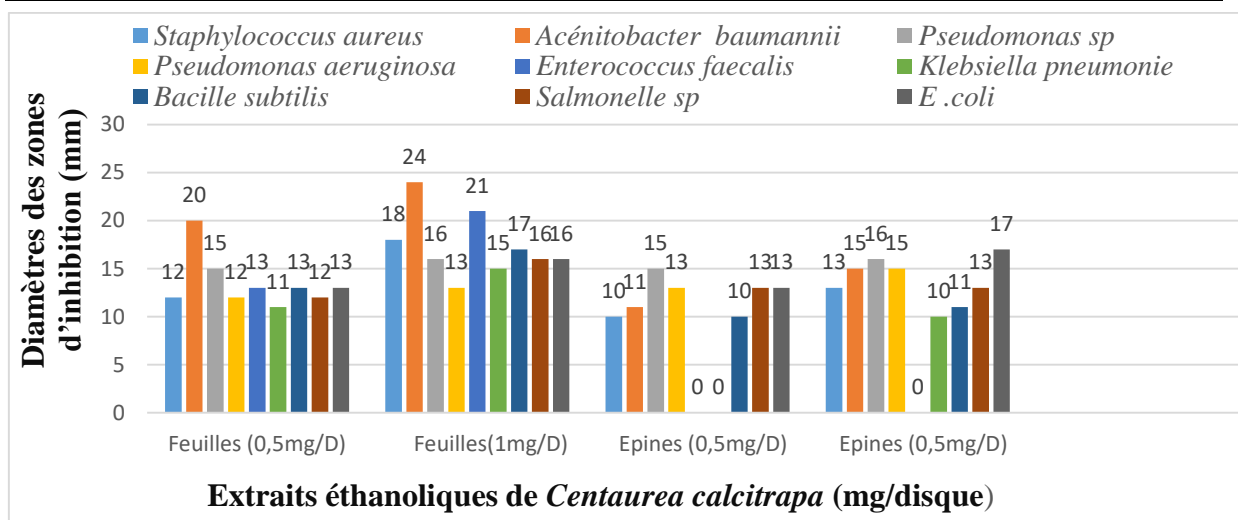


Figure 16 : Histogramme des diamètres de zones d'inhibition (mm) en fonction de la concentration en extraits de *C.calcitrapa* (mg/disque).

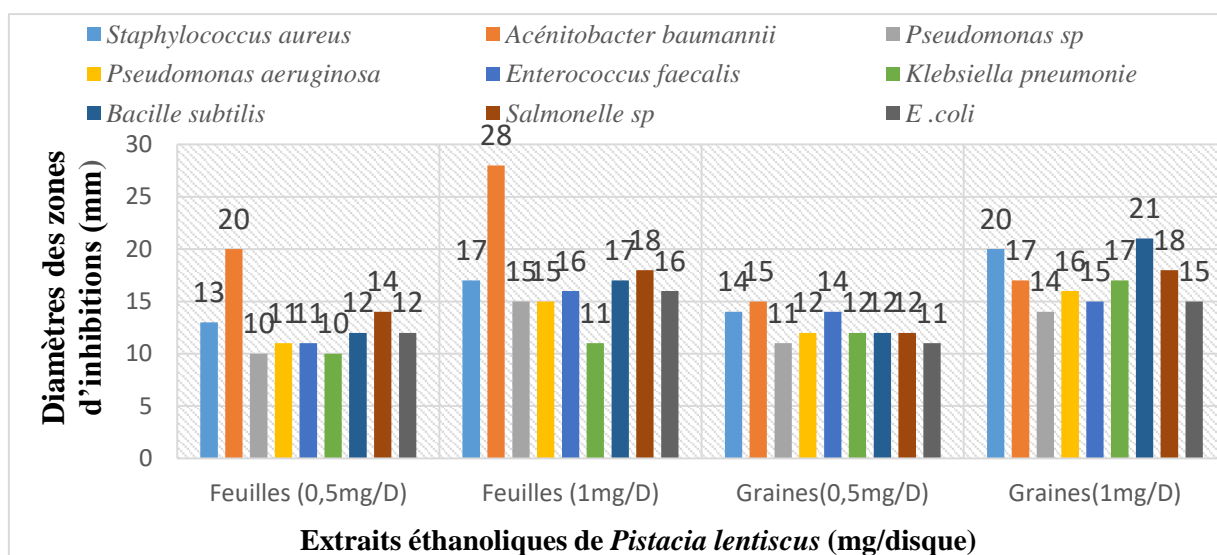


Figure 17 : Histogramme des diamètres de zones d'inhibition (mm) en fonction de la concentration en extraits de *P.lentiscus* (mg/disque).

### Evaluation générale de l'activité antibactérienne des extraits éthanolique de *Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus*

Les résultats présentés dans les histogrammes en figures 16 et 17, ainsi que les observations à l'œil nu des zones d'inhibitions autour des disques, ont montré que les extraits éthanoliques de *Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus* ont présenté généralement une activité antibactérienne contre les neuf souches testées. Selon **Moreira et al. (2004)** la sensibilité des souches bactériennes est résumée selon le diamètre des zones d'inhibition avec les intervalles suivant : Moins de 8mm = Absence de sensibilité ; de 9-14 mm = sensible, de 15-19 =Très sensible et Plus que 20mm =Extrêmement sensible.

Dans le détail des résultats, il a été constaté clairement que les feuilles de *Centaurea calcitrapa* ont présenté une bonne activité antibactérienne sur toutes les souches par comparaison aux épines. Ses feuilles ont marqué même des zones d'extrême sensibilité de certaines souches à savoir *Acenitobacter* (24mm, 22mm) et *Enterococcus* (22mm). *E. coli*, *Pseudomonas sp* et *Pseudomonas aeruginosa* se sont avérées très sensibles à l'extrait des épines avec des diamètres d'inhibition de 16mm en moyenne. *Entérocooccus et klebsiella pneumonie* sont résistantes à ces extraits de *Centaurea calcitrapa*, du moins par cette méthode de disques.

Les extraits de feuilles et des graines de *Pistacia lentiscus*, ont présenté une activité antibactérienne presque identique sur toutes les souches testées, leurs diamètres varient du sensible au très sensible, voir des diamètres extrêmes, on retient 28 mm contre *Acenitobacter boumannii* par l'extrait de feuilles et 20mm pour *Bacillus subtilis* par l'extrait de graines.

En fonction de la concentration en extraits, l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques de *Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus* a augmenté, de façon que toutes les souches ont marquées de plus grandes zones d'inhibition à 1 mg par disque par rapport aux concentrations de 0,5 mg par disque, donc l'activité anti bactérienne des extraits étudiés est une activité à effet doses dépendante.

On note aussi que les résultats de l'activité antibactérienne par méthode de diffusion sur gélose augmentent avec l'augmentation des rendements d'extraction et des teneurs en polyphénols totaux des extraits de de *Centaurea calcitrapa* (Feuilles, épines) et de *Pistacia lentiscus* (Feuilles, graines). En effet, les extraits de feuilles des deux plantes ont marqué les plus grandes teneurs en polyphénols totaux et ont par la suite exercé un effet antibactérien plus puissant par rapport aux extraits d'épines et des graines qui ont révélé les plus faibles teneurs.

La différence entre les teneurs en polyphénols totaux, pour les quatre extraits de *Centaurea calcitrapa* (Feuilles, épines) et de *Pistacia lentiscus* (Feuilles, graines) peut expliquer les résultats de l'activité antibactérienne obtenue. En effet, ces composés phénoliques sont connus pour leur activité antibactérienne, ceci est largement rapporté dans la littérature **Sherbiny et rizk, (1992) ; Dragovi, (2020) ; cherbal, (2012) ; Romani et al., (2013) et Bortone et al., (2022)**, donc ils sont capables d'inhiber la croissance de ces microorganismes ou de les détruire.

On suggère également que la différence entre les classes de polyphénols contenant dans chaque plante (*Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus*) et ses partie, leurs structures chimiques ainsi

leurs mode d'action, peuvent être des paramètres qui influencent la différence de l'effet antibactérien obtenu pour chaque extrait vis-à-vis des neuf souches. En effet, la diversité structurale des métabolites de *Centaurea calcitrapa* (Flavonoïdes) d'après l'étude de **Al-Easa et Rizk, (1992)** de *Pistacia lentiscus* (Flavonoïdes (flavonols, Myricétine, Quercétine) et Tannins hydrosolubles **Amram et Akos, (2015)** ; **Dragovic-vzelac et al., (2020)** serait à la base de la différence des résultats obtenus par différents extraits vis-à-vis de la même souche bactérienne.

*Centaurea calcitrapa* est une plante rapportée pour être cytotoxique, et cela par la présence d'autres métabolites à part les polyphénols qui sont les sesquiterpènes lactones selon **Al-Easa et Rizk ;(1992)** ; **Ayad, (2013)**, ces métabolites sont responsables de l'activité antibactérienne par la présence de la cnicin (**Oriani et al., 2004**). Cette cytotoxicité nous fait comprendre que cette plante est capable de détruire les cellules, pour cela **El-Sherbiny et al., (2016)** ont indiqué dans leurs travaux que cette plante exerce un effet bactéricide. Cela peut être l'une des explications pour l'effet antibactérien des extraits de feuilles et des épines de *Centaurea calcitrapa* sur la totalité des souches étudiés.

*Pistacia lentiscus* présente un pouvoir antibactérien, contre les deux types de Gram, selon les travaux de **Bortone et al. (2022)**, elle est active contre les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif. *Pisacia lentiscus* ainsi que *Centaurea calcitrapa* se caractérisent aussi par un effet antibactérien même sur les bactéries multi-résistantes (*Staphylococcus aureus*), comme l'ont expliqué **El-Sherbiny et al. (2016)** et **Bortone et al. (2022)**, pour cela toutes les bactéries étudiées, Gram positif ou Gram négatif, multi résistantes ou non, se sont montrées sensibles voir très et extrêmement sensibles face au extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* (feuille, graine) et de *Centaurea calcitrapa* (Feuilles, épines).

Certaines souches se sont montré résistantes, particulièrement *Kleibsella pneumoniae* qui marque souvent une absence de zone d'inhibition aux deux concentrations (0,5 et 1 mg/disque) par cette méthode de diffusion sur disque, cela peut être justifié par un manque de diffusion de l'extrait sur le milieu solide (Gélose). Pour cette raison, nous avons procédé à l'évaluation de cette activité sur milieu liquide (microdilution), une méthode plus efficace qui facilite le contact bactérie-substance bioactive et aussi dans le but de caractériser l'activité obtenue sur milieu solide par la détermination des concentrations minimales en extraits inhibitrices des souches bactériennes.

## III.3.2 Résultats du test de diffusion sur milieu liquide (Micro-dilution)

D'après les résultats obtenus précédemment, nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité antibactérienne des extraits de *Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus* afin de pallier aux inconvénients de la méthode de diffusion sur milieu solide et de déterminer la concentration minimale inhibitrice. La CMI est définie comme la plus faible concentration du composé antimicrobien qui inhibe complètement la croissance bactérienne. L'objectif de ce protocole est d'avoir une méthode rapide pour dépister les antibactériens potentiels, tout puits avec un milieu clair similaire au puits blanc (bouillon sans culture) indique une absence de croissance bactérienne et considéré donc comme un résultat positif, tandis que tout puits présentant une turbidité équivalente aux puits témoins de croissance bactérienne est considéré comme un résultat négatif indiquant une absence d'inhibition de la croissance bactérienne.

Extraits	<i>Centaurea calcitrapa</i>		<i>Pistacia lentiscus</i>	
	G : Feuilles	H : Epines	B : Feuilles	C : Graines
Bactéries	Concentration minimale inhibitrice (CMI) en mg /ml			
<i>Staphylococcus aureus</i>	<0,125	<0,125	0,25	<0,125
<i>Acenitobacter baumannii</i>	<0,125	1	0,5	1
<i>Pseudomonas sp.</i>	1	4	1	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	0,5	<0,125	0,5	<0,125
<i>Enterococcus faecalis</i>	4	0,5	2	4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	2	0,25	0,25
<i>Bacillus subtilis</i>	0,25	4	0,5	0,5
<i>Salmonella sp</i>	<0,125	0,25	<0,25	<0,125
<i>E. coli</i> (25922) ATCC	0,5	0,5	0,5	0,25

**Tableau IV :** Concentrations minimales inhibitrices (mg/ml) de la croissance bactérienne par les extraits de feuilles et épines de *C. calcitrapa* et feuilles et graines de *P. lentiscus*.

Les résultats obtenus pour la CMI sont en accord à ceux obtenus par la méthode de diffusion sur disques. Toutes les souches utilisées dans ce test étaient sensibles en générale aux extraits de *C. calcitrapa* et *P. lentiscus*. En effet, ils confirment un pouvoir inhibiteur (Antibactérien) des extraits des deux plantes étudiées vis-à-vis des neuf souches testées. Les valeurs de CMI élevées sont probablement dues au fait que les extraits testés sont bruts et la substance à activité antibactérienne (non purifiée) est présente dans l'extrait mais à de faibles concentrations.

Les CMI des extraits les plus efficaces sont égales ou inférieures 0,125mg/ml, témoignant d'une activité antibactérienne très intéressante.

Nos résultats ont indiqué que les extraits de *Centaurea calcitrapa* sont très efficaces sur *S. aureus*, *Salmonella sp*, *Acenitobacter boumannii* et *B. subtilis* pour les feuilles et sur *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *salmonella sp* pour les épines, avec une CMI égale ou inférieure à 0,125mg/ml. Par contre, l'extrait des graines de *P. lentiscus* a montré une efficacité sur *S aureus*, *Salmonella sp* et *P. aeruginosa* avec une même CMI (<0,125mg/ml). Les deux bactéries *Enterococcus faecalis* et *K. pneumoniae* qui ont indiqué une résistance à l'extrait d'épines, vu l'absence des zones d'inhibition sur le milieu solide a pu avoir une sensibilité à cet extrait avec une CMI de (0,5 mg/ml) d'une moyenne de 0,081 mg pour *Enterococcus faecalis* et une CMI de 2mg/ml d'une moyenne de 0,104mg pour *Klebsiella pneumoniae*, qui est probablement dû à un meilleur contact de la bactérie et ces extraits mieux solubilisés dans le milieu solide.

Nous retenons donc des résultats de cette méthode que de nouvelles sensibilités des souches vis-à-vis des extraits des feuilles et épines de *C. calcitrapa*, et feuilles et graines de *P. lentiscus*, comparés aux résultats de la diffusion sur disque, ont été révélés. Nous pouvons constater que le choix de la technique de détermination de la sensibilité antimicrobienne a un impact sur les résultats de sensibilité ou de résistance.



# Conclusion



# Conclusion

---

L'intérêt de l'étude scientifique du pouvoir thérapeutique des plantes médicinales n'a cessé d'augmenter durant ces dernières années, afin de rechercher de nouvelles alternatives aux drogues chimiques, qui sont sans effets néfastes pour la santé humaine et pour l'environnement.

Parmi les plantes en cours d'étude, nous trouvons en particulier les plantes du genre *Centaurea* et *Pistacia* notamment les espèces *Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus*, qui sont des plantes les plus répandues dans le monde et qui ont été sélectionnées pour les tests d'évaluation d'activité bactérienne réalisés avec les extraits éthanoliques des feuilles et épines de *Centaurea calcitrapa* et de feuilles et graines de *Pistacia lentiscus* sur l'inhibition de la croissance des souches bactériennes utilisées avec deux méthodes différentes .

Le dosage des polyphénols totaux qui a été effectuée sur les extraits éthanoliques des feuilles et des épines de *C. calcitrapa* et des feuilles et graines de *P.lentiscus* a montré que les plantes étudiées possèdent des polyphénols totaux, mais a des teneurs différentes. La meilleure parmi ces teneurs est l'extrait de feuilles de *Pistacia lentiscus*, suivi par celles de *Centaurea calcitrapa* puis ses épines et enfin les graines de *Pistacia lentiscus*, ce qui est en cohérence avec les taux de rendements d'extraction.

Cependant, les sensibilités des souches bactériennes les plus importantes ont été enregistrées avec les extraits éthanoliques des feuilles de *P.lentiscus* et de *C.calcitrapa*, qui semblent exercer un effet inhibiteur sur leur croissance, qui est probablement due à la composition chimique des extraits des feuilles des deux plantes étudiées. L'activité inhibitrice observée dans ce travail ne dépend pas seulement de la teneur en polyphénols, mais aussi d'autres substances inconnues qui ont la même activité.

Pour conclure, l'évaluation des extraits de *Centaurea calcitrapa* et de *Pistacia lentiscus* a montré une inhibition bactérienne en général sur toutes les souches et cela est confirmé par les deux méthodes utilisées dans ce travail, sur milieu solide ainsi sur le milieu liquide. Donc il serait intéressant d'élargir l'étude sur d'autres souches et avec d'autres méthodes d'extraction, voire même réaliser une purification des principes actifs responsables de cette activité. Les extraits de *Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus* peuvent être une chance à de nouvelles sources bioactives pour les traitements des pathologies infectieuses.





## Références bibliographiques



# Références bibliographiques

## A

- Akhtar N, Mirza B, ul-Haqaz I. Phytochemical analysis and comprehensive évaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 Medicinal Plant Species. *Arabian Journal of Chemistry*; 2015; 1-13.
- Aras-Perk A.c, Arda N.b, Bona M.c, Erol-Dayi Öa et Pekmez M.b. Total Phenolic Contents, Antioxidant Activities and Cytotoxicity of Three Centaurea Species: C. calcitrapa subsp. calcitrapa, C. ptosimopappa and C. spicata. *Free Radicals and Antioxidants*; 2011; 1:31-36.
- Anne D R, Erika B, Jean M B et Jean M P. Les pompes d'efflux, mécanisme de résistance bactérien. *Revue francophone des laboratoires* ; 2020 ; 519:38-49 .
- Akhtar N, Mirza B et ul-Haqaz I. Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 medicinal plant species. *Arabian Journal of Chemistry*; 2015:1-13.
- Ali-Rachedi F, Meraghni S, Sabrina M et Touaibia N. Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne Scabiosa Atropurpurea sub. Maritima L. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège* ; 2018 ; 87 :13-21.
- Adima AA, Bohui P S G, N'Guessan JD Niamké F B. Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : Azadirachta indica et Psidium guajava. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*; 2018; 046: 50 – 58.
- Al-Easa HS et Rizk AM. Constituents of Centaurea Species. *Qatar Univ. Sci. J*; 1992; 12: 27-57.
- Attarassi B et Bricha S. Facteurs de virulence et épidémiologie liée au pseudomonas aeruginosa. *Revue Tunisienne d'Infectiologi* ; 2009 ; 2 : 7 – 14
- Ayad R. Etude photochimique et activité antioxydante de la plante centaurea melitensis. Thèse de doctorat : Chimie organique. Université Constantine 1, 2013 ; 231.
- Amram R Ákos M. Medicinal and Aromatic Plants of the Middle-East. New York London: Nativ D, Zohara Y, 2014:166-174.

# Références bibliographiques



- Bowassaa E, Cardorellea M, Ikoboa O et Ngakengni P. Prescription des antibiotiques chez le nouveau-né hospitalisé à Brazzaville. Prescription of antibiotics in newbornshospitalized in Brazzaville. *Journal de pédiatrie et de puériculture* ; 2022 ; 35 :29-35.
- Bei L , Changting L, Dongsheng Z ,Yuling Z et Zhenhong C. Molecular pathogenesis of Klebsiella pneumonia. *Future Microbiol*; 2014; 9(9): 1071–1081.
- Bouskraoui M, Benaouda A, Mahmoud M, Soraa N, Zerouali K et Zouhair S.Guides pratique des bacteries pathogènes.Maroc : SOMIPEV, 2017 :26, 27, 29, 42,43.
- Bouguetof I, Boutabia L, Chefrour A, Guenadil F et Telailia S. Composition chimiqueet activité antibactérienne des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège* ; 2016 ; 85 : P174 – 189.
- Barnes J, Elizabeth M. W, Gibbons S, Heinrich M et José M.P G. Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy.chine: A Douglas K et Mark B., 2018: p. 76-81, 85-86, 95.
- Becton M et Dickinson FS. Standard de Turbidité Préparé BBL Mc Farland Turbidity Standard No 0, 5. *BD Company*; 2005; 1-3.
- Belhachat D. Etude phytochimique des extraits de *Pistacia lentiscus* L. Activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide. Thèse de doctorat. Université d’Alger, 2019 ; 296.
- Becker K, Harinder et, MakKar P; 2007. Plant secondary metabolites. Humana Press, Totowa, New Jersey, 2007; 129.
- Bensalek F E. L’utilisation des plantes médicinales pour le traitement des troubles fonctionnels intestinaux dans le contexte marocain. Thèse de doctorat : Médecine. Université caddi ayyad Marrakech, 2018; 121.

# Références bibliographiques



- Chaabani. Eco-extraction et valorisation des métabolites primaires et secondaires des différentes parties de Pistacia lentiscus. Thèse de doctorat en cotutelle, l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse et l'Université de Carthage, 2019.
- Cattoen C, JEHL F J. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Paris : Audrey M, Claude-James S, Cécile P, Emmanuelle V, François C, Gérard L, Jean-Pierre B, Luc D, Marie-Philippe W, Patrick P, Patrice C, Richard B, Vincent C, Vincent J , 2019 : 10, 11, 12.
- (CUITR) Umatilla County Soil & Water Conservation for Confederated Tribes of the UmatillaReservation, Invasive Plants; 2014:51p.
- Cho S,Jonathan G. Epidemiology and antimicrobial resistance research unit, *Review Article*;52.
- Cherbal A,El-adawi H,Kebieche M et Madani K. Extraction and valorization of phenolic compounds of leaves of Algerian Pestacia lentiscus. *Asian jornal of plant sciences*; 2012; 11(3):131-136.
- Cherbal A, Dahmoune F, Madani K, Moussi K, Remini H et Spigno G. Pistacia lentiscus leaves as a source of phenolic compounds: Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction. *Elsevier*; 2014; 61:31-40.



- Djedaia S. Etude physico-chimique et caractérisation du fruit de la plante lentisque (Pistacia lentiscus L.).Thèse doctorat en science, Université Badji Mokhtar-Annaba, 2016-2017.
- Debbabi H, Nemri N et Riahi H. Antimicrobial Effects of Pistacia lentiscus L. Foliar Extracts on fresh turkey breast cutlets .Effets antimicrobiens des extraits foliaires de Pistacia lentiscus L. dans des escalopes de dinde.*Jornal of new sciences*;2017;40(1):2144-2152.

# Références bibliographiques

- Dragovi C-Uzelac V, Dragovi S, Elez Garofuli I, Kruk V, Marti A, Marti I, Pedisi S et Zori Z. Evaluation of Polyphenolic Profile and Antioxidant Activity of Pistacia lentiscus L. Leaves and Fruit Extract Obtained by Optimized Microwave-Assisted Extraction. *Foods*; 2020; (9, 1556):1-15.
- Durosoir J et Thabaut A et. L'Antibiogramme : Méthodes classiques et Méthodes automatisées. *Médecine et Maladies Infectieuses* ; 1979 ; 9 :490-495P.
- Dob T et Dahmane D. Essential Oil Composition of *Centaurea calcitrapa* L. From Algeria. *Journal of Essential Oil Research*; 2009; 21:216-219.
- Dimkić1 I, Gavrilović1 M, Gašić2 U, Ristivojević3 P, Petrović1 M et Stanković1 S. New perspectives of purple starthistle (*Centaurea calcitrapa*) leaf extracts: phytochemical analysis, cytotoxicity and antimicrobial activity, *AMB Express*, 2020; 10:183.
- Duke J A, Duke, Judith L et Peggy-Ann K et Duke's Handbook of medicinal plants of the bible. Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA, 2008; 554.



- El-Sherbiny GM, Moghannem AM et Sharaf M H. Antibacterial activity of medicinal plant (*centauraea calcitrapa*) against multi-drug resistant bacteria (mdrb). *The Asia Journal of Applied Microbiology*; 2016; 3:12-25.
- El Mansouri K. Recherche et évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes médicinales. Thèse de doctorat en médecine Université de Marrakech, 2013 ; 134.



- Grotewold E. The science of Flavonoids. USA: Springer, Business media, Inc, 2006:2.
- Guide illustré de la flore algérienne. Wilaya d'Alger. L'imprimerie Moderne de l'Est, 36, avenue des Ternes, 75017 Paris, 2012; 33.

# Références bibliographiques

- Gauvry E. Modélisation de la sporulation de bacillus subtilis BSB1 et liens physiologiques avec les cinétiques de croissances. Thèse de doctorat. Université de Bretagne occidentale ; 2017.

7

- Hilpert K, Hancock W, Robert E et Wiegand I. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*. 2008; 3(2), 163-175.H

9

- Jone M. Herbal antibiotics. USA; 2015: 16, 35-36.

7

- Kouamé TK, Siaka S, Kassi A et Soro Y. Détermination des teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins de jeunes feuilles non encore ouvertes de *Piliostigma thonningii* (Caesalpinaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci* ; 2021 ; 15: 97-105.

2

- Leone M, Martin C, Textoris J. Sepsis grave et choc septique. Traitement antibiotique. France : Springer Verlag, 2011: 175-176.

# Références bibliographiques

## M

- MNHN et OFB (ED). L., 1753. Inventaire national du patrimoine naturel (INPN). *Fiche de Centaurea calcitrapa* ; 2003
- Morat P H. Flore de la nouvelle-caledonie. 16 rue Buffon Paris. LE MUS6UM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE, 1997 ; 22.
- Moreiraa M.R, Ponceb A.G, Vallea C.E et Rourab S.I. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT*; 2005; 38:565–570.

## O

- Oriani DS, Skliar MI et Toribio MS. Actividad antimicrobiana de centaurea solstitialis y centaurea calcitrapa .Antimicrobial activity of centaurea solstitialis and centaurea calcitrapa. *Ars Pharm* ; 2004 ; 4 : 281-291.

## P

- Patrice B, Emmanuel L. Bacterial Virulence Factors and Rho GTPases. Paris: Compans R.W, Atlanta M.D, Birmingham A, Honjo J, Kyoto H, Koprowski P, Melchers F, Basel · M.B.A, Olsnes S, Potter M, Bethesda M . Vogt L et Wagner H; 2005:1.
- Paul S, Tony H. Atlas de poche de microbiologie 1. Paris : édition Médecine-Sciences Flammarion, 1997 :71.

# Références bibliographiques

## R

- Romani G, Tremblay S .Bacterial infections dysregulate the FGF15-FG FR4 endocrine axis.*BMC Microbiology*.2013; 13:238.10p.

## V

- Vincent C. Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries.Efflux-mediated antibiotics resistance in bacteria. *Pathologie Biologie* ; 2004; 52 : 607–616.
- Veysiere A J. La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires. Diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de bordeaux, 2019.

## *Références web graphiques*

- (1) Coste A.Projet de numérisation de la flore l'abbé coste. (2011). [https://www.tela-botanica.org/eflore/?referentiel=bdtfx&niveau=2&module=pdf-export&action=pdf-export&num\\_nom=49751](https://www.tela-botanica.org/eflore/?referentiel=bdtfx&niveau=2&module=pdf-export&action=pdf-export&num_nom=49751). 04/09/22
- (2) <https://www.fishersci.fr/shop/products/myricetin-98-thermoscientific/15423219#:~:text=La%20myric%C3%A9tine%20est%20utilis%C3%A9e%20comme,neurones%20contre%20les%20contraintes%20oxydatives> .04 /09 /22
- Bush M L et Charles E. Facteurs favorisant l'envahissement microbien. Le manuel MSD rsion pour profession de la santé, 2020.  
<https://www.msmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/biologie-des-maladies-infectieuses/facteurs-favorisant-envahissement-microbien> 28 /05/2022.





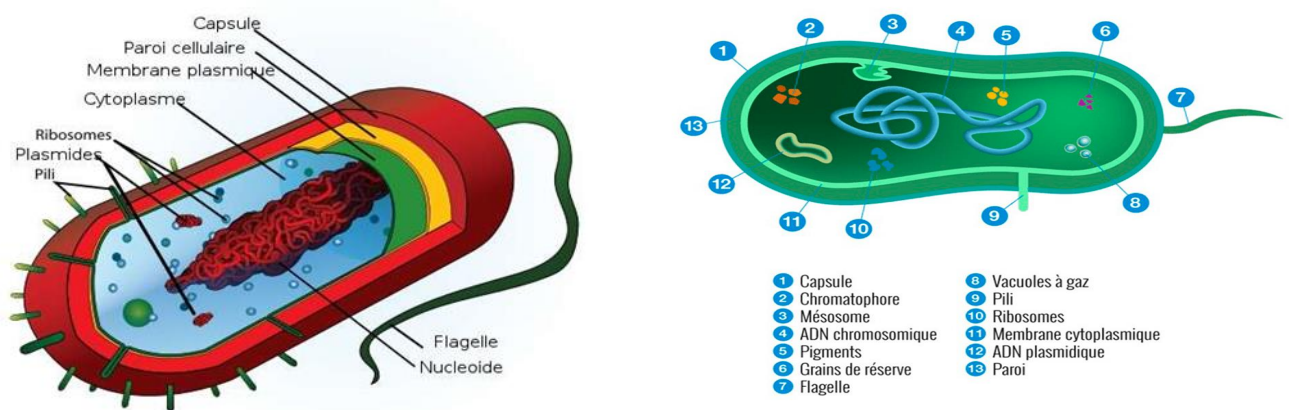
# Annexes



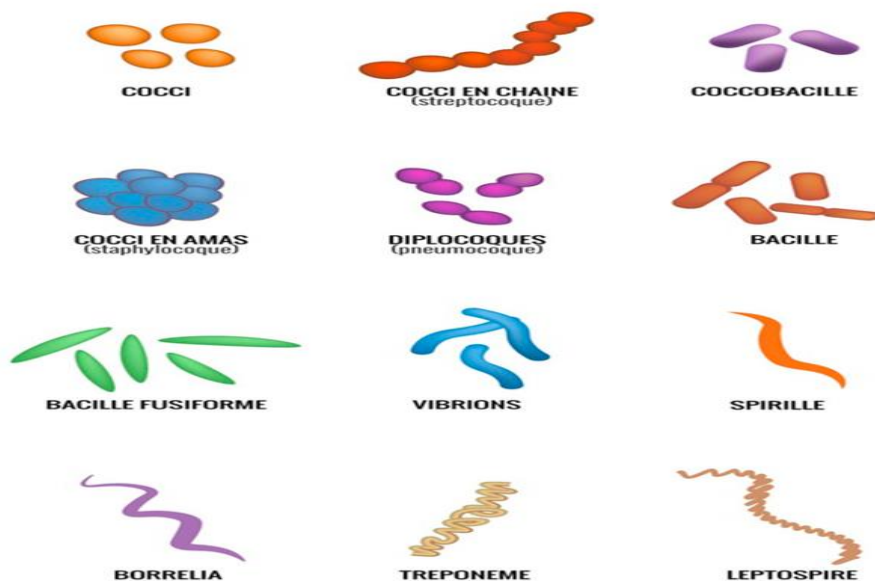
# Annexes

## ➤ Annexes 01

Les bactéries sont des micro-organismes ubiquiste, unicellulaire et sans noyau (procaryote) dont le génome est constitué d'ADN. Celui-ci consiste en un seul chromosome, et on note éventuellement la présence de plasmides (petit morceau d'ADN circulaire). L'ensemble des bactéries forme le règne des eubactéries (Eubacteria). Elles sont capables de se reproduire seuls grâce à la division cellulaire, à l'inverse des virus. Elles peuvent survivre dans des conditions extrêmes et se retrouve dans l'eau, l'air ou le sol.



Les bactéries existent en plusieurs formes illustrées dans la figure ci-dessous



## Annexes

Il existe de bonnes bactéries indispensables à l'homme comme celles présentes dans le tube digestif permettant la digestion ou la production de vitamine K. Il y a également celles utilisées dans le processus de traitement des eaux usées, dans l'agroalimentaire lors de la fabrication des yaourts ou du fromage et dans la production industrielle de médicaments. En revanche, il existe également de mauvaises bactéries, dites pathogènes, pouvant causer des infections et des maladies. Aujourd'hui, on dénombre environ une centaine d'espèces pathogènes sur 5000.

Selon la coloration de gram, on distingue : les bactéries Gram positif qui se colorent en bleu lorsque cette coloration est appliquée. D'autres bactéries se colorent en rouge, elles sont dites Gram négatives.

**Bactéries gram positif** : les bactéries Gram positif possèdent une enveloppe cellulaire constituée d'une membrane cytoplasmique et d'une épaisse paroi, puisqu'elles n'ont qu'une membrane biologique, elles sont aussi appelées bactéries modernes.

### *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des bactéries gram positif, sphériques, aérobies ou anaérobies facultatifs, parfois appelée staphylocoque doré, produit de nombreuses toxines dont les SE, produites par certains *S. aureus* (ceux portant les gènes de ces toxines) et qui sont responsables d'épidémies liées à cette bactérie. Les staphylococcus sont responsables d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et dans certains cas extrêmes de septicémies physiques (greffe, prothèses cardiaques), qui peuvent aussi générer divers désordres digestifs ou cutanés.

La contamination de l'aliment est le plus souvent d'origine humaine. Cette contamination de l'aliment par l'Homme peut avoir lieu par contact direct ou indirect (squames contaminées, gouttelettes issues des voies respiratoires contenant le micro-organisme). La contamination des aliments peut aussi être d'origine animale, la plus fréquente étant la contamination du lait matière première à partir des mammites. *S. aureus* peut aussi causer des infections, parfois mortelles (panaris, etc.).

# Annexes

## *Enterococcus faecalis*

Les entérocoques sont des bactéries à Gram positif qui résident naturellement dans le tractus intestinal des humains et des animaux, y compris les mammifères, les insectes, les reptiles et les oiseaux. On les trouve également dans les environnements tels que l'eau, le sol et les plantes en raison de leur grande tolérance aux différentes conditions. Provoquent toute une gamme d'infections, dont des endocardites, des infections urinaires, des prostatites, des infections intra-abdominales, une cellulite et des infections de plaies, ainsi que des bactériémies concomitantes.

## *Bacillus subtilis*

C'est une bactérie gram positif aéro-anaérobie, sporulée, retrouvée principalement dans le sol, en forme bâtonnet. Elle est non pathogène et est un produit d'altération alimentaire, elle est capable de se développer dans de larges facteurs environnementaux, de sporuler et former des biofilm.

**Bactéries gram négatif** : Les bactéries Gram négatif possèdent une enveloppe cellulaire constituée d'une membrane cytoplasmique (ou membrane interne), d'un périplasme contenant une paroi fine et d'une membrane externe.

## *Escherichia coli*

Le genre *Escherichia* fait partie de la famille des entérobactéries et comprend cinq espèces dont une seule, *Escherichia coli*, est utilisée à titre d'indicateur de la qualité des eaux. La majorité des souches d'*Escherichia coli* ne sont pas pathogènes. Les souches d'*E. Coli* dites entérohémorragiques (ECEH). Ces dernières provoquent des diarrhées sanglantes et produisent une puissante toxine à l'origine du syndrome hémolytique et urémique (SHU).

## *Pseudomonas aeruginosa*

Cette espèce, connue sous le nom de bacille pyocyanique ou bacille du pus bleu, est une bactérie gram-négative du genre *Pseudomonas*. Elle peut, dans certaines conditions, être pathogène. Très résistante, elle est avec d'autres bactéries gram négatif de plus en plus souvent responsable d'infections nosocomiales. *Pseudomonas aeruginosa* est un agent pathogène opportuniste qui «colonise» l'épithélium respiratoire de patients présentant des conditions prédisposâtes, telles la mucoviscidose, la ventilation mécanique, l'immunodéficience ou la présence d'une maladie pulmonaire, comme la BPCO.

## Annexes

### ***Pseudomonas sp***

Le genre *Pseudomonas*, de la famille des Pseudomonadaceae, regroupe des bactéries mobiles aérobies Gram négatif, de 2 à 4 µm de longueur, en forme de bâtonnets renflés, avec un flagelle polaire qui joue un rôle important dans la pathogénicité. *Pseudomonas* spp. sont des agents pathogènes opportunistes qui envahissent souvent le tissu de leurs hôtes et causent une infection et une bactériémie chez les hôtes immunodéprimés (p. ex. VIH/sida, fibrose kystique du pancréas, bronchiectasie et maladie pulmonaire obstructive chronique sévère, brûlures, affection maligne ou diabète sucré). L'infection siège souvent dans les voies respiratoires inférieures et sa gravité varie, allant de la colonisation sans réponse immunologique à la bronchopneumonie nécrosante sévère.

### ***Salmonella.sp***

*Salmonella* est un agent pathogène entérique, mais elle peut être également trouvée dans une grande variété d'hôtes. La salmonelle est traditionnellement considérée comme une bactérie d'origine alimentaire transmise par la viande contaminée et les produits d'origine animale. Les fièvres typhoïde et paratyphoïde potentiellement mortelles sont causées par *Salmonella enterica*.

### ***Klebsiella pneumoniae***

C'est un bacille gramme négatif de la famille des entérobactéries, qui se trouve au niveau de la cavité du tube digestif et les voies aériennes pulmonaires. Il est l'agent causal des infections nosocomiales et communautaires : broncho-pulmonaires, infections urinaires, méningite, purulente, sepsis et il a une augmentation de résistance aux céphalosporines 3G

### ***Acinetobacter baumannii***

C'est une Cocco bacille gramme négatif immobile, aérobie qui se trouve dans l'environnement hospitalier sec (les services de réanimation sont les plus touchés), chez l'homme (la peau et le tube digestif). Pathogène opportuniste et l'agent causal des infections nosocomiales : pneumopathie, bactériémie, sepsis, infections de sites opératoire, infections urinaires. Sa transmission se fait par manuportage. Cette bactérie se caractérise par une résistance croissante aux antibiotiques carbapiménes.

# *Annexes*

## ➤ *Annexes 02*

### **1. Préparation de l'eau physiologique**

Un diluant isotonique peut servir à diluer une suspension bactérienne pour ajuster la turbidité des suspensions bactériennes et faciliter le maintien de l'intégrité de viabilité cellulaire.

Cette solution est composée d'eau distillée et de chlorure de sodium (NaCl) dilué à 9 pour 1000 (C'est à dire une solution à 0,9% de masse/volume de NaCl, soit 9g/l).

### **2. Préparation de milieu BN (Bouillon nutritif)**

Le bouillon nutritif a été préparé pour objectif de culture des microorganismes, repiquage etc. On pèse 20 g de bouillon nutritif (milieu de culture déshydraté) mélangé avec 1L d'eau distillée, sous agitation à l'aide d'un Baro magnétique sur une plaque chauffante pendant quelques minutes, jusqu'à l'ébullition, la solution sera ensuite répartie par volumes de 9ml dans des tubes à essais microbiologiques, pour autoclavage (stérilisation).

### **3. Préparation de milieu (Gélose nutritive)**

La préparation de la Gélose nutritive est basée sur l'introduction de 28.0 g de la poudre (Nutrient Agar) dans un erlenmeyer auquel est ajoutée 1L d'eau distillée. Le mélange obtenu est mis sous agitation continue à l'aide d'un Barro magnétique, sur une plaque chauffante jusqu'à l'ébullition et la solubilisation totale du milieu, qui sera réparti dans des flacons en verre pour autoclavage.

### **4. Préparation de milieu (Gélose Mueller-Hinton)**

La gélose Mueller-Hinton a été préparée dans le but de réaliser des antibiogrammes standards de souches microbiennes par l'ajout de 38g de poudre à 1L d'eau distillée, sous agitation pendant quelques minutes, à l'aide d'un Barro magnétique, sur une plaque chauffante jusqu'à l'ébullition et solubilisation totale du milieu, qui sera réparti dans des flacons en verre pour autoclavage.

### **5. Préparation de milieu (Bouillon Mueller-Hinton)**

La préparation de bouillon Mueller –Hinton est basée sur l'introduction de 20g de la poudre dans un erlenmeyer auquel est ajoutée 1L d'eau distillée, le mélange obtenu est mis sous agitation continue à l'aide d'un Barro magnétique, sur une plaque chauffante jusqu'à

## Annexes

l'ébullition et la solubilisation totale du milieu, qui sera réparti dans des flacons en verre pour autoclavage.

### ❖ Annexes 03

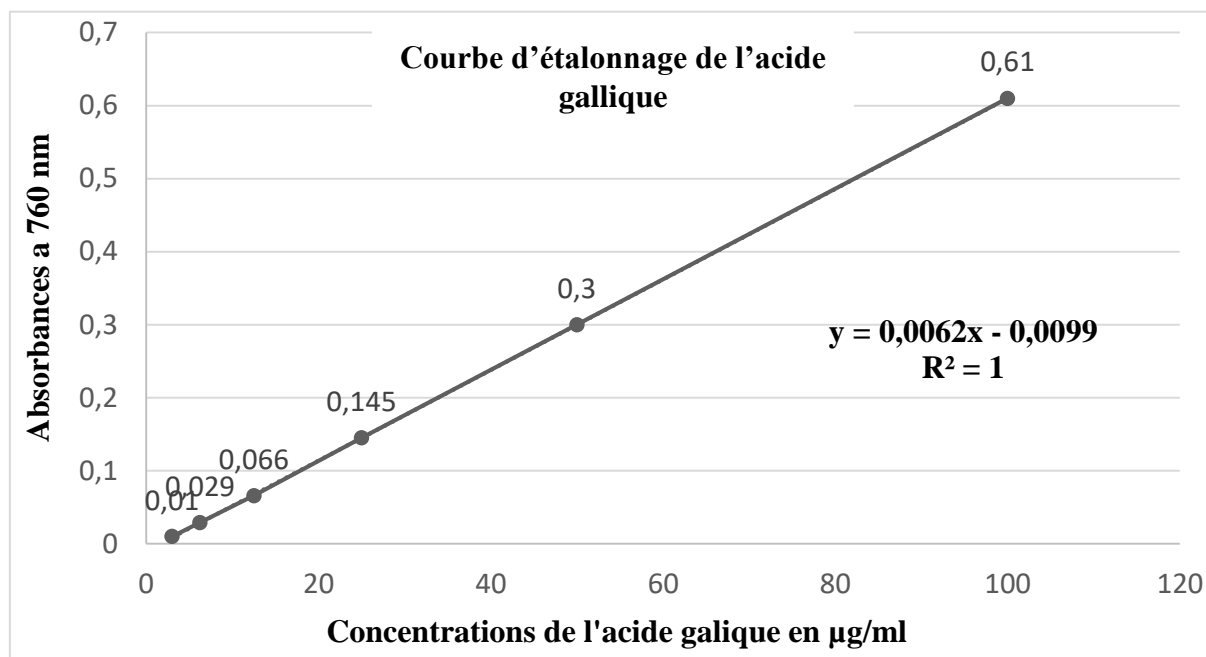


Tableau des diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance bactérienne en fonction de des concentrations en extraits de *C. calcitrapa* et *P. lentiscus*.

Souches bactériennes	<i>Centaurea calcitrapa</i>				<i>Pistacia lentiscus</i>			
	Feuilles		Epines		Feuilles		Graines	
	0,5	1	0,5	1	0,5	1	0,5	1
	Concentration d'extrait par disque (mg /disque)							
	Diamètre des zones d'inhibition (mm)							
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	12	18	10	13	13	17	14	20
<i>Acenitobacter baumannii</i>	20	24	11	15	20	28	15	17
<i>Pseudomonas sp</i>	18	20	15	16	10	15	11	14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	12	13	13	15	11	15	12	16
<i>Enterococcus faecalis</i>	13	21	R	R	11	16	14	15
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11	15	R	10	10	11	12	17
<i>Bacillus subtilis</i>	11	17	10	11	12	17	12	21
<i>Salmonella sp.</i>	12	16	13	13	14	18	12	18
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	13	16	13	17	12	16	11	15

## Résumé

La résistance des bactéries aux antibiotiques désarme le traitement des pathologies infectieuses, une nouvelle source de traitement est obligatoire. La présente étude est consacrée pour l'évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne, des extraits éthanoliques de parties sèches, feuilles et épines de *Centaurea calcitrapa*, feuilles et graines de *Pistacia lentiscus*, contre neuf souches bactériennes. L'effet antibactérien des échantillons était évalué par des tests d'antibiogrammes (Diffusion sur gélose et en milieu liquide par micro-dilution). D'autres parts, le dosage des phénols totaux a été réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu. Les résultats ont révélé des teneurs en phénols totaux plus élevées pour les extraits éthanoliques des feuilles de *Pistacia lentiscus* avec (274,4 mg EAG/g) puis *Centaurea calcitrapa* avec (135,54 mg EAG/g) par rapport au épines et graines. L'évaluation de l'activité antibactérienne a montré que tous les extraits éthanoliques des deux espèces étudiées été presque actif en totalité. Ceci d'après les résultats des tests de détermination de la CMI. Pour conclure, l'évaluation des extraits de *Centaurea calcitrapa* et *Pistacia lentiscus* présentent de nouvelles sources pour la découverte des composés bioactifs antibactériens même cote des souches multi résistantes (MDRB).

**Mots clés :** Activité antibactérienne, *Centaurea calcitrapa*, *Pistacia lentiscus*, CMI.

## Abstract

The resistance on bacteria against antibiotics disarm the treatment of infectious pathologies, so a new source of treatment is needed. The present study is offered for the *in vitro* evaluation of the antibacterial activity of ethanolics extracts of dry parts, of *Centaurea calcitrapa* and *Pistacia lentiscus*, against nine bacterial strains. The antibacterial effect of the samples was evaluated by antibiogram tests (Diffusion on agar and in liquid medium by broth-dilution). On the other hand, the determination of total phenols was performed by the Folin-Ciocalteu method. The results revealed higher total phenol contents for the ethanolics extracts of the leaves of *Pistacia lentiscus* with (274,4 mg AGE/g) then *Centaurea calcitrapa* with (135,54 mg AGE/g) compared to the thorns and seeds. The evaluation of the antibacterial activity showed that all the ethanolics extracts were fully active, indicating the leaves of the two species sought, this according to the results of the tests for determining the MIC. To conclude, the evaluation of *Centaurea calcitrapa* and *Pistacia lentiscus* extracts presents new sources for the discovery of antibacterial bioactive compounds even against multidrug resistant strains (MDRB).

**Key words:** Antibacterial activity, *Centaurea calcitrapa*, *Pistacia lentiscus*, MIC.

## ملخص

مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية تنزع سلاح علاج الأمراض المعدية، مصدر جديد للعلاج إلزامي. الدراسة الحالية مكرسة للتقييم المختبري للنشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات الإيثانولية للأجزاء الجافة، أوراق وأشواك *Centaurea calcitrapa* وأوراق وبذور *Pistacia lentiscus*، ضد تسع سلالات بكتيرية. تم تقييم التأثير المضاد للبكتيريا للعينات عن طريق اختبارات المضادات الحيوية (الانتشار على أجار وفي وسط سائل عن طريق التخفيف الدقيق). من ناحية أخرى، تم تحديد إجمالي الفينولات بواسطة طريقة Folin-Ciocalteu. أظهرت النتائج ارتفاع محتوى الفينول الكلي للمستخلصات الإيثانولية لأوراق *Pistacia lentiscus* (274.4 mg EAG/g) ثم *Centaurea calcitrapa* (135.54 mg EAG/g) مقارنة بالأشواك والبذور. أظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا أن جميع المستخلصات الإيثانولية من النوعين المدروسين كانت نشطة بالكامل تقريبًا. هذا وفقًا لنتائج اختبارات تحديد CIM. في الختام، يقدم تقييم مستخلصات *Centaurea calcitrapa* و *Pistacia lentiscus* مصادر جديدة لاكتشاف المركبات النشطة بيولوجيًا المضادة للبكتيريا حتى ضد السلالات متعددة المقاومة.

**الكلمات الدالة:** النشاط المضاد للبكتيريا، *Centaurea calcitrapa*، *Pistacia lentiscus*، MIC