

République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de  
l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A.MIRA-BEJAIA



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

Réf : .....

## Mémoire

Présenté par

**BIZRICHE Amina & MEHIDI Yamina**

Pour l'obtention du diplôme de

Master Académique

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Thème

**Effet antibactérien des extraits de  
raquette du figuier de Barbarie**

Soutenu le : 02 Juillet 2024

➤ **Devant le jury composé de :**

<b>Mme KASMI Souad</b>	MCB, Université de Béjaïa	Président
<b>Mme ADJEROUD-ABDELLATIF Nawel</b>	MCA, Université de Béjaïa	Encadreur
<b>Mme DJOUDER Zina</b>	MAA, Université de Béjaïa	Examineur

**Année universitaire : 2023/2024**

# Remerciements

Nous exprimons notre profonde reconnaissance envers le Tout-Puissant, Allah, pour nous avoir comblé de courage, de détermination et de santé afin de mener à bien notre travail.

Nous tenons à remercier Madame **Adjerroud Nawel** qui nous a encadrées avec dévouement tout au long de notre mémoire. Son soutien constant, ses conseils éclairés et sa bienveillance ont été des éléments essentiels dans notre parcours académique. Nous soutenons toujours avec une gentillesse remarquable, et nous guidant avec patience et encouragement. Sa présence rassurante et son dévouement sans faille ont fait toute la différence pour nous, et nous lui en sommes profondément reconnaissantes pour son engagement et sa précieuse contribution à notre réussite.

Nos sincères remerciements sont adressés aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail malgré leurs multiples engagements. Nous exprimons notre profonde gratitude envers Madame **KASMI Souad**, qui nous a fait l'honneur de présider ce comité d'évaluation, ainsi que Madame **DJOUDE Zina**, qui nous a fait l'honneur d'évaluer attentivement ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à l'ensemble de nos enseignants qui ont partagé avec nous leur précieux savoir tout au long de notre parcours universitaire, nous permettant ainsi d'acquiescer le niveau scientifique requis pour la réalisation de ce mémoire.

Nous souhaitons exprimer notre sincère reconnaissance envers les ingénieurs du laboratoire Madame **Rania** et Madame **Sihem** pour leur amabilité et leur patience exceptionnelles.

Leur générosité dans la fourniture des produits avec gentillesse et dévouement a été d'une valeur inestimable pour notre projet.

Enfin, nous souhaitons remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont généreusement contribué à la réalisation de ce mémoire. Que ce soit par leurs conseils, leur aide matérielle ou leur soutien moral, leur contribution a été précieuse.

# Dédicace

Je dédie ce mémoire à ceux qui m'ont encouragée et soutenue dans mes moments les plus durs  
À la mémoire de **mon père**, à qui je dois ce que je suis devenue aujourd'hui, qu'Allah l'accueille dans son  
vaste paradis.

**À ma chère mère**, tu représentes pour moi, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas  
cessé de m'encourager et de prier pour moi dans mes durs moments de ma vie. Ta prière et ta bénédiction  
m'ont été d'un grand secours pour mener à bien cette aventure. « Que dieu te garde »  
À ceux qui n'ont cessé de me soutenir, servir et encouragé, à ma sœur **Karima** et mes frères **Mohand, Yazid,**  
**Hocine, Nassim**  
A ma belle-sœur **Nawal** et mon petit neveu **Ali**.

Aucun mot ne peut exprimer mes sentiments d'amour fraternels et d'attachement.  
Vous qui avez toujours été là pour moi, dans les moments de joie comme dans les moments de peine. Vous  
qui m'avez soutenu, encouragé et aimé inconditionnellement tout au long de ce parcours.  
Que ce travail soit le témoignage de ma profonde gratitude pour votre soutien inébranlable et votre confiance  
en moi.

À mes fidèles amis et à tous mes collègues de la promotion, en témoignage de l'amitié qui nous unit et des  
souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite  
une vie pleine de santé et de bonheur.

Je termine en remerciant celle qui m'a accompagné tout au long de mon parcours académique, mon binôme,  
ma chère amie **Amina**.

Ce mémoire est le fruit de nombreuses heures de travail acharné, et les moments de réflexion, de débat et de  
rire partagés avec toi ont été essentiels à la réussite de ce projet.

**Yamina**

Après de longues années de labeur et de défis surmontés, c'est empreint d'une fierté profonde que je choisis  
de dédier ce travail,

**À ma chère maman**, qui a été la lumière qui a éclairé chacun de mes pas, la force qui m'a portée dans les moments les plus sombres, le refuge, et l'inspiration. Sa présence et son amour infini ont été le pilier sur lequel je me suis appuyée à chaque instant. Ma maman est mon exemple, ma boussole, mon plus grand amour. Je suis infiniment reconnaissante pour tout ce qu'elle a fait pour moi, pour chaque instant de bonheur qu'elle a semé sur mon chemin. Je t'aime maman.

**À mon cher papa**, qui est mon exemple de respect, d'honnêteté et de méticulosité. Grâce à lui, j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Reconnaissance pour son amour, sa générosité, et son soutien infaillible. Ce modeste travail est le fruit de ses sacrifices pour mon éducation. Je t'aime et je prie pour ta santé et ton bonheur.

**À ma chère sœur Lisa**, mon modèle et ma source d'inspiration, son amour incommensurable et sa présence ont comblé mon cœur de bonheur. Son influence positive dans ma vie, ses conseils et son soutien inébranlable dans mes études et mes projets sont inestimables.

**À mon cher frère Amine**, complice de mes folies et pilier de ma force, nos liens fraternels sont tissés d'amour et de complicité. Sa présence et son soutien ont embelli chaque chapitre de mon existence.

**À mon beau-frère Amar**, qui a apporté une ambiance positive à notre famille, qui m'a soutenu sans relâche du début jusqu'à la fin. Toujours m'encourageant à aller de l'avant.

**À mes petits amours Aylane et Elena**, mon amour pour eux est infini. Leur présence comble notre famille de bonheur et d'amour. Que dieu veille sur eux et les entoure de sa protection.

**À toute ma famille, tantes, oncles, grand-mère, grand-père**, merci pour votre soutien inconditionnel, vos précieux conseils et vos encouragements.

**À ma chère Lynda**, mon âme sœur qui a été mon pilier du début à la fin, me guidant à travers chaque défi de mon parcours académique et de ma vie. Sa présence a été une lumière dans mes moments les plus sombres.

**À ma chère amie Yamina**, avec qui j'ai partagé ce travail et formé un binôme pendant deux ans, ensemble nous avons vécu tellement de moments intenses, entre stress, peur et joie. Notre collaboration a été enrichissante, formant une équipe solide. Ensemble, nous avons travaillé dur avec détermination, toujours au sommet de notre performance.

**À tous mes amis proches**, avec qui j'ai partagé de précieux moments, ainsi qu'à mes camarades de promotion, je tiens à vous dire que chaque instant vécu ensemble, qu'il soit joyeux ou difficile, demeure gravé dans ma mémoire comme des souvenirs inestimables.

**À mes enseignants**, je souhaite exprimer ma profonde reconnaissance pour votre guidance qui a tracé mon chemin depuis mon enfance jusqu'à ce jour. Les connaissances partagées, le savoir transmis ont été pour moi une source précieuse d'apprentissage et de développement intellectuel. Vous avez été bien plus que des enseignants, vous avez été des figures parentales. C'est grâce à votre dévouement que je suis devenue la personne que je suis aujourd'hui.

**Amina**

## *Liste des Figures*

Numéro de la figure	Légende	Page
<b>Figure 01</b>	<i>Opuntia ficus indica</i> (OFI)	3
<b>Figure 02</b>	Répartition mondiale de l' <i>Opuntia ficus indica</i> .	4
<b>Figure 03</b>	Propriétés médicinales et thérapeutiques du figuier de Barbarie	10
<b>Figure 04</b>	Diverses formes de l'exploitation de l'OFI	11
<b>Figure 05</b>	Les principales classes des composés phénoliques	12
<b>Figure 06</b>	Schéma du dispositif à ultrasons.	14
<b>Figure 07</b>	Vue d'ensemble de la cellule bactérienne	15
<b>Figure 08</b>	Architecture pariétale d'une bactérie à Gram positif (a) et d'une bactérie à Gram négatif (b)	16
<b>Figure 09</b>	Modes d'actions des antibiotiques	19
<b>Figure 10</b>	Localisation de l'échantillon (Google Maps): wilaya de Béjaïa (à gauche), Merdj-Ouamane (à droite)	20
<b>Figure 11</b>	Les principales étapes de préparation des poudres de cladodes	21
<b>Figure 12</b>	Extraction des CPT par ultrasons. Bain ultrasons (a), récupération de l'extrait d'éther de pétrole (surnageant) et formation d'une gomme (culot) après extraction (b)	23
<b>Figure 13</b>	Concentration des extraits à l'aide d'un rotavapor.	24
<b>Figure 14</b>	Protocole de détermination des CMI sur Microplaque	30
<b>Figure 15</b>	Comparaison des teneurs en CPT pour les extraits méthanoliques (EAU) et des extraits d'éther de pétrole des deux extraction EAU et EC.	34
<b>Figure 16</b>	Comparaison des teneurs en FT pour les extraits méthanoliques (EAU) et des extraits d'éther de pétrole des deux extraction EAU et EC.	35
<b>Figure 17</b>	Comparaison de l'activité antioxydante pour les extraits méthanoliques (EAU) et des extraits d'éther de pétrole des deux extraction EAU et EC.	36
<b>Figure 18</b>	Zones d'inhibition observées suite aux tests des disques de l'extrait éther de pétrole sur les souches <i>A. baumannii</i> et <i>P. aeruginosa</i> .	42

<b>Figure 19</b>	Zones d'inhibition observées suite aux tests des puits de l'extrait méthanolique sur la souche <i>E.faecalis</i> et l'extrait d'éther sur la souche <i>S.aureus</i> .	43
<b>Figure 20</b>	Zones d'inhibition observées suite aux tests des spots de l'extrait d'éther sur la souche <i>P.aeruginosa</i> et de l'extrait méthanolique sur la souche <i>S.aureus</i> .	43
<b>Figure 21</b>	Inhibition des croissances bactériennes en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique	45
<b>Figure 22</b>	Effet de l'extrait méthanolique (200 mg/mL) sur la croissance de <i>B. subtilis</i> 100 mg/mL. Les concentrations de 100 et 200 mg/mL correspondent aux lettres B et A, respectivement	46
<b>Figure 23</b>	Inhibition des croissances bactériennes en fonction des concentrations de l'extrait éther de pétrole.	46
<b>Figure 24</b>	Effet des concentrations de l'extrait d'éther de pétrole (EC-apolaire) sur <i>P. aeruginosa</i> (à gauche) et <i>E. faecalis</i> (à droite).	47
<b>Figure 25</b>	Inhibition des croissances bactériennes en fonction des concentrations de l'extrait d'éther de pétrole (EC-Polaire).	48
<b>Figure 26</b>	Effet des concentrations de l'extrait d'éther de pétrole (EC-polaire) de 40, 60, 80 et 100 mg/mL correspondants à D, C, B et A respectivement sur la croissance de <i>E. coli</i> (1) et <i>P. aeruginosa</i> (. Effet des concentrations de 0, 5, 10, 20, 40, 60, 80 et 100 mg/mL correspondent aux lettres H, G, E, F, C, D, B et A pour <i>S. aureus</i> (3 et 4) respectivement.	49
<b>Figure 27</b>	Effet des concentrations de l'extrait d'éther de pétrole (EC-polaire) de 40, 60, 80 et 100 mg/mL correspondants à D, C, B et A respectivement sur la croissance de <i>A. baumannii</i> (1) et <i>E. faecalis</i> (2 et 3). Les concentrations de 0, 5, 10 et 20 mg/mL correspondent aux lettres H, G, E et F, respectivement.	49
<b>Figure 28</b>	Effet des concentrations de l'extrait d'éther de pétrole (EC-polaire) de 0, 5, 10, 20, 40, 60, 80 et 100 mg/mL correspondants à H, G, E, F, C, D, B et A, respectivement pour <i>B. cereus</i> (1 et 2), <i>K. pneumoniae</i> (3 et 4) et <i>B. subtilis</i> (5 et 6).	50

## *Liste des Tableaux*

<b>Numéro de la Figure</b>	<b>Légende</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I</b>	Caractéristiques morphologiques des différentes parties de l'OFI.	6
<b>Tableau II</b>	Composition chimique, en minéraux et en vitamines des différentes parties de l'OFI.	7
<b>Tableau III</b>	Utilisations des différentes parties de l'OFI dans le domaine agroalimentaire	9
<b>Tableau IV</b>	Usage cosmétique et pharmaceutique des différentes parties de l'OFI	10
<b>Tableau V</b>	Teneur en composés phénoliques : polyphénols et flavonoïdes dans les cladodes de l'OFI	13
<b>Tableau VI</b>	Propriétés biologiques des principaux composés phénoliques.	13
<b>Tableau VII</b>	Les souches bactériennes testées.	27
<b>Tableau VIII</b>	L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne	29
<b>Tableau IX</b>	Caractéristiques des cladodes d'OFI	32
<b>Tableau X</b>	Rendement des procédés d'extractions	33
<b>Tableau XI</b>	Comparaison des taux des CPT, FT et Activité antioxydantes des extraits	33
<b>Tableau XII</b>	Diamètres des zones d'inhibition des extraits testés par test des disques	38
<b>Tableau XIII</b>	Diamètres des zones d'inhibition des extraits testés par test des puits	39
<b>Tableau XIV</b>	Diamètres des zones d'inhibition des extraits testés par test des spots	41

# Liste des abréviations

**A. baumannii** : *Acinetobacter baumannii*

**ABTS** : 2,2'-Azino-Bis (3-ethylbenzoThiazoline-6-Sulphonic acid)

**AlCl<sub>3</sub>** : Chlorure d'aluminium

**ATCC** : American Type Culture Collection = Collection américaine des cultures type

**B. cereus** : *Bacillus cereus*

**B. subtilis** : *Bacillus subtilis*

**BN** : Bouillon Nutritif

**CAET** : Capacité Anti-oxydante Equivalente au Trolox

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide

**CPT** : Composés Phénoliques Totaux

**DO** : Densité Optique

**E.A.U** : Extraction Assistée par Ultrasons

**E.C** : Extraction Conventionnelle

**E. coli** : *Escherichia coli*

**E. faecalis** : *Enterococcus faecalis*

**FT** : Flavonoïdes Totaux

**IC50** : Inhibitory Concentration 50%

**K. pneumoniae** : *Klebsiella pneumoniae*

**mg EAG/g MS** : milligramme d'Acide Gallique/gramme de Matière Sèche

**mg EQ/g MS** : milligramme d'Equivalent Quercétine/gramme de Matière Sèche

**MH** : Mueller Hinton

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium

**OFI** : *Opuntia ficus-indica*

**P. aeruginosa** : *Pseudomonas aeruginosa*

**rpm** : rotation par minute

**S. aureus** : *Staphylococcus aureus*

**S. typhi** : *Salmonella typhi*

# Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
Chapitre I . Synthèse bibliographique .....	3
Partie 01 : Généralités sur <i>Opuntia ficus indica</i> .....	3
I.1.1. Définition .....	3
I.1.2. Historique et distribution.....	3
I.1.3. Taxonomie.....	4
I.1.3.1. Classification.....	4
I.1.3.2. Appellation .....	5
I.1.4. Description botanique .....	6
I.1.5. Composition d’OFI .....	7
I.1.6. Utilisations de figuier de Barbarie .....	8
•  Domaine agro-alimentaire.....	8
•  Domaine médical et cosmétique .....	9
Partie 02 : Composés phénoliques et méthodes d’extractions.....	12
I.2.1. Définition.....	12
I.2.2. Classification.....	12
I.2.3. Teneur en composés phénoliques des cladodes .....	13
I.2.4. Effets biologiques des composés phénoliques .....	13
I.2.5. Méthodes d’extraction des composés phénolique .....	14
I.2.5.1.Extraction assistée par ultrasons (EAU) .....	14
Partie 03 : Bactériologie.....	15
I.3.1.Introduction .....	15
I.3.2.Définition et morphologie des bactéries.....	15
I.3.3..Communautés bactériennes étudiées.....	16
I.3.3.1.Bactéries à Gram (+) .....	16
1.a) <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
1.b) <i>Bacillus subtilis</i> .....	17
1.c) <i>Bacillus cereus</i> .....	17

1.d) <i>Enterococcus faecalis</i> .....	17
I.3.3.2. Bactéries à Gram (-) .....	17
2.a) <i>Escherichia coli</i> .....	17
2.b) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	18
2.c) <i>Salmonella typhi</i> .....	18
2.d) <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	18
2.e) <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	18
I.3.4. Les antibiotiques.....	19
I.3.4.1. Définition .....	19
I.3.4.2. Classification.....	19
Chapitre II Matériels et méthode.....	20
II.1. Cadre de l'étude .....	20
II.2. Matériel du laboratoire .....	20
II.3. Récolte du matériel végétal.....	20
II.4. Procédé et étapes de préparation de la poudre de cladode.....	21
II.5. Taux d'humidité.....	22
II.6. Extraction végétale.....	22
II.6.1. Extraction assistée par ultrasons (EAU) .....	23
II.6.2. Extraction conventionnelle (EC).....	23
II.6.3. Séchage et récupération des extraits par évaporateur rotatif (rotavap) .....	24
II.7. Dosages colorimétriques .....	25
II.7.1. Dosage des composés phénoliques totaux (CPT).....	25
II.7.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	25
II.7.3. Evaluation de l'activité antioxydante par le test de l'ABTS.....	26
II.8. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	27
II.9. Les souches bactériennes testées .....	27
II.9.1. Préparation de l'inoculum.....	27
II.10. Les tests antibactériens .....	28
II.10.1. Test de diffusion en disque .....	28
II.10.2. Test de diffusion par puits.....	28
II.10.3. Test des spots .....	29
II.10.4. Concentration minimale inhibitrice (CMI) .....	30
II.11. Analyse statistique .....	31

Chapitre III : Résultats et Discussion .....	32
III.1. Identification de la plante .....	32
III.2. Test d'humidité et matière sèche.....	32
III.3. Rendements des extractions .....	32
III.4. Dosages des CPT, FT et évaluation des activités antioxydante .....	33
III.5. Activités antibactériennes.....	37
III.5.1. Les tests réalisés .....	37
III.5.1.1. Test des disques et puits .....	37
III.5.1.2. Test des spots.....	40
III.5.2. Microdilution : concentration minimale inhibitrice (CMI) .....	44
III.5.2.1. Test de microdilution avec extrait Méthanolique .....	44
III.5.2.2. Test de microdilution avec extrait éther de pétrole (apolaire) .....	46
III.5.2.3. Test de microdilution avec extrait éther de pétrole ( polaire) .....	47
Conclusion .....	53
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

# **Introduction**

La quête de nouvelles substances antibactériennes issues de sources naturelles et l'exploration des plantes utilisées en médecine traditionnelle représentent un domaine de recherche florissant depuis de nombreuses années. Les laboratoires pharmaceutiques demeurent engagés dans la découverte de composés actifs novateurs, l'analyse et la caractérisation des molécules naturelles, ainsi que le développement de médicaments dérivés de ces substances naturelles en s'inspirant de leurs structures moléculaires pour concevoir de nouvelles thérapies.

Les principes actifs présents dans les plantes médicinales, majoritairement des métabolites secondaires, offrent un potentiel prometteur pour la création de médicaments efficaces. La recherche actuelle accorde une importance capitale à l'élaboration de nouvelles substances chimiques dotées d'une action antibactérienne et à l'amélioration des propriétés thérapeutiques des antibiotiques existants, ainsi qu'à des adaptations pharmacologiques appropriées (**Fettah et al., 2018**).

La lutte contre les infections bactériennes devient de plus en plus complexe en raison de la résistance développée par de nombreuses bactéries aux antibiotiques, ce qui représente un problème de santé majeur à l'échelle mondiale. Parallèlement, les effets indésirables des molécules synthétiques utilisées contre le stress oxydant et les infections bactériennes suscitent des inquiétudes croissantes. Il est donc essentiel d'explorer des alternatives à l'utilisation d'antioxydants synthétiques et d'antibiotiques conventionnels (**Abdellah et al., 2019**).

De nos jours plus de 4000 espèces des plantes sont utilisés en médecine traditionnelle et en médecine moderne. En effet 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale (**Fettah et al., 2018**).

Parmi ces espèces, l'*Opuntia ficus indica* (OFI), appartenant à la famille des Cactacées et poussant dans les régions arides et semi-arides du monde, parmi eux l'Algérie. Ses différentes parties, comme les cladodes (ou raquettes jouant le rôle de tige), la fleur, et le fruit, possèdent des constituants et des activités biologiques intéressantes (**Welegerima et al., 2018**).

L'OFI est l'un des cactus les plus importants pour son usage agronomique et médicinal dans de nombreux pays, car il représente une source potentielle de divers composés chimiques d'importance biologique et pharmacologique. Les métabolites secondaires des plantes présentent des avantages thérapeutiques reconnus. Depuis longtemps utilisés comme médicaments traditionnels pour la guérison sans connaître l'origine exacte de leurs actions, la caractérisation de leurs métabolites secondaires a fait l'objet de nombreuses recherches basées sur des études *in vitro* et *in vivo* (**Loukili et al., 2022**).

C'est notamment le cas des composés phénoliques, dont les polyphénols et les flavonoïdes. Ces composés sont largement utilisés en thérapie en raison de leurs activités anti-inflammatoires, inhibitrices d'enzymes, antioxydantes et antiradicalaires. Ils sont également utilisés comme additifs dans l'industrie alimentaire, pharmaceutique et cosmétique. De nombreux chercheurs ont concentré leurs investigations sur la caractérisation des propriétés des plantes du genre *Opuntia* afin de constituer une base de données utile pour la prévention et le traitement des maladies chroniques.

En particulier, les plantes de ce genre sont connues pour leurs propriétés antihyperglycémiques, inflammatoires, antifongiques, anticancéreuses, hépatoprotectrices et antidiabétiques (Mariod, 2019).

D'où notre intérêt pour cet axe, ainsi l'objectif principal de ce travail est d'évaluer l'effet antibactérien des extraits de raquettes de *Opuntia ficus indica*. Plus précisément, il vise à quantifier les composés bioactifs présents dans ces extraits obtenus par deux solvants d'extraction différents, afin de mettre en épreuve l'activité antibactérienne contre différentes souches bactériennes pathogènes en utilisant plusieurs méthodes, permettant ainsi de vérifier leur efficacité et spectre d'action. Peu de travaux existent en Algérie sur cela, et plus particulièrement à partir de plantes de la région de Béjaia.

Le présent mémoire a été structuré en trois parties : la première partie est consacrée à l'étude bibliographique portant sur des généralités de *Opuntia ficus indica* et ces composés phénoliques et sur la technique d'extraction adoptée.

Dans la seconde partie, on décrit en détail les modes opératoires et le matériel utilisés lors de l'extraction des composés phénoliques, ainsi que les techniques établies qui permettent de tester l'effet antibactérien des extraits.

La troisième et dernière partie est réservée aux résultats expérimentaux obtenus ainsi que leurs interprétations, qui donnent lieu à une conclusion générale et à des recommandations futures.

# **Chapitre I**

## **Synthèse bibliographique**

**Partie 1**  
**Généralités sur**  
*Opuntia ficus indica*

## I.1. Généralités sur *Opuntia ficus indica* :

### I.1.1. Définition :

L'*Opuntia ficus indica* (L.) Mill, plus connu sous le nom de figuier de Barbarie ou cactus nopal, fait partie de la famille des Cactacées. Cette plante dicotylédone angiosperme est réputée depuis l'Antiquité pour sa capacité à survivre dans des environnements hostiles où la plupart des autres végétaux peinent à survivre (Belhadj *et al.*, 2021). Utilisée depuis longtemps comme source de nourriture, de fourrage et de boisson pour les humains et les animaux, l'*Opuntia ficus indica* joue également un rôle crucial dans la prévention de l'érosion des sols et la lutte contre la désertification.

Sur le plan médical, elle est reconnue pour ses propriétés thérapeutiques et sa teneur élevée en molécules bioactives (Rocchetti *et al.*, 2018).



Figure 01. *Opuntia ficus indica* (OFI).

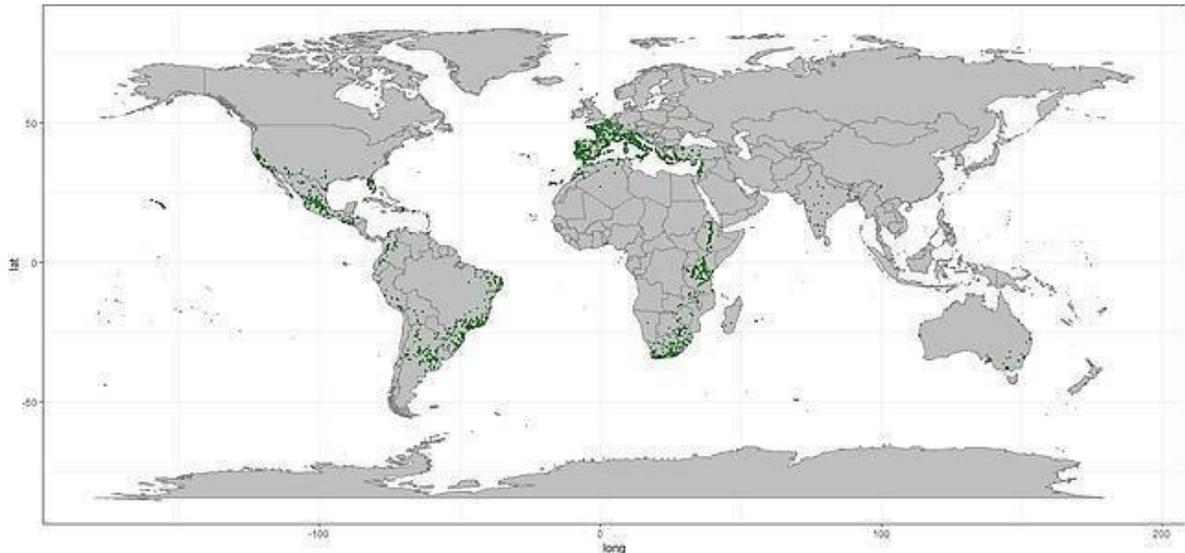
### I.1.2. Historique et distribution :

L'*Opuntia ficus indica* est une plante succulente originaire des régions arides et semi-arides de l'Amérique tropicale (sud des États-Unis et Mexique), où elle est connue sous le nom de nopal et figure sur le drapeau Mexicain. Inconnue en Europe avant les voyages de Christophe Colomb, elle fut décrite pour la première fois de manière précise en 1535 par l'Espagnol Gonzalo Fernandez de Oviedo y Valdés dans son ouvrage « Histoire des Indes occidentales ».

Le figuier de Barbarie est arrivé en Europe vers 1552, rapporté par les Espagnols, et s'est rapidement répandu dans tout le bassin méditerranéen. Sa culture s'est étendue au royaume de Naples et en Sicile.

Au début du XVI<sup>e</sup> siècle, le figuier de Barbarie s'est étendu dans le bassin méditerranéen suite aux expansions espagnoles ainsi qu'au retour des Maures en Afrique du Nord après leur expulsion par Philippe III en 1610. Ils ont apporté avec eux cette plante « l'arbre à figue Indien » avec ses fruits succulents, qu'ils ont rapidement intégrée dans leurs villages la rendant caractéristique du paysage.

L'*Opuntia* se développe dans diverses régions et sous divers climats, principalement dans les zones tropicales et subtropicales à faible pluviométrie. Sa distribution géographique s'étend largement de puis son pays d'origine, le Mexique, vers la Sicile, le Chili, le Brésil, la Turquie, la Corée, l'Argentine, ainsi que la partie ouest de la Méditerranée : le sud de l'Espagne, le Portugal et l'Afrique du Nord (Tunisie, Algérie et Maroc) (Adjeroud, 2017, Zeghib, 2023, Mariod, 2019, Inglese, 2018).



**Figure 02.** Répartition mondiale de l'*Opuntia ficus indica* (Buckland *et al.*, 2022).

### **I.1.3. Taxonomie :**

#### **I.1.3.1. Classification :**

Les cactus font référence à la famille botanique des *Cactaceae*, qui comprend environ 1600 espèces réparties en 130 genres et divisées en trois sous-familles : *Pereskioideae*, *Opuntioideae* et *Cactoideae*. Dans l'ordre des *Caryophyllales*, le genre botanique *Opuntia* est le plus commun et regroupe plus de 300 espèces (Benattia and Arrar, 2018), dont l'*Opuntia ficus-indica* (L.), souvent abrégé en OFI.

Le nom scientifique de cette espèce a été attribué en 1700 par le botaniste français Joseph Pitton de Tournefort, du fait de sa ressemblance avec les plantes épineuses qui poussaient dans l'ancienne ville grecque d'Opus (ou Opunte). En raison de sa longue domestication, l'OFI se caractérise par une grande variabilité génétique. Sa taxonomie est complexe et ses phénotypes varient selon les conditions environnementales, ce qui augmente la diversité de ses réponses adaptatives (Martins *et al.*, 2023).

La classification taxonomique du figuier de Barbarie est la suivante (Harrat, 2020) :

**Règne :** *Plantae*

**Sous règne :** *Tracheobionta*

**Division :** *Magnoliophyta*

**Classe :** *Magnoliopsida*

**Sous classe :** *Caryophyllidae*

**Ordre :** *Caryophyllales*

**Famille :** *Cactaceae*

**Sous-famille :** *Opuntioideae*

**Tribu :** *Opuntieae*

**Genre :** *Opuntia*

**Espèce :** *ficus indica*

**Nom binominal :** *Opuntia ficus indica* (L.) Miller, 1768

*Opuntia ficus indica* est une plante sans épines. Selon (Kiesling 1998), il n'existe que deux formes, toutes deux appartenant à *O. ficus indica* ; une avec épines : *O. amyclae* et *O. mégacantha*, et la seconde sans épines : *O. ficus indica*. Les deux formes sont présentes en Algérie (Mahdeb *et al.*, 2022).

### **I.1.3.2. Appellation :**

L'*Opuntia ficus indica* (L.) Miller est l'espèce la plus répandue à travers le monde. Néanmoins, elle peut être appelée par différents noms selon la langue locale. Ainsi, une seule espèce de nopal peut être identifiée par des noms distincts en fonction de la localisation géographique ou du pays de culture.

➤ Voici quelques appellations du figuier de Barbarie (Adjeroūd, 2017) :

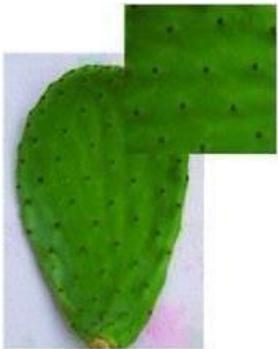
- L'appellation grecque : *Opuntia*.
- Le nom espagnol : Tunas.
- Le nom anglais : Prickly pear (poire à épines)
- Le nom français : Figuier de Barbarie.
- Le nom arabe : El-Tin-el-choki ; El-Handi ou Karmouss En-nassara
- Le nom kabyle : Akermousse ; Takermousth.

### I.1.4. Description botanique :

*Opuntia ficus indica* est une plante xérophyte, succulente qui peut atteindre de 3 à 5 mètres de hauteur, elle est caractérisée par un épais épiderme, un revêtement cireux et une tige composée d'une peau dure qui entoure une couche extérieure de chlorenchyme et un noyau central (parenchyme), riche en tissus aquifère permettant d'emmagasiner l'eau de pluie absorbée et de la préserver pendant les périodes de sécheresse et de chaleur. De même, les tiges sont couvertes d'épines qui sont des feuilles modifiées. Le **Tableau I** montre les diverses parties de l'OFI.

Bien que la structure globale de ces plantes est assez complexe et ne correspond pas aux critères morphologiques habituels, les cladodes (ou raquettes) prennent le relais des feuilles dans le processus de photosynthèse (Hadj Sadok, 2010., Angulo-Bejarano, 2014).

**Tableau I.** Caractéristiques morphologiques des différentes parties de l'OFI..

Compartment	Descriptions	Photographies
<b>Taille</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▸ Plante arborescente robuste de 3 à 5 mètres de hauteur.</li> </ul>	
<b>Système racinaire</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▸ Les racines de l'OFI sont peu profondes et charnues, s'étendant horizontalement. Elles sont capables de s'adapter efficacement aux environnements difficiles, développant des racines secondaires charnues pour atteindre les couches de sol plus profondes en cas de sécheresse intense (A. Mazari, 2021).</li> </ul>	
<b>Cladodes</b>	<p>Appelés aussi raquettes, ce sont des articles aplatis de forme elliptique ou ovoïdale, de couleur vert mat. Ils mesurent de 30 à 50 cm de longueur, de 15 à 30 cm de largeur et de 1,5 à 3 cm d'épaisseur, et sont couverts de petites aréoles, d'épines et de glochides blancs. Ils assurent la fonction chlorophyllienne (Souad, 2013, Mahdeb, 2022).</p>	

<p><b>Fleurs</b></p>	<p>▸ Elles sont marginales sur le sommet des cladodes, sont hermaphrodites, de couleur jaune et deviennent rougeâtres à l’approche de la sénescence de la plante (Martins <i>et al.</i>, 2023, Souad, 2013).</p>	
<p><b>Fruits</b></p>	<p>▸ Une baie charnue de couleur variable (vert, jaune, rouge, violet...), de forme (ovoïde, ronde, allongée), d’une pulpe juteuse et de nombreuses petites graines, dont le poids peut varier de 75 to 200 g (Aragona <i>et al.</i>, 2018, Barba <i>et al.</i>, 2020).</p>	

**I.1.5. Composition d’OFI :**

L’*Opuntia ficus indica* (OFI) est renommée pour sa richesse en éléments nutritifs (Tableau II). Chaque partie de cette plante présente une composition chimique unique, influencée par des facteurs tels que l’âge de la plante, les conditions climatiques et édaphiques, le lieu de culture, le type de sol et la saison. Par conséquent, les concentrations en éléments nutritifs ne doivent pas être considérées comme des valeurs absolues (Kharrassi, 2015).

**Tableau II.** Composition chimique, en minéraux et en vitamines des différentes parties de l’OFI.

Composition		Partie de figuier de Barbarie			Références
		Cladodes	Fruit	Graines	
Composition chimique (%)	Eau	89 - 91	84	6,50	(Silva <i>et al.</i> , 2021) (Dulce <i>et al.</i> , 2014) (Cota-Sánchez, 2016)
	Glucides	38 –61,4	12–17	8,1 – 14	
	Protéines	6,7 -11,73	0.21–1.6	11.8	
	Lipides	0,1 – 2,16	0.09–0.7	6.77	
	Cendres	14,4 -23,05	0.3–1	1,29 -1,71	
Composition en minéraux (%)	Potassium (K)	224 ± 74	161	122-275	(El-Mostafa <i>et al.</i> , 2014)
	Calcium (Ca)	177 ± 31	27.6	92-258	
	Sodium (Na)	1,71 ± 0,99	0,8	<0,8-12	
	Fer (Fe)	0,13	1.5	1,2-12,1	

	Magnésium (Mg)	94,10 ±28,3	27,7	79-208	
	Zinc (Zn)	0.37 ±0.2	1,5	1,4-4,2	
Composition en vitamines (mg/100g)	Vitamine C	7-77	26-72	-	(El-Mostafa <i>et al.</i> , 2014)
	Vitamine B1	0,14	0,35	-	
	Vitamine E (α -Tocophérol)	-	7,9	33	(Zeghib, 2023)
	Vitamine B2	0,60	7,65	-	

### I.1.6. Utilisations de figuier de Barbarie :

L'utilisation du nopal au Mexique remonte aux anciennes civilisations mésoaméricaines, qui récoltaient les cladodes et les fruits à des fins alimentaires et médicinales.

Récemment, la culture de cette plante a suscité un regain d'intérêt, compte tenu de l'accumulation des connaissances sur les bienfaits de la consommation de ces produits pour la santé, d'une part, et des bénéfices commerciaux substantiels qui peuvent être tirés de la valorisation des produits et sous- produits à haute valeur ajoutée, d'autre part.

De même, divers avantages attribués aux effets des extraits de cactus ont été suggérés pour une utilisation dans la médecine traditionnelle et même en cosmétique. Ces avantages ont progressivement acquis une base scientifique grâce à de nombreux modèles expérimentaux consacrés à l'évaluation des divers composés dérivés de la plante (Mariod, 2019).

#### • Domaine agro-alimentaire :

La principale utilisation du figuier de Barbarie est indéniablement la consommation de son fruit frais. Cependant, les parties végétatives, comme les cladodes, sont souvent utilisées comme nourriture pour les animaux, fourrage ou simplement éliminées dans les décharges. Il est crucial de rappeler que sa culture est indispensable dans les milieux arides et semi-arides, car à certaines périodes de l'année, elle constitue la seule source de nourriture disponible pour le bétail.

Ces dernières années, toutefois, non seulement les fruits mais aussi les jeunes cladodes ont commencé à servir de matière première pour la fabrication de divers produits de consommation dans certains pays (Rocchetti *et al.*, 2018).

Plusieurs études ont démontré que différentes parties d'*Opuntia ficus indica* sont riches en nutriments, comme les minéraux, les vitamines et les composés bioactifs, et peuvent être utilisées pour enrichir de nouveaux aliments fonctionnels (biscuits , confiture...etc) (Mariod, 2019).

Le **Tableau III** suivant résume quelques utilisations de différentes parties de cette plante dans le domaine agroalimentaire :

**Tableau III.** Utilisation des différentes parties de l’OFI dans le domaine agroalimentaire.

Partie d’OFI	Utilisations	Références
<b>Fruits</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Fabrication de jus, concentrés, confitures et marmelades, etc.</li> <li>▪ Utilisation comme colorant naturel et édulcorant (le carmin :E120).</li> </ul>	<b>(Benattia and Arrar, 2018)</b>
<b>Cladodes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Production de conserves à base de vinaigre.</li> <li>▪ Utilisation en tant que légumes.</li> <li>▪ Complément alimentaire pour les bovins et les ovins.</li> <li>▪ Barrière contre la désertification et l’érosion des sols.</li> <li>▪ Transformé en farine pour remplacer celle de blé dans les cookies.</li> <li>▪ La poudre utilisée comme agent épaississant dans les soupes de légumes</li> </ul>	<b>(Felkai-Haddache et al., 2015) (Inglese, 2018) (Msdakk, 2018) (E.Cherif, 2016)</b>
<b>Fleurs</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Apiculture (source nutritive très appréciée par les abeilles).</li> </ul>	
<b>Graines</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Production de farine.</li> </ul>	<b>(Benattia and Arrar, 2018)</b>

#### • **Domaine médical et cosmétique :**

Les ingrédients bénéfiques et biologiquement actifs extraits d'*Opuntia ficus indica* ont fait l'objet d'une attention considérable dans la prévention et le traitement de plusieurs maladies, notamment l'hypercholestérolémie, le diabète, l'hypolipidémie, les douleurs articulaires, le contrôle du poids et certains effets neuroprotecteurs (Mendez et al., 2015, El-Hawary et al., 2020). La **Figure 03** et le **Tableau IV** montrent les propriétés médicinales du figuier de Barbarie et les usages cosmétiques et médicinales, respectivement.

Ces biomolécules hautement actives sont connues sous le nom de produits phytochimiques (riches en minéraux, bétalaïnes, hydrates de carbone, vitamines, antioxydants, polyphénols et taurine) ; on les trouve principalement dans les fruits et les cladodes, qui sont réputés pour leurs propriétés bénéfiques pour la santé humaine (Mariod, 2019).

Les polyphénols sont largement présents dans l’*Opuntia ficus indica*, il a été démontré qu'ils ont une aptitude pharmacologique grâce à leur capacité anti-inflammatoire, antibactérienne et antioxydante, ce qui rend l’OFI appropriée pour une utilisation actuelle et future dans les cosmétiques dont la fabrication des shampoings, des assouplissants des cheveux, des crèmes dermiques et des laits hydratants (Shoukat et al., 2023).

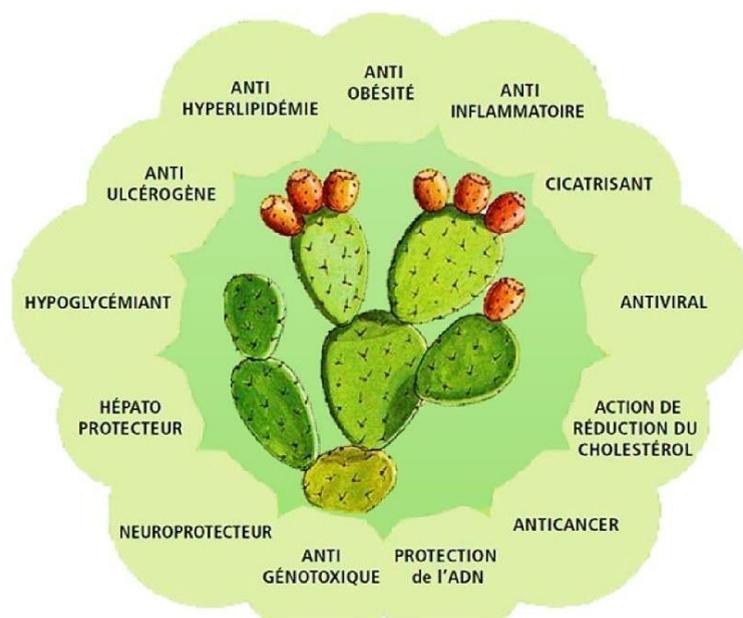


Figure 03. Propriétés médicinales et thérapeutiques du figuier de Barbarie (Inglese, 2018)

Tableau IV. Usage cosmétique et pharmaceutique des différentes parties du figuier de barbarie (Boutakiout, 2017).

Partie	Usage
Les cladodes	▪ Le mucilage : fabrication des shampoings des crèmes dermiques et des laits hydratants.
	▪ La poudre : contrôle du sucre et du cholestérol dans le sang.
Les fruits	▪ Thé : remède aux maux des reins
	▪ Capsules : régulant diurétique.
	▪ Bouilli : remède aux douleurs gastro intestinales et aux brulures et coups de soleil.
Les huiles essentielles des graines	▪ Fabrication des crèmes dermiques antirides. ▪ Commercialisation directe après l’extraction.

Ci-dessous quelques formes de l'exploitation des différentes parties de l'OFI (**Figure 04**). Que ça soit en cosmétique avec les diverses préparations (crème hydratante, huile essentielle...) faites à partir du fruit, des cladodes ou des graines, ou bien en agroalimentaires sous forme de confiture, de jus, ou de plats à base de cladodes.



**Figure 04.** Diverses formes de l'exploitation de l'OFI (Anonyme 1).

## **Partie 02**

# **Composés phénoliques et méthodes d'extractions**

**I.2.1. Définition :**

Les composés phénoliques, sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique avec des groupements hydroxyles libres ou liés à un glucide. On les trouve dans toutes les parties des plantes supérieures, notamment les racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois.

Ils jouent un rôle essentiel dans divers processus physiologiques tels que la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines et la maturation des fruits. Parmi eux, les plus courants sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (Boizot and Charpentier, 2006).

**I.2.2. Classification :**

Selon leurs caractéristiques structurales, les composés phénoliques se répartissent en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, carbone porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH). Les phénols simples sont formés d'un seul groupe phénol, les polyphénols majoritaires sont formés d'au moins 2 groupes phénols.

Les principales classes des polyphénols sont représentées dans la Figure 05 (Santos-Buelga et al., 2012) :

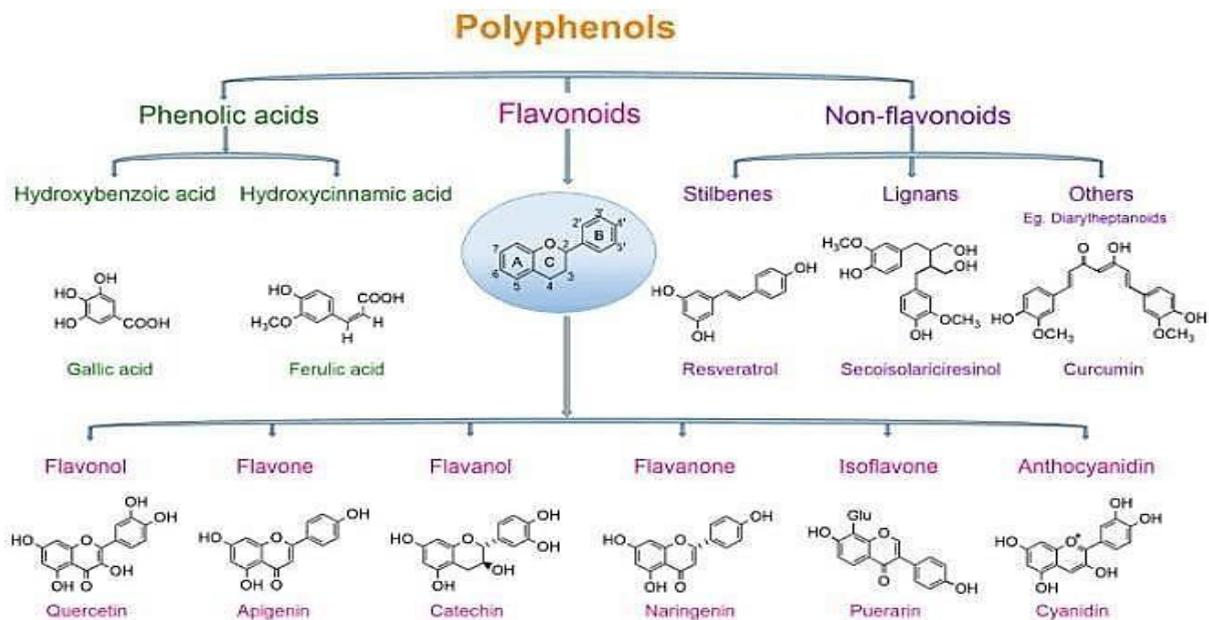


Figure 05 . Les principales classes des composés phénoliques.

### I.2.3. Teneur en composés phénoliques des cladodes :

La caractérisation des divers composés phénoliques des végétaux est une étape clé pour l'identification des extraits. La composition phénolique des cladodes du figuier de Barbarie est représentée dans le **Tableau** suivant :

**Tableau V.** Teneur en composés phénoliques : polyphénols et flavonoïdes dans les cladodes de l'OFI (Kharrassi, 2015b).

Composé phénolique	Teneur (mg/100 g)
Acide gallique	0.64–2.37
Acide coumarique	14.08–16.18
Acide 3,4-dihydroxybenzoïque	0.06–5.02
Acide 4-hydroxybenzoïque	0.5–4.72
Acide férulique	0.56–34.77
Acide salicylique	0.58–3.54
Isoquercétine	2.29–39.67
Isorhamnetin-3-O-glucoside	4.59–32.21
Nicotiflorine	2.89–146.5
Rutine	2.36–26.17
Narcissine	14.69–137.1

### I.2.4. Effets biologiques des composés phénoliques :

Les composés phénoliques ont une multitude d'activités biologiques dépendant de leurs structures chimiques (**Tableau VI**).

**Tableau VI.** Propriétés biologiques des principaux composés phénoliques.

Composés phénoliques	Actions/Effets biologiques	Références
<b>Flavonoïdes</b> (Flavonols, Flavones, Flavanols)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuse, antivirales cardioprotectrices, et des effets anti-obésité, prévient des maladies cardiovasculaires.</li> </ul>	(Nichols and Katiyar, 2010 Barreca <i>et al.</i> , 2020) (Wollenweber, 2017) (Babazadeh <i>et al.</i> , 2016)
<b>Anthocyanidines /anthocyanines</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Effet Antioxydants, anti-tumoral, anti-athérosclérose.</li> <li>Ils inhibent l'agrégation des plaquettes sanguines.</li> </ul>	(Kähkönen and Heinonen, 2003) (Yousuf <i>et al.</i> , 2016) (Cortez <i>et al.</i> , 2017)
<b>Acides hydroxybenzoïques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Des propriétés antioxydantes, antiinflammatoires, et antimicrobiennes.</li> </ul>	(Manach <i>et al.</i> , 2004)
<b>Tannins hydrolysables</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Anti-inflammatoires, anticancéreux et antioxydants.</li> </ul>	(Smeriglio <i>et al.</i> , 2017)
<b>Lignanes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Antioxydants, antibactériens, anticancéreux, hépatoprotecteurs, cytotoxiques, anti-inflammatoires.</li> </ul>	(Adlercreutz, 2007. ; Godoyde Lima <i>et al.</i> , 2018)

### I.2.5. Méthodes d'extraction des composés phénolique :

Récemment, un certain nombre de nouvelles techniques d'extraction telles que l'extraction par fluide supercritique (SFE), l'extraction assistée par ultrasons (EAU), l'extraction assistée par micro-ondes (Reda *et al.*, 2020) et l'extraction par fluide sous pression (PFE) ont été utilisées pour l'extraction des substances phytochimiques bioactives des coproduits. Ces méthodes sont plus protectrices de l'environnement, réduisent la consommation d'énergie et de solvants et accélèrent l'extraction des composés bioactifs produisant des rendements plus élevés.

Parmi ces nouvelles techniques, l'EAU est relativement peu coûteuse et ne nécessite pas d'instruments complexes. Il s'agit d'une technologie d'extraction verte et efficace pour les molécules bioactives d'importance commerciale telles que les composés phénoliques (Vural *et al.*, 2018).

#### I.2.5.1. Extraction assistée par ultrasons (EAU) :

Le principe de l'extraction assistée par ultrasons implique la formation des cavitations acoustiques près de la surface de l'échantillon augmente la pénétration du solvant dans le matériau végétal et le gonflement de l'échantillon est encore facilité par un élargissement des pores et, parfois, la dégradation des parois cellulaires (Bourgou *et al.*, 2016).

L'EAU présente des avantages par rapport à d'autres méthodes d'extraction conventionnelles. Elle ne requiert qu'un équipement simple (Figure 06) et réduit considérablement le temps d'extraction et la consommation de solvants. Elle améliore également l'efficacité de l'extraction grâce à une augmentation de la pression (qui favorise la pénétration et le transport) et de la température (qui améliore la solubilité et la diffusivité) due aux ondes ultrasonores (formation de bulles de gaz) dans le solvant (Santos-Buelga *et al.*, 2012). Le gain de temps est primordial en industrie car ça réduit les coûts des procédés.

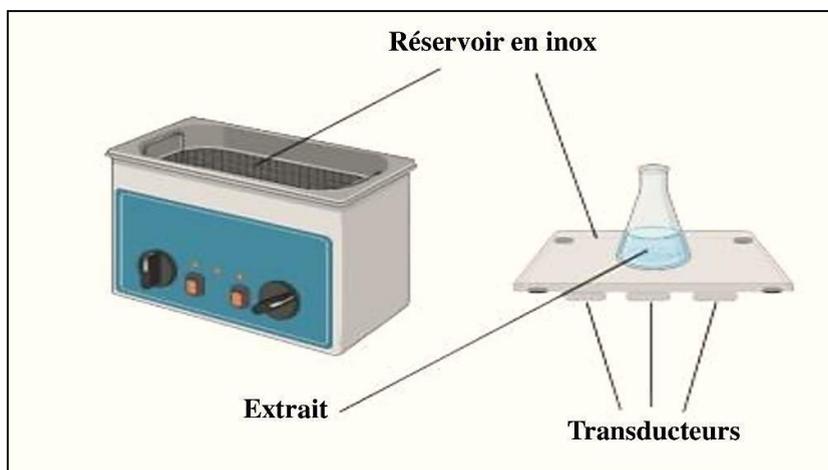


Figure 06. Schéma du dispositif à ultrasons (Carreira-Casais *et al.*, 2021).

# **Partie 03**

# **Bactériologie**

### I.3.1. Introduction

Les bactéries, micro-organismes omniprésents, tissent un réseau complexe et diversifié à travers notre environnement, formant ainsi un écosystème bactérien mondial d'une richesse inouïe. Leur interaction subtile et leur diversité étonnante révèlent la profondeur et la complexité insoupçonnée du monde bactérien, offrant un spectacle fascinant de la vie microscopique qui façonne notre monde de manière incroyable.

### I.3.2. Définition et morphologie des bactéries :

Les bactéries, en tant que micro-organismes vivants unicellulaires procaryotes, se caractérisent par leur dimension réduite, mesurant généralement quelques micromètres de long (0,5 à 5  $\mu\text{m}$  de longueur). Leur morphologie varie, pouvant revêtir des formes diverses telles que des configurations sphériques (coques), des structures allongées ou en bâtonnets (bacilles) ainsi que des formes plus ou moins spiralées (spirilles).

Les bactéries sont ubiquitaires et colonisent divers biotopes tels que le sol, l'air, l'eau, les végétaux et les animaux. Cependant, parmi cette multitude d'espèces bactériennes, certaines sont pathogènes et engendrent des maladies infectieuses graves telles que le choléra, la syphilis et la tuberculose (Cappelle, 2017).

La structure générale de la cellule bactérienne se compose de cytoplasme entouré de manière séquentielle par une membrane et une paroi cellulaire (Figure 07). Il arrive parfois que cette organisation soit enrichie par l'ajout d'une capsule enveloppant la paroi cellulaire, de fimbriae ou encore de flagelles.

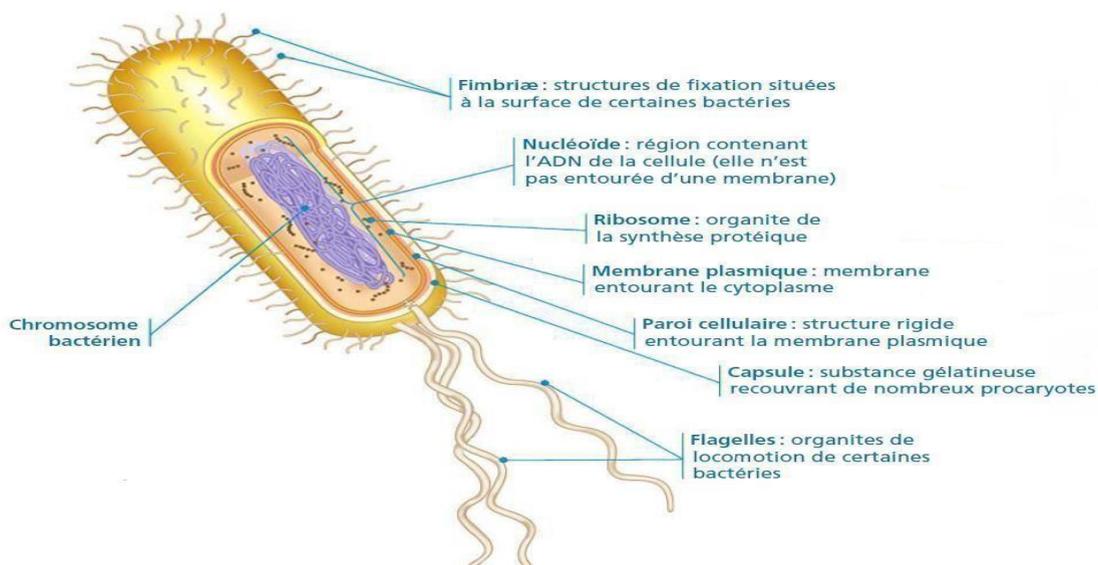
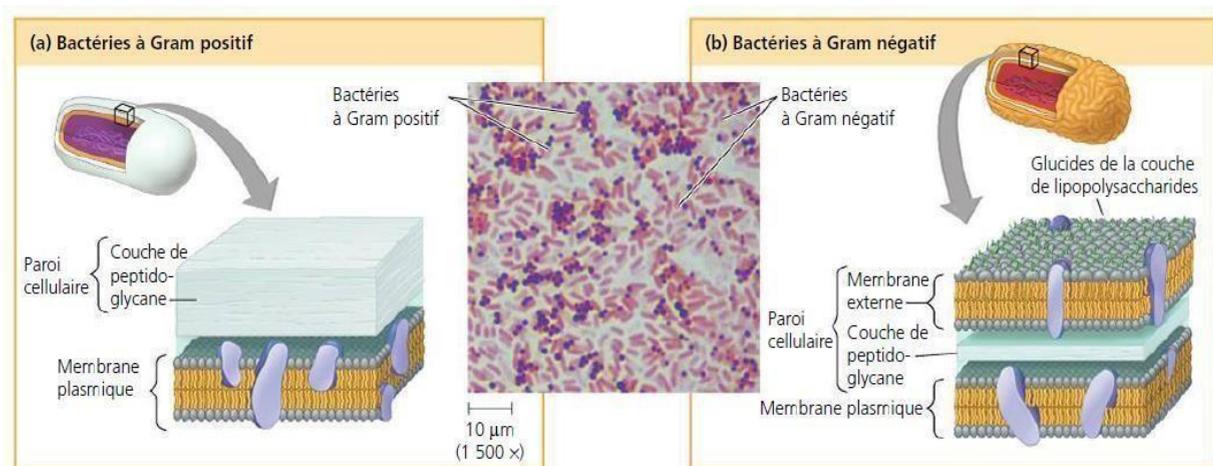


Figure 07. Vue d'ensemble de la cellule bactérienne (Cappelle, 2017).

Les bactéries sont classées en fonction de leur réaction à la coloration de Gram, qui permet de distinguer deux types principaux (**Figure 08**) :

- **Les bactéries à Gram positif** : Ces bactéries se présentent en teinte mauve lors de l'observation microscopique.
- **Les bactéries à Gram négatif** : Ces bactéries se distinguent par leur coloration rose sous le microscope.

La différence réside dans la composition de leur paroi cellulaire. Les bactéries à Gram positif ont une paroi cellulaire épaisse composée principalement de peptidoglycane. En revanche, les bactéries à Gram négatif possèdent une paroi cellulaire plus fine, avec une double membrane externe et moins de peptidoglycane.



**Figure 08.** Architecture pariétale d'une bactérie à Gram positif (a) et d'une bactérie à Gram négatif (b) (**Cappelle, 2017**).

### I.3.3. Communautés bactériennes étudiées :

#### I.3.3.1. Bactéries à Gram (+) :

##### 1. a) *Staphylococcus aureus* :

C'est un coccus à Gram positif de 0,5 à 1 µm de diamètre, non sporulé, ubiquitaire présente dans tous les milieux naturels (air, poussière, sol, eau, égouts, vêtements) mais également chez les animaux et chez les hommes (Clave, 2013). *S. aureus* est un colonisateur fréquent de la population humaine et l'un des principaux pathogènes bactériens opportunistes de l'homme, causant une morbidité et une mortalité majeures dans le monde (**Howden et al., 2023**). La présence de *S. aureus* dans les aliments pose un risque pour la santé humaine, car certaines souches peuvent produire des entérotoxines, dont l'ingestion entraîne une intoxication. Les entérotoxines agissent sur les nerfs de l'appareil digestif qui stimulent le centre des vomissements ; douleurs abdominales ; diarrhée ; crampes (**Green, 2012**).

**1. b) *Bacillus subtilis* :**

*Bacillus subtilis* est une bactérie Gram positive mobile en forme de bâtonnet, aérobie stricte, productrice d'endospores (Loison, 2013) Elle est couramment utilisée en recherche et en industrie. Elle est connue pour sa capacité à former des spores qui lui permettent de survivre dans des conditions environnementales difficiles. *Bacillus subtilis* est également utilisée comme probiotique et dans la production de certains enzymes et antibiotiques. Son utilisation est très répandue en raison de sa sécurité et de son efficacité (Williams and Weir, 2024).

**1. c) *Bacillus cereus* :**

Les membres du groupe *Bacillus cereus* sont des bacilles à Gram positif sporulés qui sont généralement associés à une intoxication alimentaire diarrhéique ou émétique. Cette bactérie produit des toxines qui peuvent causer des symptômes gastro-intestinaux tels que nausées, vomissements et diarrhée. Ils sont très répandus dans la nature et sont fréquemment présents dans les produits alimentaires crus et transformés (Sornchuer et al., 2024)

**1. d) *Enterococcus faecalis* :**

*E. faecalis* membre du genre *Enterococcus*, est une bactérie anaérobie facultative à Gram positif, présente dans la flore digestive humaine et animale (Daca and Jarzembowski, 2024).

*E. faecalis* est une bactérie à multiples facettes. D'autre part, elle peut être un commensal avec un impact positif sur le fonctionnement de la microflore du tractus gastro-intestinal (entre autres) et un probiotique assez efficace. D'autre part, elle peut être responsable de nombreuses infections très compliquées, en particulier chez les personnes déjà immunodéprimées. *E. faecalis* est l'un des agents pathogènes nosocomiaux les plus courants de nos jours, avec une résistance croissante aux médicaments, ce qui rend le traitement plus difficile (Sornchuer et al., 2024, Daca and Jarzembowski, 2024).

**I.3.3.2. Bactéries à Gram (-) :****2. a) *Escherichia coli* :**

*Escherichia coli* est un bacille à coloration de Gram négative, mobile, aérobie qui appartient à la famille des Entérobactéries. Cette bactérie est utile parce qu'elle favorise la production de certaines vitamines et dégrade certains aliments qui seraient autrement impossible à digérer. Certaines souches peuvent être pathogènes peuvent provoquer à la fois des pathologies extra-intestinales (infections des voies urinaires, diverses infections intra-abdominales, pulmonaires, cutanées et des tissus mous, méningite néonatale et bactériémie) et intestinales (diverses formes de diarrhée, y compris le syndrome hémolytique et urémique (Denamur, 2021).

### 2. b) *Pseudomonas aeruginosa* :

*Pseudomonas aeruginosa* est un organisme environnemental commun à Gram négatif, connu pour présenter un métabolisme adaptable et une capacité à coloniser une gamme de niches (**Cerqueira Dos Santos et al., 2024**) C'est un agent pathogène fréquent responsable de nombreuses infections nosocomiales graves (**Ben Haj Khalifa et al., 2011**). Il a de nombreux facteurs de virulence (adhérence, persistance dans un environnement défavorable, formation de biofilms, sécrétion des enzymes et des toxines) (**Rybtke et al., 2015**). Cette bactérie est caractérisée par son haut potentiel d'adaptation au milieu ambiant et par son acquisition rapide de résistances aux antibiotiques (**Méreus et al., 2011**).

### 2. c) *Salmonella typhi* :

*Salmonella enterica* sous-espèce *enterica* sérovar *typhi*, est une bactérie à Gram négatif de la famille des entérobactéries qui cause la fièvre typhoïde chez l'homme, pénètre dans le corps d'hôtes humains sains principalement par voie fécale-orale, souvent par la consommation d'eau ou d'aliments contaminés. Elle infecte l'intestin et peut se propager dans le sang, provoquant de la fièvre, des maux de tête, des nausées, des douleurs abdominales et des selles anormales (**Chowdhury et al., 2024**).

### 2. d) *Klebsiella pneumoniae* :

*Klebsiella pneumoniae* est un bacille à Gram négatif immobile, diplobacilles généralement capsulé, non sporulé, anaérobie facultative appartenant à la famille des entérobactéries. Elle est souvent associée aux infections nosocomiales, provoquant des infections respiratoires, des infections urinaires et des infections sanguines, en particulier chez les patients immunodéprimés ou souvent hospitalisés. Cette bactérie peut développer une résistance aux antibiotiques, ce qui rend le traitement parfois difficile (**Abbas et al., 2024**).

### 2. e) *Acinetobacter baumannii* :

*Acinetobacter baumannii* est une bactérie à Gram négatif, coccobacille aérobie, catalase positive, omniprésente. Bien qu'ils soient reconnus comme des bactéries non mobiles, ils peuvent être déplacés par un processus de contraction, ce qui les rend responsables de diverses infections communautaires et nosocomiales. Cette bactérie est identifiée comme un agent pathogène potentiellement mortel chez les personnes hospitalisées, en particulier les patients immunodéprimés, dans de nombreux pays. Elle est également un agent pathogène important chez les animaux et dans les cliniques vétérinaires (**Karampatakis et al., 2024**).

### I.3.4. Les antibiotiques :

Les antibiotiques sont efficaces uniquement contre les bactéries. Depuis leur première utilisation au milieu du 20<sup>ème</sup> siècle, ils ont permis de progresser dans le traitement de diverses maladies infectieuses. Toutefois, leur usage massif et souvent inapproprié et a favorisé l'apparition de résistances bactériennes aux antibiotiques, incitant les chercheurs à trouver des solutions alternatives aux antibiotiques.

#### I.3.4.1. Définition :

Les antibiotiques sont des substances chimiques qui peuvent inhiber la croissance des bactéries ou les éliminer. Dans le premier cas elles sont appelées bactériostatiques, dans le deuxième cas bactéricide. Ces molécules utilisées en médecine sont fabriquées à partir de cultures de micro-organismes ( $\beta$ -lactamines, aminosides, macrolides, polypeptides) par voie biotechnologique ou sont des produits de synthèse (sulfamides, quinolones) (Opatowski, 2020). Le premier d'entre eux (la pénicilline) a été découvert en 1928 par Alexander Fleming, par hasard, chez le champignon *Penicillium notatum*, et utilisé à partir des années 1940 (Veysiere, 2020). Depuis cette date, de nombreux antibiotiques ont été découverts.

#### I.3.4.2. Classification :

Les antibiotiques peuvent être classés selon leur origine (naturelle ou synthétique), leur mécanisme d'action contre les bactéries, leur spectre d'action et même leurs propriétés chimiques.

Les principaux mécanismes d'action que l'on peut rencontrer diffèrent selon la molécule considérée (Opatowski, 2020). Ils peuvent agir spécifiquement sur des cibles moléculaires perturbant une étape essentielle du métabolisme des bactéries (synthèses protéiques, synthèse des acides nucléiques, réplication, transcription, transport transmembranaire...) (Figure 09) (Dubey, 2019).

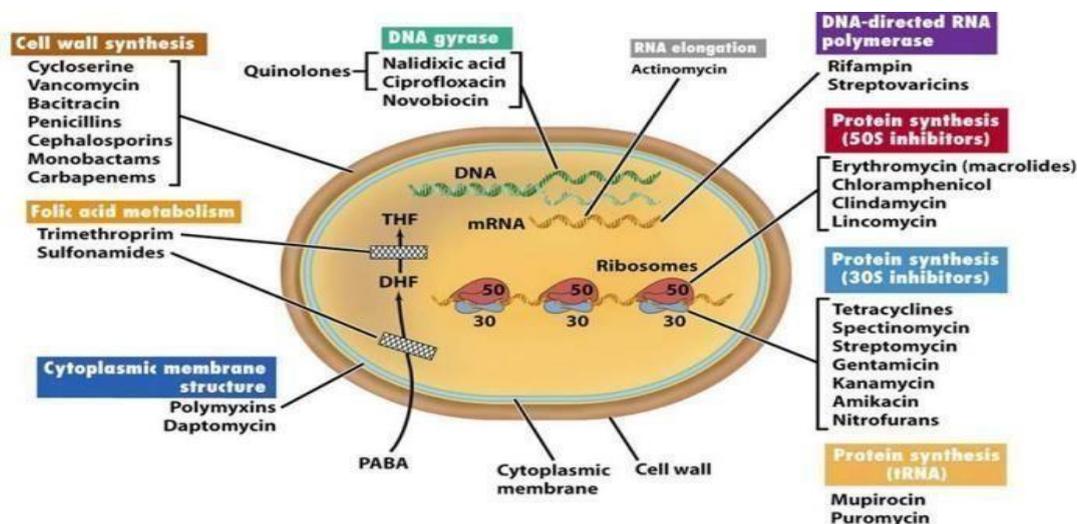


Figure 09. Modes d'actions des antibiotiques (Dubey, 2019).

# **Chapitre II**

## **Matériels et méthodes**

### II.1. Cadre de l'étude :

Ce travail expérimental vise à étudier l'effet antimicrobien de l'extrait de cladode du figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica*) vis-à-vis d'un germe pathogène spécifique.

L'objectif est d'évaluer l'activité antimicrobienne de ces extraits et de déterminer leur potentiel dans la lutte contre les infections bactériennes. On explore ainsi la capacité de cette plante réputée pour ses bienfaits dans le domaine de la santé à agir en tant qu'agent antibactérien contre des germes pathogènes spécifiques.

Notre étude expérimentale a été réalisée à l'Université Abderrahmane Mira de Béjaïa entre le 01/03/2024 et le 30/05/2024 dans les laboratoires suivants :

- Laboratoire du département de biotechnologies de la Faculté des sciences de la nature et de la vie.
- Laboratoire de Biomathématiques, Biophysique, Biochimie et Scientométrie (L3BS).
- Laboratoire de Microbiologie Appliquée
- Laboratoire de Génétique.

### II.2. Matériel du laboratoire :

L'ensemble des appareillages, solvants, réactifs chimiques et milieux de culture utilisés est cité dans l'annexe 01.

### II.3. Récolte du matériel végétal :

Le présent travail s'est concentré sur l'étude des cladodes du figuier de Barbarie, connue scientifiquement sous le nom d'*Opuntia ficus-indica* (OFI), provenant de la wilaya de Béjaïa en Algérie. Cette plante, a été récoltée de la région de Merdj-Ouamane, situé au Nord-Est de la wilaya de Béjaïa (**Figure 10**), au début du mois de Mars de l'année 2024.



**Figure 10.** Localisation de l'échantillon (Google Maps) : wilaya de Béjaïa (à gauche), Merdj-Ouamane (à droite).

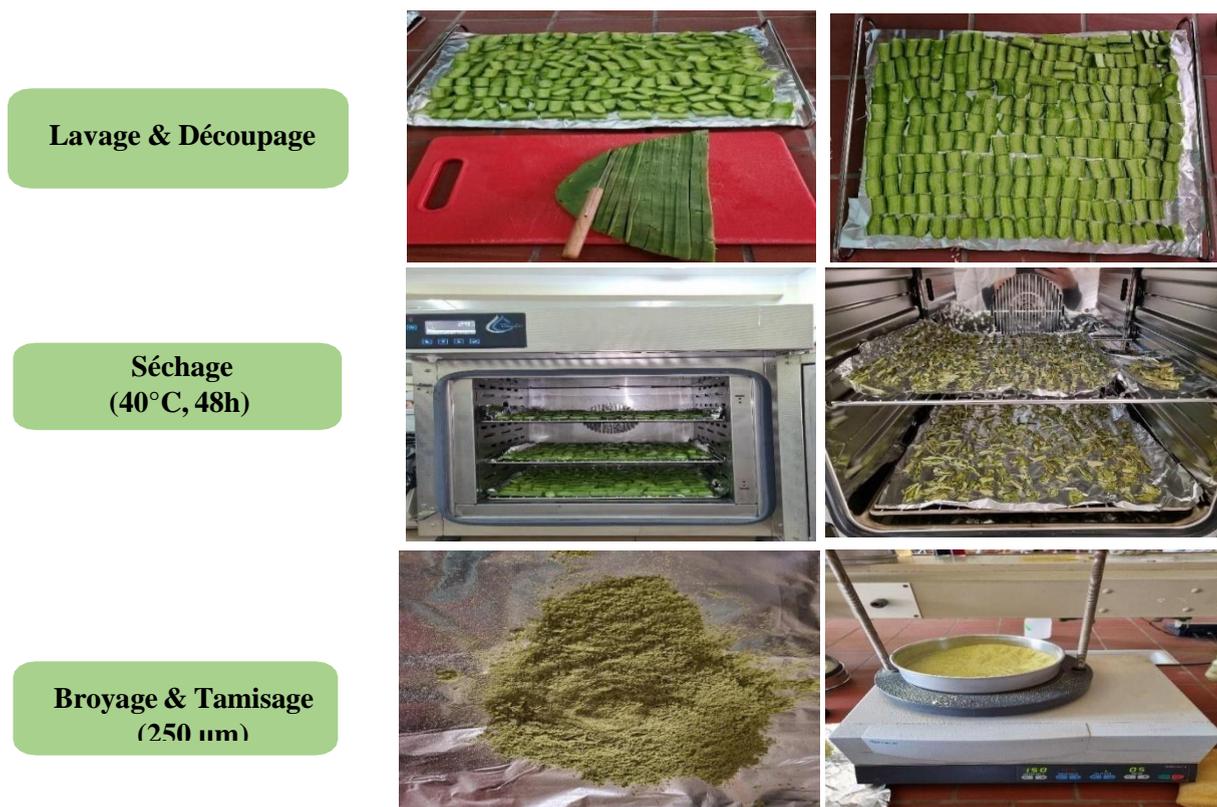
#### II.4. Procédé et étapes de préparation de la poudre de cladode :

Les échantillons ont été précautionneusement emballés dans des sacs avant d'être transportés au laboratoire. Une fois au laboratoire, des observations détaillées ont été effectuées et les mesures nécessaires (dimensions et poids des cladodes, nombre d'aréoles, épaisseur...etc) ont été prises.

Par la suite, les cladodes ont été soigneusement nettoyées en les rinçant d'abord à l'eau de robinet, puis à l'eau distillée afin d'éliminer des taches indésirables et pour garantir une propreté optimale, puis ils ont été essuyés avec du papier absorbant pour éliminer l'excès d'eau. Ensuite, à l'aide d'un couteau, les cladodes ont été découpées en de minces bandes afin de favoriser un rapide séchage dans une étuve aérée à une température de 40°C pendant deux jours ( $\approx 48$  h). Cela permet d'éliminer l'humidité, évitant ainsi la formation de moisissures et préservant au mieux leurs composants.

Après séchage, les bandelettes sont broyées à l'aide d'un broyeur domestique. Ensuite, la poudre obtenue est tamisée pour obtenir une granulométrie de 250  $\mu\text{m}$ . La poudre obtenue a été conservée dans des bocaux hermétiques et opaques en verre puis stockée à l'abri de la lumière pour éviter l'oxydation des polyphénols.

La **Figure 11** résume les étapes de préparation de la poudre de cladode.



**Figure 11.** Les principales étapes de préparation des poudres de cladodes.

### II.5. Taux d'humidité :

Ce test revêt une grande importance car il permet de contrôler efficacement le processus de séchage. En plaçant 10 g de cladode dans une étuve à 105°C jusqu'à ce qu'elle atteigne une masse constante, on peut déterminer avec précision la teneur en eau en mesurant la perte de poids subie pendant le processus de dessiccation.

Le taux d'humidité est calculé selon la formule suivante :

$$H (\%) = (M_0 - M_1 / M_0) \cdot 100$$

Avec :

**M<sub>0</sub>** : masse en gramme de l'échantillon avant étuvage.

**M<sub>1</sub>** : masse en gramme de l'échantillon après étuvage.

Aussi, le taux de la matière sèche en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\text{Matière sèche (\%)} = 100 - H (\%)$$

### II.6. Extraction végétale :

L'extraction végétale représente une étape fondamentale dans toute étude portant sur les plantes médicinales, jouant un rôle déterminant dans les résultats finaux. Par conséquent, le choix de la méthode d'extraction est d'une importance capitale pour isoler les composés bioactifs des plantes et augmenter la précision des tests biologiques.

Notre étude s'est concentrée spécifiquement sur l'extraction des composés phénoliques totaux (CPT) à partir de cladodes de l'OFI en utilisant principalement l'extraction assistée par ultrasons (EAU) avec deux solvants d'extraction (le méthanol et l'éther de pétrole), et une méthode d'extraction conventionnelle (EC) par extraction solide-liquide sur plaque agitatrice, réalisée par la suite uniquement pour l'extraction à l'éther de pétrole afin de permettre l'extraction à partir de plus grands volumes de ratio (plante/solvant) et d'avoir de plus grandes quantités d'extraits d'éther de pétrole. Afin de maximiser l'efficacité des extractions, des paramètres opératoires tels que le temps de traitement et le ratio solvant-eau ont été sélectionnés en se basant sur des travaux antérieurs.

### II.6.1. Extraction assistée par ultrasons (EAU) :

Pour l'EAU, à priori nous avons réalisé les extractions en utilisant deux solvants différents : un solvant polaire (le méthanol) et un solvant apolaire (l'éther de pétrole), afin de comparer leurs effets sur les activités antibactériennes

Pour cela, nous avons utilisé un ratio de 1:10 : une quantité de 10 g de poudre d'OFI est mélangée à 100 mL de solvant d'extraction à 50 % (1 : 1) (solvant : eau distillée): que ça soit pour le méthanol ou pour l'éther de pétrole (Mabotja *et al.*, 2021, Semiria *et al.*, 2022). Les mélanges ont ensuite été exposés à des ultrasons pendant 40-50 minutes à une température de 60°C, avec une puissance et une fréquence respectivement fixées à 100 W et 42 KHz  $\pm$  6% (Mahdeb *et al.*, 2021). Les extraits méthanoliques ont été récupérés après une centrifugation à 5000 rpm pendant 15 minutes à 40°C  $\pm$  2. En revanche, pour l'extraction à l'éther de pétrole, un précipité sous forme de gomme s'est formé, et un surnageant (visqueux/huileux) a été directement récupéré sans centrifugation.



**Figure 12.** Extraction des CPT par ultrasons. Bain ultrasons (a), récupération de l'extrait d'éther de pétrole (surnageant) et formation d'une gomme (culot) après extraction (b).

### II.6.2. Extraction conventionnelle (EC) :

Initialement, l'extraction conventionnelle n'était pas envisagée. Cependant, en raison de la faible quantité de surnageant obtenues lors de l'EAU pour l'extraction à l'aide d'éther de pétrole, nous avons donc réalisé cette extraction. L'extraction a été menée en respectant le même ratio utilisé en EAU (1/10) en utilisant cette fois ci des volumes plus importants : 150 g de poudre d'OFI est mélangée à 1500 mL de solvant d'extraction à 50 % (1:1) (solvant : eau distillée). Le mélange a été placé sur une plaque agitatrice à température ambiante pendant 24 heures afin de maximiser le rendement d'extraction.

Après l'extraction, nous avons procédé à une filtration en sous vide afin de récupérer les surnageants.

### II.6.3. Séchage et récupération des extraits par évaporateur rotatif :

Le rotavapor est employé pour évaporer les solvants à basse pression et basse température, facilitant ainsi la récupération des composés d'intérêt sous forme concentrée après extraction en éliminant efficacement les solvants.

Après les extractions réalisées nous avons procédé à la séparation des extraits méthanoliques et d'éther de pétrole de leurs solvants respectifs par rotavapor pour ainsi les sécher et les concentrer (**Figure 13**). Le rotavapor a été réglé à 120 tours par minute et à une température de 40°C pendant près d'une heure pour l'extrait méthanolique et environ 4 minutes pour l'extrait d'éther de pétrole. Tous les extraits sont conservés à 4°C jusqu'à utilisation.



**Figure 13.** Concentration des extraits à l'aide d'un rotavapor.

## II.7. Dosages colorimétriques :

### II.7.1. Dosage des composés phénoliques totaux (CPT) :

La mesure des composés phénoliques totaux a été effectuée en utilisant la méthode au Folin-Ciocalteu. Le réactif de Folin-Ciocalteu, est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) (**Boizot and Charpentier, 2020**)

Ce mélange est stable dans un environnement acide, mais devient instable en solution alcaline avec l'ajout du carbonate de sodium, L'ensemble des composés phénoliques est ainsi oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu, ce dernier devient bleu et a une absorbance entre 750-760 nm, la couleur bleue est proportionnelle à la quantité de CPT présents en extraits. Pour déterminer la concentration en composés phénoliques totaux, le protocole décrit par (**Georgea et al., 2005**) a été suivi : 250  $\mu$ L de l'extrait sec reconstitué dans un solvant d'extraction (10 mg/ml) ont été mélangés avec 1,25 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué (1/10) et 1 mL de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) à 7,5 %. Cette solution a été incubée à une température de 50°C pendant 15 minutes au bain Marie, puis les absorbances sont mesurées à une longueur d'onde de 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La teneur en composés phénoliques totaux a été exprimée en (mg) équivalent d'acide gallique par (g) de matière sèche (mg EAG/g MS) en se basant sur une courbe d'étalonnage (**Annexe 6.a**).

### II.7.2. Dosage des flavonoïdes totaux :

La quantité de flavonoïdes est mesurée en utilisant la méthode du trichlorure d'aluminium. Lorsqu'un groupement hydroxyle libre se trouve en position 5, il réagit avec le chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) pour former un complexe jaunâtre par chélation de l'ion ( $Al^{3+}$ ). L'intensité de la coloration jaune obtenue est directement liée à la concentration de flavonoïdes dans l'extrait, comme mentionné par (**Basil et al., 2012**).

Pour évaluer les flavonoïdes totaux, la méthode décrite par (**Djeridane et al., 2006**) a été employée. Un volume de 1 mL d'extrait a été mélangé avec 1 mL d'une solution d' $AlCl_3$  (2% m/v). Après une incubation de 15 minutes à l'obscurité, la mesure de l'absorbance a été effectuée à 430 nm. La quantité de flavonoïdes totaux a été exprimée en (mg) équivalent de quercétine par (g) de matière sèche (mg EQ/g MS) en se basant sur une courbe d'étalonnage (**Annexe 6.b**).

Pour les deux dosages, le blanc est préparé en substituant l'extrait par le solvant d'extraction.

### II.7.3. Evaluation de l'activité antioxydante par le test de l'ABTS :

La méthode du radical ABTS<sup>+</sup> est largement utilisée pour mesurer les radicaux libres. Elle implique la neutralisation d'un radical cation formé par oxydation avec du persulfate de potassium, produisant une solution colorée en vert-bleu. Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>+</sup> est évalué selon la méthode de (Re *et al.*, 1999)

La préparation de la solution d'ABTS radicalaire (7 mM) consiste à mélanger de l'ABTS (38,4 mg) et du persulfate de potassium (6,62 mg) dans 10 mL d'eau distillée, puis à incuber le mélange pendant 24 heures à température ambiante.

La solution est diluée jusqu'à ce que la densité optique initiale atteigne  $0,7 \pm 0,02$  à 734 nm. Ensuite, 200  $\mu$ L de l'extrait sec reconstitué dans le solvant d'extraction (1 mg/ml) sont ajoutés à 1,8 mL de la solution d'ABTS (DO 0,7). Après une incubation de 6 minutes à l'obscurité, la densité optique finale (DO<sub>f</sub>) des extraits est mesurée à 734 nm. La densité optique initiale (DO<sub>i</sub>) correspond à l'absorbance de la solution d'ABTS (DO = 0,7) après incubation de 6 minutes à l'obscurité.

Le blanc correspond au solvant d'extraction. Ainsi, le pouvoir antioxydant de l'extrait est quantifié en pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>+</sup>, les taux d'inhibition sont calculés en utilisant la formule suivante :

$$\text{Le Taux d'inhibition (\%)} = (\text{DO}_i - \text{DO}_f / \text{DO}_i) * 100$$

Où **DO<sub>i</sub>** : Densité optique initiale

**DO<sub>f</sub>** : Densité optique finale

La capacité antioxydante des extraits est exprimée en (mg) équivalent Trolox par (g) de matière sèche (mg CAET/g MS), en se basant sur la courbe d'étalonnage du Trolox (**Annexe 6.c**).

## II.8. Evaluation de l'activité antibactérienne :

Dans le cadre de cette étude visant à évaluer l'activité antibactérienne des extraits de cladodes de l'OFI à savoir l'extrait méthanolique issu de l'EAU, et les deux extraits d'éther de pétrole issus de l'EAU et de l'EC, quatre techniques ont été réalisées *in vitro* : La première méthode consiste en la méthode de diffusion par disques, la deuxième est la diffusion par puits, la troisième approche est la méthode des spots. Enfin, la quatrième méthode utilisée est la micro-dilution sur microplaque, qui permet de déterminer potentiellement la concentration minimale inhibitrice (CMI) et les IC50.

## II.9. Les souches bactériennes testées :

Les souches de référence ATCC sont d'excellents modèles pour étudier l'effet antibactérien des substances naturelles ou synthétiques. Nous avons ainsi travaillé sur des souches ATCC majoritairement des bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif (**Tableau VII**).

**Tableau VII.** Les souches bactériennes testées.

Le Gram	Les souches bactériennes
Gram ( + )	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6314</li> <li>• <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212</li> <li>• <i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876</li> <li>• <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633</li> </ul>
Gram ( - )	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Escherichia coli</i> ATCC 29522</li> <li>• <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853</li> <li>• <i>Klebsiella pneumoniae</i> (souche de diagnostique)</li> <li>• <i>Salmonella typhi</i> ATCC 14028</li> <li>• <i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 610</li> </ul>

Pour s'assurer de la pureté des bactéries, des milieux de culture sélectifs ont été préalablement utilisés pour identifier les souches bactériennes par Mesdames Bourebaba Yasmina et Mme Benachour Karima (enseignantes à l'université de Béjaia) (**Annexe 10**). Par la suite, les cultures bactériennes sont conservées à 4°C sur gélose nutritive.

### II.9.1. Préparation de l'inoculum :

Pour la réalisation des tests antibactériens, il est important de travailler avec une culture pure et jeune, âgée de 18 à 20 heures en phase exponentielle sur gélose nutritive. Ainsi après cette revivification de 24 heures, on procède à la standardisation des inocula en sélectionnant notamment 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques à l'aide d'une anse de platine. Ces colonies sont transférées dans 9 mL d'eau physiologique stérile à 0,9% pour obtenir une suspension bactérienne homogène dont l'opacité doit correspondre à 0,5 sur l'échelle de McFarland.

Cela se traduit par une densité optique de 0,08-0,11 lue à 625 nm (correspondant à 107 à 108 UFC/mL), conformément aux normes de l'antibiogramme établies par l'OMS en 1999.

Il est recommandé de procéder à l'ensemencement dans les 15 minutes suivant la préparation de l'inoculum pour obtenir des résultats précis. Ces suspensions bactériennes standardisées serviront aux ensemencements du milieu de culture Mueller Hinton (MH) qu'on réalise avant chaque test antibactérien comme expliqué ci-dessous.

## **II.10. Les tests antibactériens :**

### **II.10.1. Test de diffusion en disque :**

Le test de diffusion en disque repose sur le principe de diffusion d'agents antimicrobiens à partir de disques dans un milieu de culture bactérien, permettant d'évaluer la sensibilité des bactéries à ces agents. Pour cela, les suspensions bactériennes en eau physiologique sont d'abord étalées par écouvillonnage sur gélose Mueller-Hinton. Par la suite, des disques de papier Whatman standard N°1 (6 mm de diamètre) préalablement stérilisés sont imprégnés des extraits d'OFI reconstitués en méthanol à 50 % ou de DMSO à 40 % pour l'extrait méthanolique ou d'éther de pétrole, respectivement. Diverses concentrations des extraits (50, 100, 200, et 400 mg/mL pour l'extrait méthanolique, et 30, 40 et 100 mg/mL pour l'extrait d'éther de Pétrole) sont alors déposés à raison de 10 µL sur disques (Loukili et al., 2022). Le méthanol à 50% et le DMSO à 40% ont servi de contrôles négatifs à chaque test, et des disques d'antibiotiques standards ont servi de contrôles positifs (**Annexe 7**).

### **II.10.2. Test de diffusion par puits :**

Ce test évalue la sensibilité des bactéries à divers antibiotiques en mesurant les zones d'inhibition de croissance autour de puits, lesquels sont créés dans une gélose de 4.0 mm de profondeur et remplis par la suite d'extraits ou d'antibiotiques à tester. Les suspensions bactériennes en eau physiologique sont d'abord étalées par écouvillonnage sur gélose Mueller- Hinton.

Puis des volumes de 30 uL d'extraits reconstitués sont déposée dans les puits (formés par des embouts stériles de 6 mm sur gélose MH) à différentes concentrations (50, 100, 200, et 400 mg/mL pour l'extrait méthanolique, et 30, 40 et 100 mg/mL pour l'extrait d'éther de Pétrole).

Avant de remplir les puits avec les extraits, on referme les puits avec une petite couche de gélose MH pour empêcher la diffusion prématurée des agents antimicrobiens des extraits dans le milieu environnant. Cela permet de contrôler la libération des substances testées uniquement dans les puits, assurant ainsi des résultats plus précis lors de l'évaluation de la sensibilité des bactéries aux

extraits testés. Comme pour la méthode précédente, La reconstitution a été faite dans du méthanol à 50% et du DMSO à 40% qui ont servi de contrôles négatifs à chaque test, et des disques d'antibiotiques standards ont servi de contrôles positifs (**Annexe 7**).

### II.10.3. Test des spots :

Le test de diffusion en spot est une méthode utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne des substances. Dans ce test, les extraits reconstitués à différentes concentrations (50, 100, 200, et 400 mg/mL pour l'extrait méthanolique, et 5, 10, 20, 40, 60, 80 et 100 mg/mL pour l'extrait d'éther de Pétrôle) sont déposés sous forme de petites tâches (spots) de 5  $\mu$ L sur la surface de la gélose MH préalablementensemencée de suspensions bactériennes par écouvillonnages. Si la substance possède des propriétés antimicrobiennes, elle inhibera la croissance des micro-organismes autour du spot, formant ainsi une zone d'inhibition. Cela permet d'évaluer la sensibilité des bactéries aux différents extraits testés. La reconstitution a aussi été réalisée dans du méthanol à 50% et du DMSO à 40% qui ont servi de contrôles négatifs à chaque test, et des disques d'antibiotiques standards ont servi de contrôles positifs (**Annexe 7**).

Après les deux premiers tests, les boîtes de Pétri ont été placées au réfrigérateur (4°C) pendant 2 h pour permettre une pré-diffusion des extraits, puis transférés à l'étuve à 37°C pour 24 h dans le but de simuler la croissance bactérienne. Pour le test des spots, les boîtes sont déposées sur paillasse pour un séchage des dépôts à la surface avant l'incubation de 24 h à l'étuve (37°C).

Après incubation de 24h, les diamètres d'inhibition (cm) sont mesurés afin d'évaluer l'efficacité de l'échantillon testé, et les souches bactériennes sont classées en sensibles ou résistantes (**Tableau VIII**) selon (**Hamidi, 2013**) et (**Moreira et al., 2005**).

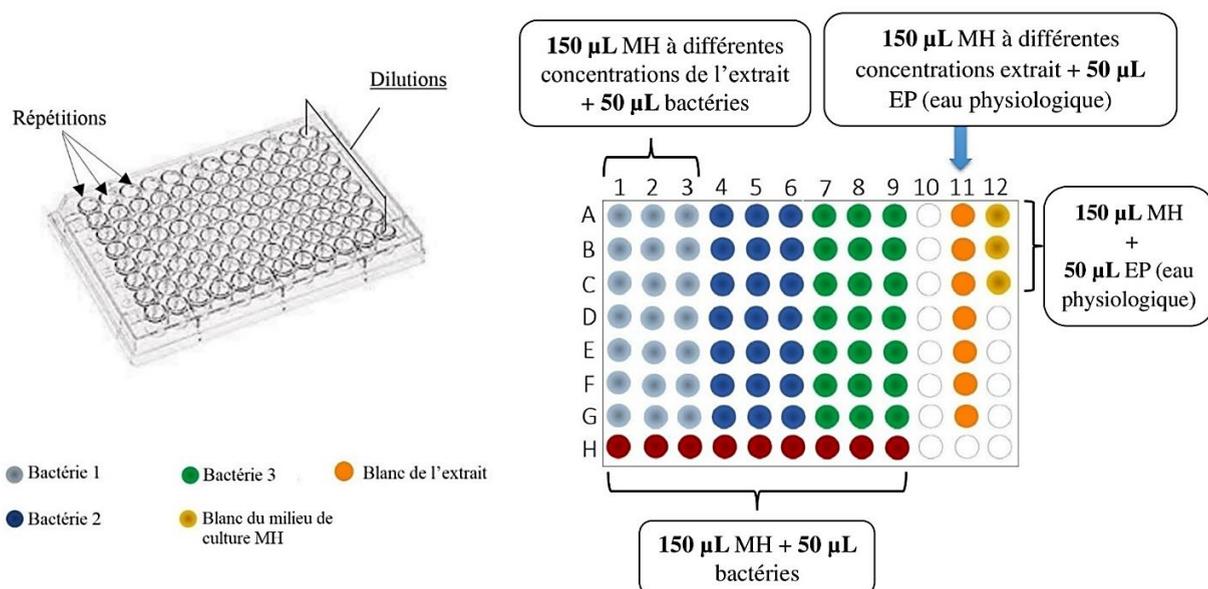
**Tableau VIII.** L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne

La sensibilité	Le diamètre
<b>Non sensible (-) ou Résistante</b>	<b>&lt; 8 mm</b>
<b>Sensible (+)</b>	<b>9 à 14 mm</b>
<b>Très sensible (++)</b>	<b>15 à 19 mm</b>
<b>Extrêmement sensible (+++)</b>	<b>&gt; 20 mm</b>

**II.10.4. Concentration minimale inhibitrice (CMI) :**

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) se réfère à la plus faible quantité d'agent antimicrobien capable d'interrompre entièrement la croissance visible à l'œil nu des microorganismes après une période d'incubation de 18 à 24 heures (Loukili *et al.*, 2022).

Nous avons procédé à l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits sur les 09 souches bactériennes mentionnées précédemment en déterminant la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) dans un milieu liquide à l'aide de microplaques de 96 puits stériles en polystyrène en forme de "U". Le protocole de mise en place du test sur microplaque est expliqué en **Figure 14**. Pour chaque extrait, une microplaque a servi à tester 3 bactéries : nous avons donc réalisés 9 tests sur microplaques afin de tester 3 extraits (extrait méthanolique, et deux extraits d'éther de pétrole issus de l'EAU et de l'EC). Des volumes de 150 µL des différentes concentrations des extraits sont mélangés à 50 µL de suspensions bactériennes préalablement standardisés. Des blancs des extraits testés et des blancs du milieu de culture utilisé sont aussi préparés sur microplaque afin de les soustraire des absorbances des tests faits après lecture des absorbances. Les contrôles positifs représentent les puits (marron) contenant les souches bactériennes et le milieu de culture sans les extraits à tester (**Figure 14**). Les différentes concentrations testées sont de 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 et 200 mg/mL pour l'extrait méthanolique, et de 5, 10, 20, 40, 60, 80 et 100 mg/mL pour les deux extraits d'éther de pétrole (EAU et EC). Les extraits ont été reconstitués dans du méthanol (50%), du DMSO (5 à 32%) et de l'eau distillée pour l'extrait méthanolique, l'extrait d'éther de pétrole de l'EAU, et l'extrait d'éther de pétrole issu de l'EC respectivement.



**Figure 14.** Protocole de détermination des CMI sur Microplaque.

Ensuite, les microplaques sont incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Après cela, les microplaques ont été transférées dans un lecteur spécifique pour microplaques afin de mesurer les absorbances à une longueur d'onde de 630 nm.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont été déterminées en observant l'absence de croissance visible à l'œil nu et en réalisant des repiquages sur gélose nutritive à partir de tous les puits afin de s'assurer des potentiels effets inhibiteurs des extraits sur la croissance bactérienne. Les taux d'inhibition des extraits sont déterminés à l'aide de la formule suivante :

**Le Taux d'inhibition (%) =**

$$\frac{[(\text{Absorbance du contrôle positif} - \text{Absorbance du blanc du milieu de culture}) - (\text{Absorbance des tests} - \text{Absorbance du blanc de l'extrait}) / (\text{Absorbance du contrôle positif} - \text{Absorbance du blanc du milieu de culture})] * 100}{}$$

### **II.11. Analyse statistique :**

Une analyse descriptive des résultats est réalisée à l'aide du Microsoft office Excel (2010), afin de déterminer les moyennes et les écarts types. Une analyse de la variance (ANOVA) est appliquée à l'aide du logiciel JMP (procès version 10, SAS, USA) afin de mettre en évidence les différences significatives de rendement d'extraction du mucilage. Le degré de signification des données est pris à la probabilité  $p < 0,05$ .

# **Chapitre III**

## **Résultats et Discussion**

### III.1. Identification de la plante :

Le cactus *Opuntia ficus indica*, souvent désigné sous l'acronyme OFI, est couramment surnommé "plante épineuse" en raison de son rôle dans la distinction des sous-espèces. Parmi les diverses variantes d'*Opuntia ficus indica*, on distingue celles dépourvues d'épines, telle que la forme *ficus indica*. En se basant sur les observations des dimensions et des caractéristiques des raquettes collectées (**Tableau IX**), on conclue que notre échantillon correspond à l'espèce *Opuntia ficus indica* qui présente une forme, des dimensions, un nombre et une distance d'aréoles spécifiques, ainsi que l'absence d'épines qui permet de la distinguer d'autres espèces du genre *Opuntia* comme *O. amyclae*, et *O. megacantha* (**Mahdeb et al., 2021 ; Reyes-Agüero, 2005**).

**Tableau IX.** Caractéristiques des cladodes d'OFI

Paramètres mesurés	Valeurs
Forme	Ovoïde
Longueur (cm)	37,87 ± 2,96
Largeur (cm)	19,75 ± 2,61
Epaisseur (cm)	1,44 ± 0.64
Nombre d'aréole	135,83 ± 6.99
Distance entre aréoles (cm)	3,61 ± 0.21
Poids (g)	1103,62 ± 330.04
Epines	Absents ou 1 par aréole
Longueur des épines (cm)	0,7 ± 0.31

### III.2. Test d'humidité et matière sèche :

Les raquettes d'*Opuntia ficus indica* (OFI) de la région de Merdj-Ouamane affichent un taux d'humidité d'environ **92,94 ± 0,5 %**. Grâce à ces données, nous avons pu déduire que le pourcentage de matière sèche était estimé à **7,06 % ± 0,5 %**. Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par (**Angulo-Bejarano, 2014**) et **Valente et al., 2010**) dont le taux d'humidité est situé entre **80 et 95 %**.

L'eau constitue le principal composant des cladodes du figuier de Barbarie (**Angulo-Bejarano, 2014**) avec une teneur en eau variant selon le site de culture, l'espèce du genre *Opuntia*, les saisons et l'âge de la plante.

### III.3. Rendements des extractions :

Les poudres issues des raquettes d'OFI ont été soumises à deux techniques d'extraction distinctes : l'extraction assistée par ultrasons (EAU) et l'extraction conventionnelle (EC), cette dernière étant spécifiquement utilisée lors de l'extraction à l'éther de pétrole afin d'améliorer ses rendements par rapport à l'EAU. Le **Tableau X** montre les rendements des extractions calculés par rapport à la matière sèches (mg) des cladodes.

**Tableau X.** Rendement des procédés d'extractions.

Les valeurs avec les lettres différentes (a, b, c) sont significativement différentes (Tukey,  $p < 0,05$ ) pour chaque type de traitement.

Solvants d'extraction	Type d'extraction	Rendement (p/p)
Méthanol (50%)	Extraction assistée par ultrasons (EAU)	12,99 ± 1,30 <sup>a</sup>
Ether de pétrole (50%)	Extraction assistée par ultrasons (EAU)	0,57 ± 0,05 <sup>bc</sup>
	Extraction conventionnelle (EC)	1,78 ± 0,17 <sup>b</sup>

En comparant les rendements des extractions obtenus par l'EAU, on constate une différence hautement significative entre les deux rendements.

Pour l'extrait d'éther de pétrole, habituellement les méthodes d'extraction innovantes permettent d'obtenir des rendements plus importants que ceux des méthodes conventionnelles (Mahdeb *et al.*, 2021), cela n'a pas été observé bien que la différence n'est pas significative. Ceci pourrait être expliqué par le fait que l'EC à l'éther apolaire à 50% ((1:1) Solvant : ED) a permis d'obtenir deux fractions selon les affinités des biomolécules avec la fraction eau distillée ou la fraction d'éther de pétrole : une fraction apolaire comme observé en EAU et une fraction additionnelle de nature polaire qui pourrait légèrement augmenter le rendement.

Ainsi, le rendement élevé est attribuable à l'utilisation de méthanol, tandis que le rendement le plus faible est issu de l'utilisation d'éther de pétrole par EAU. Ce résultat est conforme à celui de (Mabotja *et al.*, 2021), où l'EAU à l'aide de méthanol (50%) a permis d'obtenir les meilleurs rendements (6,75-26,10 % (p/p)) par rapports à l'éther de pétrole (0,14-1,88 % (p/p)) pour les cladodes de l'OFI.

#### III.4. Dosages des CPT, FT et évaluation des activités antioxydante :

Les résultats des dosages des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes totaux ainsi que de l'activité antioxydante (à l'ABTS) des deux extraits, méthanolique et l'éther de pétrole, sont illustrés dans le tableau suivant :

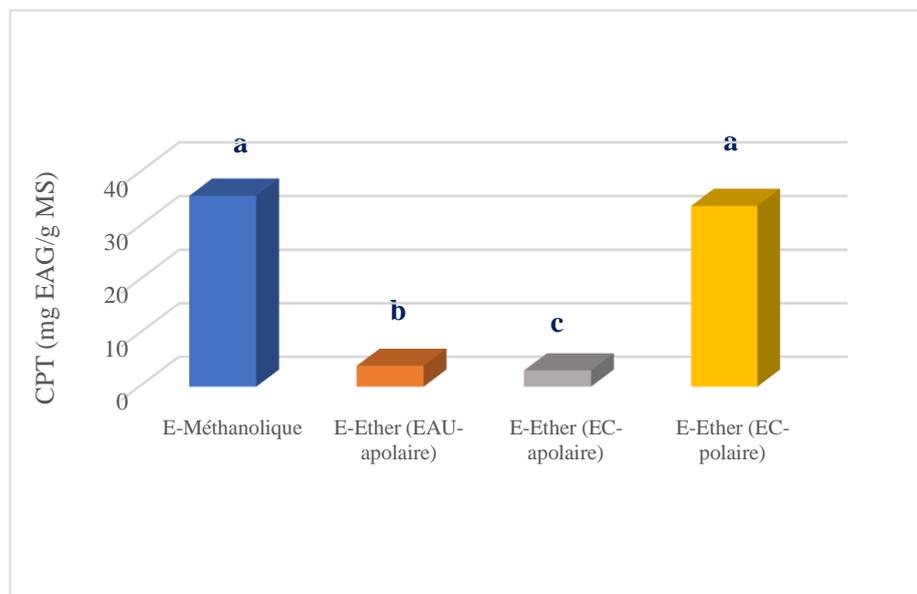
**Tableau XI.** Comparaison des taux des CPT, FT et Activité antioxydantes des extraits

		CPT (mg EAG/g MS)	FT (mg EQ/g MS)	Activité antioxydante (mg CAET/g MS)	Taux d'inhibition (%)
Extrait méthanolique (EAU)		35,66 ± 1,30 <sup>a</sup>	15,18 ± 0,23 <sup>b</sup>	30,06 ± 2,56 <sup>b</sup>	89,59 ± 3,43 <sup>a</sup>
Extrait d'éther de pétrole (EAU) (apolaire)		3,89 ± 0,05 <sup>b</sup>	10,11 ± 0,21 <sup>c</sup>	25,53 ± 1,01 <sup>c</sup>	83,54 ± 1,35 <sup>b</sup>
Extrait d'éther de pétrole (EC)	apolaire	3,02 ± 0,10 <sup>c</sup>	2,77 ± 0,06 <sup>d</sup>	0,74 ± 1,43 <sup>d</sup>	51,93 ± 4,79 <sup>d</sup>
	polaire	33,76 ± 0,83 <sup>a</sup>	33,07 ± 1,26 <sup>a</sup>	39,51 ± 4,21 <sup>a</sup>	81,63 ± 1,35 <sup>c</sup>

EC : extraction conventionnelle, EAU : Extraction assistée par ultrasons

Comme indiqué auparavant, l'EC à l'éther de pétrole a permis l'obtention de deux fractions (polaire et apolaire) qui ont aussi été dosés afin de les comparer à l'extrait méthanolique et d'éther de pétrole qui était apolaire huileux) obtenue par EAU avant de réaliser les tests antibactériens.

Ces mêmes résultats sont représentés en **Figure (15, 16 et 17)** ci-dessous :



**Figure 15.** Comparaison des teneurs en CPT pour les extraits méthanoliques (EAU) et des extraits d'éther de pétrole des deux extraction EAU et EC.

Les valeurs avec les lettres différentes (a, b) sont significativement différentes (Tukey,  $p < 0,05$ ) pour chaque type de traitement.

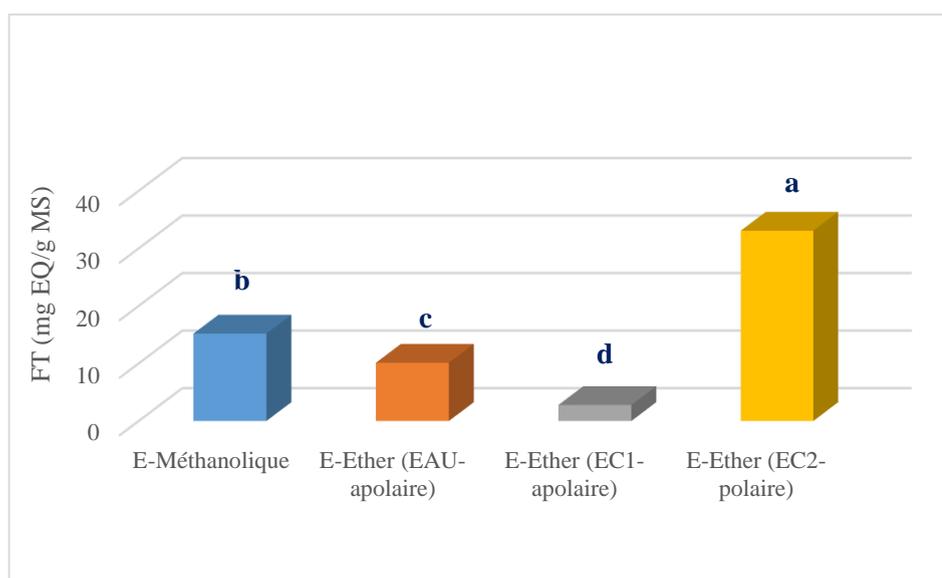
Concernant le dosage des CPT, les résultats indiquent que l'extrait méthanolique présente une concentration plus élevée ( $35,66 \pm 1,30$  mgEAG/g MS) en CPT de près de 10 fois par rapport aux extraits apolaires d'éther ( $3,89 \pm 0,05$  mgEAG/g MS en EAU, et  $3,02 \pm 0,10$  mg EAG/g MS en EC) (**Figure 15**). Cette différence s'explique par la nature des solvants utilisés : le méthanol, en tant que solvant polaire, a une affinité pour les composés phénoliques polaires, tandis que l'éther de pétrole, en tant que solvant apolaire, favorise l'extraction de molécules bioactives apolaires (**Mahdeb, 2022**).

Par ailleurs, l'extrait d'éther polaire obtenu uniquement par EC affiche également une concentration élevée (**33,76** mg EAG/g MS) se rapprochant de celle de l'extrait méthanolique.

Le solvant d'éther de pétrole est un solvant organique apolaire, idéalement utilisé pour extraire des molécules bioactives de nature apolaire ou hydrophobique, comme des terpènes, ou des composés phénoliques apolaires comme les curcuminoïdes, le resvératrol, les xanthonés, les lignanes, et les flavonoïdes non polaires, (**Awad et al., 2021**) il est souvent utilisé pour l'extraction des huiles essentielles.

Toutefois, la valeur élevée du dosage de l'extrait d'éther après EC s'explique par la fraction importante polaire qui est constituée par le volume d'eau mélangé au solvant ((1 :1), 50%), ainsi cette fraction formée par la portion de l'eau distillée et des molécules bioactives polaires pourrait avoir la même composition que l'extrait méthanolique qui est un solvant polaire, ceci expliquerait le rapprochement des dosages obtenus. Le rendement d'extraction des composés phénoliques non polaires est souvent inférieur à celui des composés phénoliques polaires, à cause des caractéristiques de solubilité et à la nature des solvants utilisés dans le processus d'extraction. Les solvants polaires sont plus efficaces pour extraire les composés phénoliques polaires, qui sont généralement plus abondants et plus diversifiés dans les matières végétales. Les solvants non polaires, tels que l'éther de pétrole, sont moins efficaces pour extraire les composés phénoliques polaires, ce qui entraîne des rendements inférieurs (Khoddami *et al.*, 2013).

La Figure 16 montre les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits méthanoliques et d'éther de pétrole.



**Figure 16.** Comparaison des teneurs en FT pour les extraits méthanoliques (EAU) et des extraits d'éther de pétrole des deux extraction EAU et EC.

Les valeurs avec les lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (Tukey,  $p < 0,05$ ) pour chaque type de traitement

Les résultats expérimentaux indiquent que l'extraction conventionnelle (EC) s'est révélée plus efficace pour l'extrait polaire d'éther avec un rendement de  $33,07 \pm 1,26$  mg EQ/g MS.

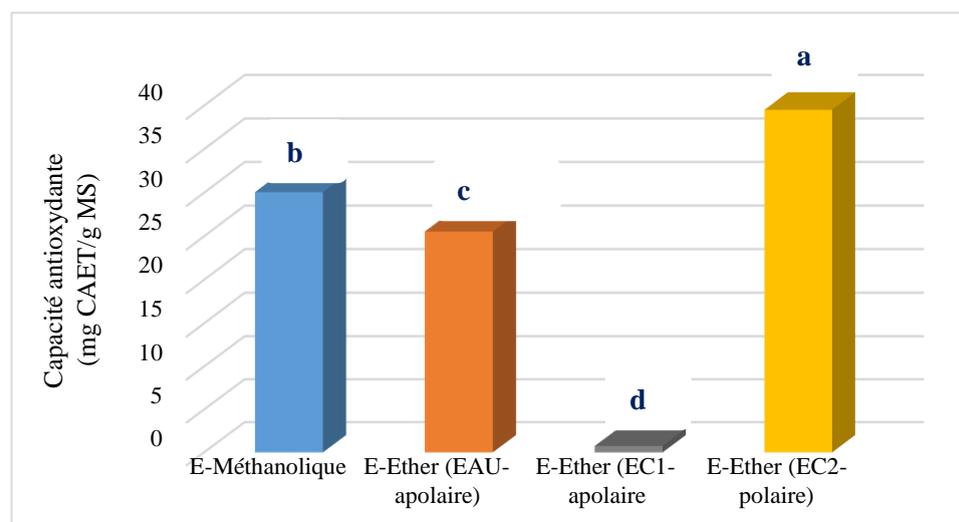
L'OFI est remarquable pour sa concentration élevée en divers polyphénols (Angulo-Bejarano, 2014, Astello-García *et al.*, 2015). Les flavonoïdes se démarquent particulièrement en tant que composants prédominants parmi ces composés phénoliques (Djeridane *et al.*, 2006).

Compte tenu de la sensibilité des flavonoïdes à la chaleur et de leur tendance à se dénaturer, les données les plus précises ont été obtenues en utilisant la température de séchage la plus basse lors de l'extraction conventionnelle par macération (Tiho *et al.*, 2017 ; Mahdeb *et al.*, 2021).

Ces résultats pourraient être cohérents avec notre étude, où l'extraction conventionnelle réalisée à température ambiante a montré de meilleures performances que l'EAU (à 60°C).

L'extrait méthanolique pourrait contenir d'autres types de composés phénoliques en plus des FT (à  $15,18 \pm 0,23$  mg EQ/g MS) qui sont présents à près de la moitié du taux global des CPT ( $35,66 \pm 1,30$  mg EQ/g MS), comme les tanins et les acides phénoliques. Alors que l'extrait d'éther de pétrole de l'EC semble être plus riche en FT ( $33,07 \pm 1,26$  mg EQ/g MS) par rapport à la fraction des CPT, de même pour l'extrait d'éther de pétrole de l'EAU qui est apolaire (**Tableau XI**).

Les résultats de l'évaluation antioxydante sont présentés ci-dessous **Figure (17)**. On constate que le taux le plus élevé est celui de l'éther de pétrole de l'EC ( $39,51 \pm 4,21$  mg CAET/g MS) suivi de l'extrait méthanolique ( $30,06 \pm 2,56$  mg CAET/g MS), ensuite  $25,53 \pm 1,01$  et  $0,74 \pm 1,43$  mg CAET/g MS sont obtenus pour l'extrait d'éther de pétrole apolaires de l'EAU et de l'EC, respectivement (**Tableau XI**).



**Figure 17.** Comparaison de l'activité antioxydante pour les extraits méthanoliques (EAU) et desextraits d'éther de pétrole des deux extraction EAU et EC.

Les valeurs avec les lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes (Tukey,  $p < 0,05$ ) pour chaque type de traitement.

On peut conclure que tous les extraits obtenus par les deux méthodes d'extraction EC et E.A.U montrent la capacité de piéger le radical ABTS+, excepté l'extrait apolaire d'éther de pétrole obtenu par EC ( $0,74 \pm 1,43$  mg CAET/g MS). Ce dernier ayant un faible taux de CPT et de FT. Tandis que la plus forte valeur notée pour l'éther de pétrole apolaire de l'EAU est certainement reliée au taux élevé des FT dans cet extrait.

De plus, cette capacité antioxydante est la plus marquée pour l'extrait méthanolique (polaire) et d'éther de pétrole polaire de de l'EC, qui présente la valeur la plus élevée en raison des forts taux de CPT et FT uniquement obtenus pour cet extrait.

Le calcul des taux d'inhibition (%) (**Tableau XI**) permet de constater que les taux d'inhibition des extraits (E-Méthanolique ( $89,59 \pm 3,43$  %), E-Ether(EAU-apolaire) ( $83,54 \pm 1,35$  %)

et E-Ether (EC2-polaire) ( $81,63 \pm 1,35$  %) sont plus élevés que E-Ether (EC1-apolaire) ( $51,93 \pm 4,79$  %) suivent les taux des CPT. Plus la concentration de composés phénoliques totaux est élevée (par leur capacité à neutraliser les radicaux libres responsables du stress oxydatif), meilleure est l'activité antioxydante des extraits en général. Cela dit des études de corrélations entre les trois paramètres (CPT, FT et Activité antioxydante) pourraient confirmer ces constatations.

### III.5. Activités antibactériennes :

#### III.5.1. Les tests réalisés :

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antimicrobien des extraits obtenus par deux solvants à travers les méthodes d'extraction correspondantes sur neuf souches bactériennes ATCC en majorité. Nous avons d'abord réalisé des essais sur gélose Mueller-Hinton (test des disques, puits, et spots), ensuite nous avons fait des essais par micro-dilutions en milieux liquides sur microplaques de 96 puits.

##### III.5.1.1. Test des disques et puits :

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits bruts vis-à-vis des souches a été effectuée en mesurant les diamètres des zones d'inhibition autour des disques de papier Whatman et des puits contenant les extraits secs reconstitués de l'EAU, à savoir l'extrait méthanolique (50, 100, 200 et 400 mg/mL) reconstitué en méthanol (50%), et l'extrait d'éther de pétrole (apolaire) à 30, 40 et 100 mg/mL, reconstitué en DMSO (40%). Les résultats sont indiqués en **Tableaux XII et XIII.**

L'activité antimicrobienne de nos extraits contre les bactéries analysées dans la présente étude a été évaluée en fonction de la présence ou de l'absence de zones d'inhibition, en comparant les diamètres des zones à ceux de seuils d'estimation de l'activité antimicrobienne (**Tableau VIII**, page 34). Les contrôles positives par antibiogramme, sont réalisés par dépôt de disques d'antibiotiques sur les mêmes boîtes de test des extraits.

Le résultat de tous les antibiogrammes réalisés est présenté en **Annexe 7.**

Tableau XII. Diamètres des zones d'inhibition des extraits testés par test des disques.

Bactéries	Extrait méthanolique (mg/mL)				Extrait d'éther de pétrole (mg/mL)		
	50	100	200	400	30	40	100
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6314)	0 mm	11 ± 1 mm	0 mm	0 mm	/	0 mm	0 mm
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	/	0 mm	0 mm	9,5 ± 1 mm	/	0 mm	0 mm
<i>Acinetobacter baumannii</i> (ATCC 610)	0 mm	0 mm	9 mm	0 mm	10,33 ± 0,57 mm	9 mm	0 mm
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 10876)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	/	0 mm	0 mm
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	10 ± 1,5 mm	0 mm	0 mm
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 29522)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	/	0	6,5 ± 0,57 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	0 mm	9 mm	13,6 ± 1,5 mm	0 mm	10,33 ± 0,57 mm	10 mm	0 mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (Souche de diagnostique)	/	0 mm	0 mm	0 mm	/	7 mm	0 mm
<i>Salmonella typhi</i> (ATCC 14028)	/	0 mm	0 mm	0 mm	/	0 mm	0 mm

Slash (/) : bactérie non testée car non encore disponible.

mm : millimètre

Tableau XIII. Diamètres des zones d'inhibition des extraits testés par test des puits

Bactéries	Extrait méthanolique (mg/mL)				Extrait d'éther de pétrole (mg/mL)	
	50	100	200	400	40	100
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6314)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	11 mm
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	/	0 mm	0 mm	13 ± 2,8 mm	0 mm	15 mm
<i>Acinetobacter baumannii</i> (ATCC 610)	0 mm	0 mm	10 mm	10,5 ± 0,7 mm	0 mm	0 mm
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 10876)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 29522)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	0 mm	0	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (Souche de diagnostique)	/	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
<i>Salmonella typhi</i> (ATCC 14028)	/	15 mm	0 mm	11 mm	0 mm	0 mm

Slash (/) : bactérie non testée car non encore disponible.

mm : millimètre

Les résultats indiquent que l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques et d'étherde pétrole varie selon les extraits, leurs concentrations, et le type de bactérie.

En utilisant **la méthode des disques**, on a constaté que parmi les neuf souches bactériennes testées avec l'extrait méthanolique, seules quatre ont été plus au moins affectées.

*S. aureus* a montré une zone d'inhibition de  $11 \pm 1$  mm à une concentration de 100 mg/mL, et de  $9,5 \pm 1$  mm à 400 mg/mL pour *E. faecalis*. Pour *A.baumannii*, une zone d'inhibition de 9 mm a été observée à une concentration de 200 mg/mL. De plus, *P. aeruginosa* a présenté une zone d'inhibition de  $13,6 \pm 1,5$  mm à une concentration de 200 mg/mL, mais suggérant un effet bactériostatique après observation de la réapparition d'un léger tapis bactérien à l'intérieur de la zone bien délimitée.

Les autres bactéries telles que *B. cereus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* et *S. typhi* n'ont montré aucun effet aux différentes concentrations testées de l'extrait méthanolique.

Pour l'extrait d'éther de pétrole, seules quatre souches ont révélé des résultats concernant les zones d'inhibition. *A baumannii* a présenté une zone d'inhibition de 9 mm et  $10,33 \pm 0,57$  mm à une concentration de 30 mg/mL et 40 mg/mL, respectivement, tandis que *K. pneumoniae* a produit un diamètre de 7 mm, à une concentration de 40 mg/mL et de  $6,5 \pm 0,57$  mm à 100 mg/mL pour *E. coli*, ces deux derniers résultats ne sont pas considérés comme des zones d'inhibition car ils sont inférieurs à 9 mm (**Tableau VIII, page 34**) selon **Hamidi, (2013)** et **Moreira et al., (2005)**. Pour *P. aeruginosa*, la zone d'inhibition mesurait est de  $10,33 \pm 0,57$  mm à une concentration de 40 mg/mL. Les autres bactéries n'ont montré aucun effet.

En utilisant **la méthode des puits**, on a constaté que parmi les neuf souches bactériennes testées avec l'extrait méthanolique, seules trois ont pu être affectées. Pour *E. faecalis* une zone d'inhibition de  $13 \pm 2,8$  mm a été observée à une concentration de 400 mg/mL. *A. baumannii* a présenté une zone d'inhibition de  $10,5 \pm 0,7$  mm à 400 mg/mL. *S. typhi* a présenté une zone d'inhibition de 15 mm et 11 mm à une concentration de 100 et 400 mg/mL, respectivement, mais en remarquant un effet bactériostatique probable pour le diamètre de 15 mm à cause de la présence d'un léger tapis bactérien à l'intérieur de cette zone.

Avec l'extrait d'éther de pétrole, seules deux souches ont révélées des résultats à une concentration de 100 mg/mL : *S.aureus* a présenté une zone d'inhibition de 11 mm tandis que *E. faecalis* une zone de 15 mm, probablement bactériostatique pour les mêmes raisons citées avant.

### III.5.1.2 Test des spots :

Ce test est réalisé et interprété de la même façon que les deux méthodes réalisées précédemment, sauf qu'il consiste en des dépôts directs de 5  $\mu$ L d'extraits sur un tapis bactérien poussant sur gélose Mueller-Hinton. L'extrait méthanolique (EAU) est testé aux concentrations de 50, 100, 200 et 400 mg/mL, tandis que pour l'extrait d'éther de pétrole (apolaire de l'EC) est testé aux concentrations 5, 10, 20, 40, 60, 80 et 100 mg/mL (**Tableau XIV**).

Tableau XIV. Diamètres des zones d'inhibition des extraits testés par test des spots

Bactéries	Extrait d'éther de pétrole (mg/mL)							Extrait méthanolique (mg/mL)			
	5	10	20	40	60	80	100	50	100	200	400
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6314)	0	0	0	0	0	0	0	5,5± 0,7 mm	6 mm	6 mm	8,5± 3,5 mm
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Acinetobacter baumannii</i> (ATCC 610)	11 mm	12 mm	11 mm	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 10876)	8 mm	8 mm	8 mm	10 mm	10 mm	11 mm	12 mm	0	0	0	0
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 29522)	11 mm	10,5± 0,7 mm	11,5 ± 0,7mm	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	9 mm	10 mm	10 mm	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (souche diagnostique)	10 mm	10 mm	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Salmonellatyphi</i> (ATCC 14028 )	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

mm : millimètre

L'extrait méthanolique démontre une activité antibactérienne uniquement contre *S. aureus*, avec des zones d'inhibition allant de  $5,5 \pm 0,7$  mm à 50 mg/mL, de 6 mm à 100 et 200 mg/mL et de  $8,5 \pm 3,5$  mm à 400 mg/mL, montrant aussi un effet dose-dépendant.

L'extrait d'éther de pétrole présente une activité notable contre plusieurs bactéries, notamment *E. coli* avec des zones d'inhibition de 11 mm à 5 mg/mL,  $10,5 \pm 0,7$  mm à 10 mg/mL, et  $11,5 \pm 0,7$  mm à 20 mg/mL. *A. baumannii* a montré des zones de 11, 12 et 11 mm aux concentrations de 5, 10 et 20 mg/mL, respectivement.

Pour *B. cereus* on remarque la présence de zones d'inhibition dont les diamètres augmentent en fonction des concentrations testées : de 8 mm entre 5 et 20 mg/mL puis augmentant jusqu'à 12 mm à 100 mg/mL. Pour *K. pneumoniae* deux zones d'inhibitions de 10 mm ont été observées à 5 et 10 mg/mL. En revanche, *P. aeruginosa* montre aussi une légère augmentation (9 à 10 mm) avec les concentrations de 5, 10 et 20 mg/mL.

Toutefois, les effets notés antibactériens de ces extraits par test des spots montrent beaucoup plus des effets bactériostatiques. Aucune activité antibactérienne n'a été observée contre *E. faecalis*, *B. subtilis*, et *S. typhi* pour les deux types d'extraits.

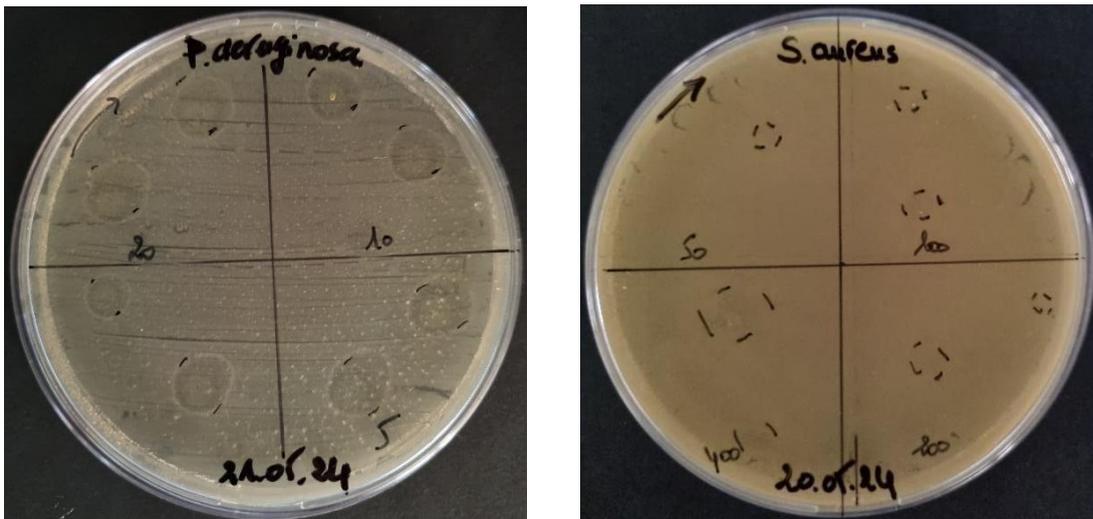
Les **Figures** ci-dessous montrent quelques photographies prises des trois tests réalisés sur gélose Mueller Hinton :



**Figure 18.** Zones d'inhibition observées suite aux tests des disques de l'extrait éther de pétrole (30 mg/mL) sur les souches *A. baumannii* et *P. aeruginosa*.



**Figure 19.** Zones d'inhibition observées suite aux tests des puits de l'extrait méthanolique sur la souche *S. typhi* et l'extrait d'éther sur la souche *S.aureus*.



**Figure 20.** Zones d'inhibition observées suite aux tests des spots de l'extrait d'éther sur la souche *P. aeruginosa* et de l'extrait méthanolique sur la souche *S. aureus*.

En analysant les résultats de nos tests, il est apparu que les deux extraits ont montré une efficacité à des concentrations spécifiques et avec des tests particuliers sachant que la sensibilité des souches est variable à l'égard de l'extrait testé. L'extrait méthanolique aurait des capacités à inhiber cinq bactéries dont trois à Gram (-) : *S. aureus*, *A. baumannii* et *S. typhi* et deux à Gram (+) : *E. faecalis* et *P. aeruginosa*. Tandis que l'extrait d'éther de pétrole a inhibé septes bactéries dont quatre à Gram(+) : *B. subtilis*, *B. cereus*, *P. aeruginosa* et *E. faecalis* et trois à Gram (-) : *A.baumannii*, *E .coli* et *K. pneumoniae*. Pour les deux extraits les zones observées varient entre 5,5 et 15 mm. On constate aussi que parmi ces trois tests sur gélose, le test des spots est plus efficace (surtout pour l'extrait d'éther de pétrole) que celui des disques et puits, cela est certainement due au contact direct des extraits avec les

bactéries étalées sur gélose Mueller-Hinton qu'on n'a pas dans les autres méthodes, où la diffusion à partir des disques et à travers la gélose pour les puits, pourrait agir comme un frein à l'action des extraits.

A partir de ces résultats, nous constatons que les zones d'inhibition sont de diamètres relativement faibles pour la majorité des bactéries et présentent des effets bactériostatiques probables. Ceci nous a induit à tester les trois extraits sur milieux liquide par microplaques de 96 puits où le contact direct entre les extraits et les souches testées pourrait donner des résultats plus probants.

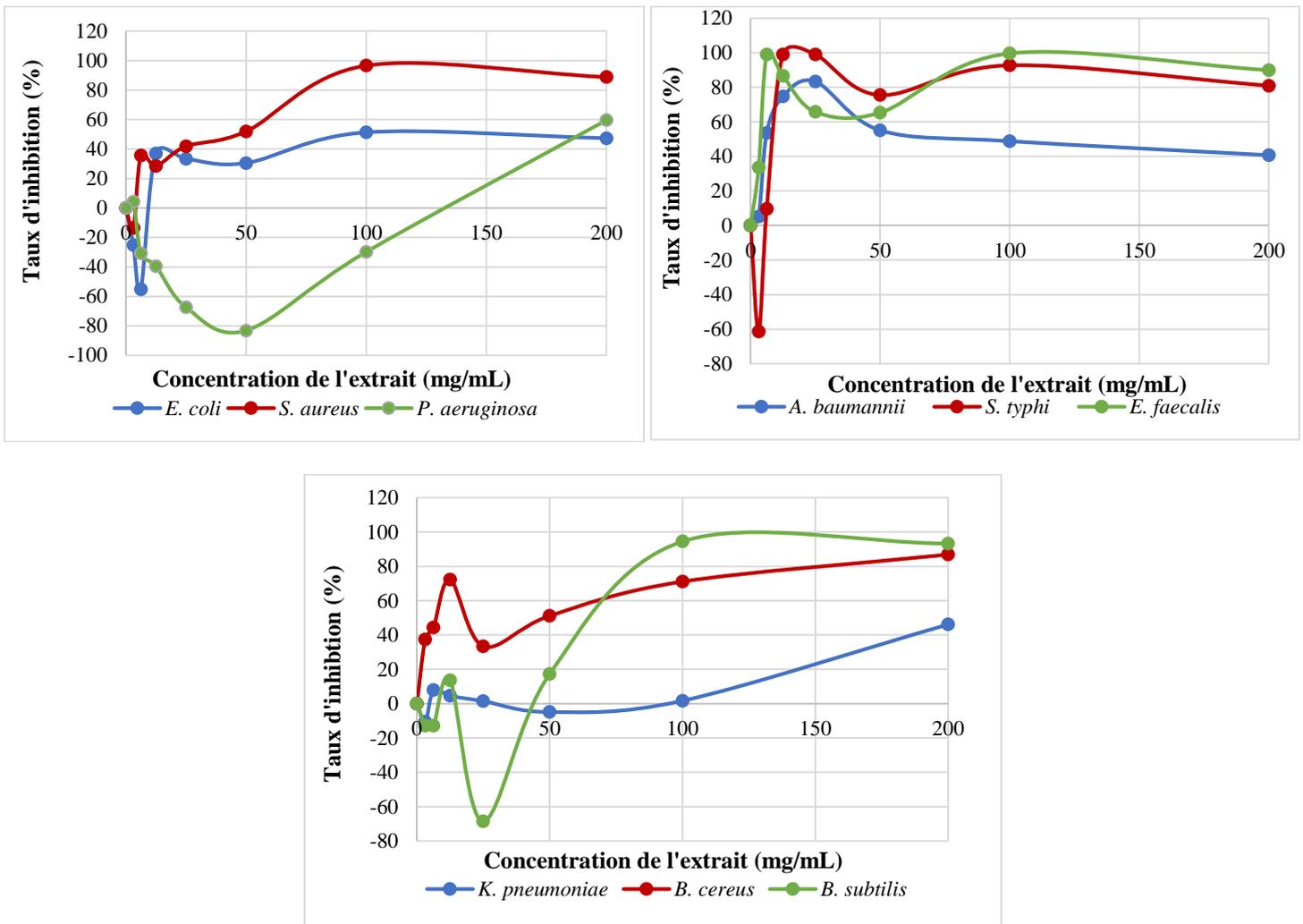
### **III.5.2. Microdilution : concentration minimale inhibitrice (CMI) :**

L'extrait méthanolique (EAU) et l'extrait d'éther de pétrole (apolaire et polaire de l'EC) ont été testé sur l'ensemble des souches bactériennes par microplaque afin de confirmer l'effet de nos extraits.

L'interprétation est faite en premier par observation à l'œil nu (présence ou absence d'un trouble dans les puits), et elle est complétée par repiquage à partir des suspensions de tous les puits sur gélose suivi d'une incubation dans l'étuve à température 37°C durant 18 à 24 heures. L'absence de la croissance à l'œil nu permet de déterminer les CMI, ainsi que de déduire après repiquage si cette concentration inhibitrice a un effet bactéricide (CMB) tuant les bactéries, ou plutôt un effet bactériostatique si les bactéries sont toujours vivantes (viables). En général, plus les CMB sont faibles plus l'extrait est efficace.

#### **III.5.2.1. Test de microdilution avec extrait Méthanolique :**

L'extrait méthanolique (EAU) a été testé par microdilution sur les 9 souches bactériennes à des concentrations de 3,12, 6,25, 12,5, 25, 50, 100, 200 mg/mL.



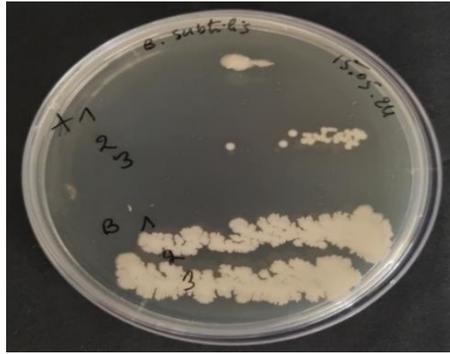
**Figure 21.** Inhibition des croissances bactériennes en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique.

Généralement les deux premières bactéries sont inhibées avec l'augmentation des concentrations des extraits, pour atteindre des taux d'inhibition de 65,75 % pour *E. coli* et de 78,57% pour *S.aureus* à 200 mg/mL. *P. aeruginosa* montre un effet contraire ; sa croissance est plutôt activée par les concentrations croissantes de l'extrait, mais atteint près de 109,84 % de taux d'inhibiton à 200 mg/mL.

*A baumannii*, *S. typhi* et *E faecalis* ont été inhibées par l'augmentation des concentrations des extraits pour atteindre 83.32, 109 %, et 134.06 % à 200 mg/mL, respectivement.

*K. pneumoniae*, *B. cereus* et *B. subtilis* ont été inhibées progressivement par 200 mg/mL d'extrait à 61.41, 103.37 et 108.56 %.

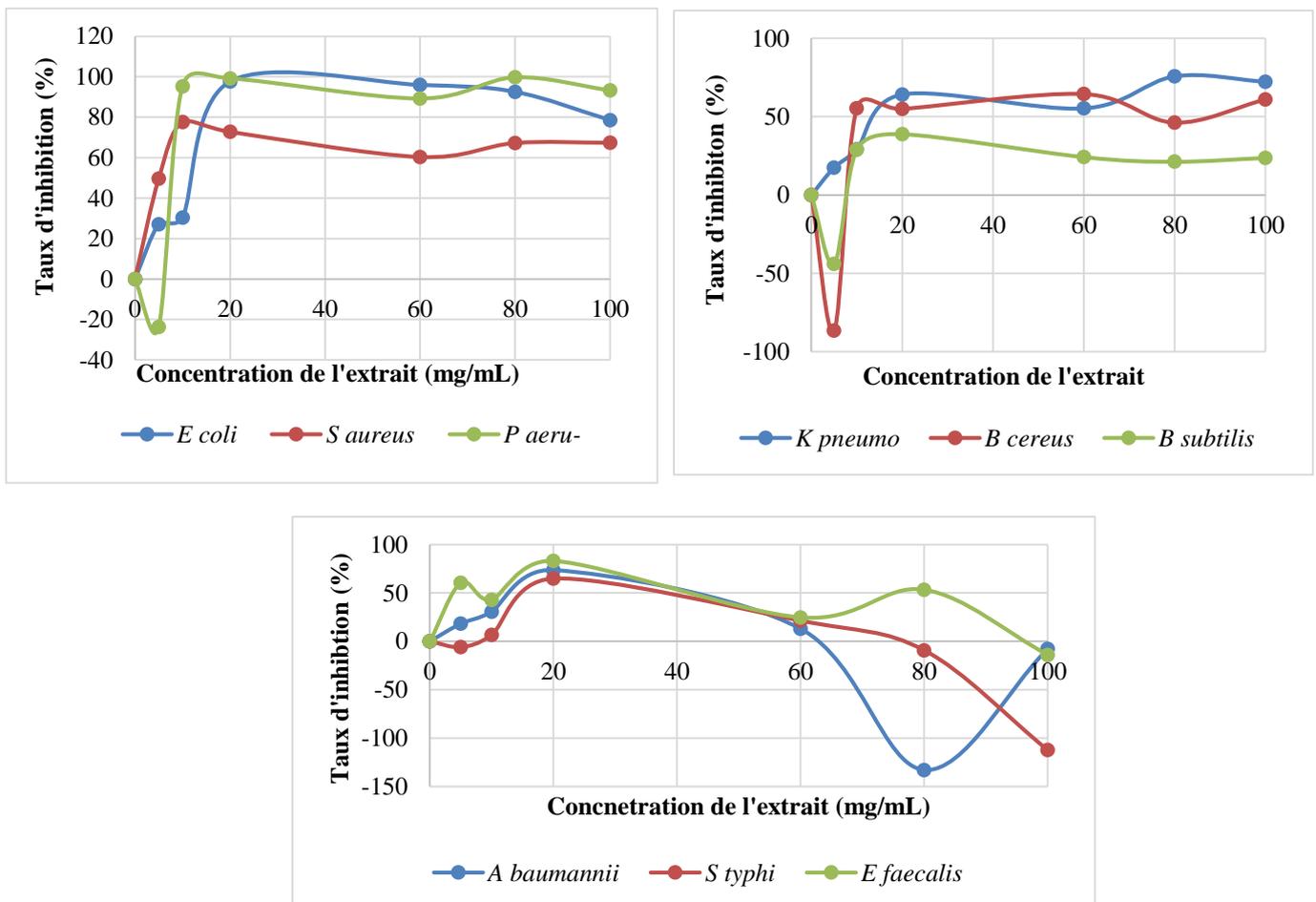
Les résultats du repiquage (**Figure 22**) ont montré que seule la croissance de *B. subtilis* a été inhibée 200 mg/mL d'extrait méthanolique, montrant ainsi un effet bactéricide de l'extrait. Dans ce cas, la CMI est égale à la CMB qui est de 200 mg/mL. Les autres souches testées sont encore viables malgré les taux d'inhibition élevés parfois notés, cela s'explique par des effets bactériostatiques.



**Figure 22.** Effet de l'extrait méthanolique (200 mg /mL) sur la croissance de *B. subtilis* 100 mg/mL. Les concentrations de 100 et 200 mg/mL correspondent aux lettres B et A, respectivement

**III.5.2.2. Test de microdilution avec extrait éther de pétrole (apolaire) :**

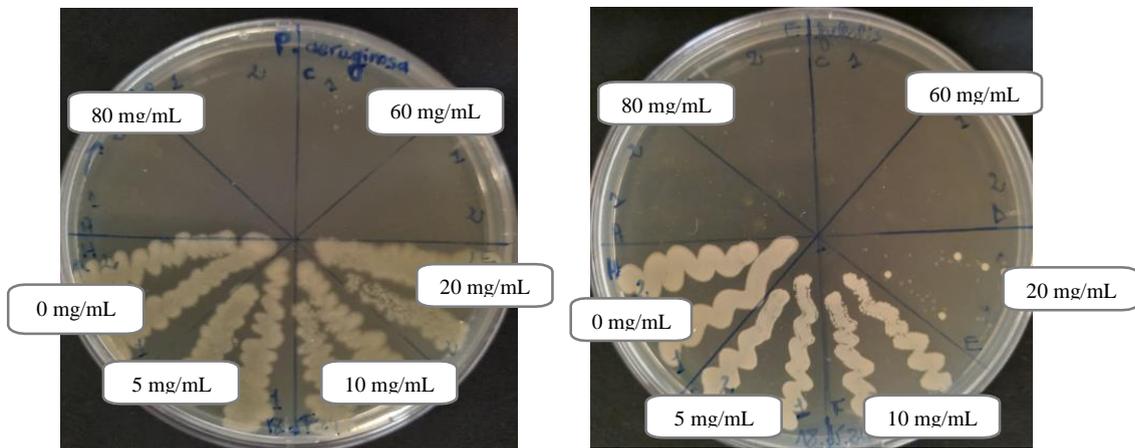
L'extrait d'éther de pétrole (apolaire de l'EC) a été testé par microdilution sur les 9 souches bactériennes à des concentrations de 5, 10, 20, 60 et 80 mg/mL.



**Figure 23.** Inhibition des croissances bactériennes en fonction des concentrations de l'extrait éther de pétrole.

Comme pour le test précédent, les bactéries sont inhibées proportionnellement aux concentrations de l'extrait, avec des taux d'inhibition variés selon les bactéries, mais étant les plus faibles pour les trois dernières bactéries (entre 80 et 50 %).

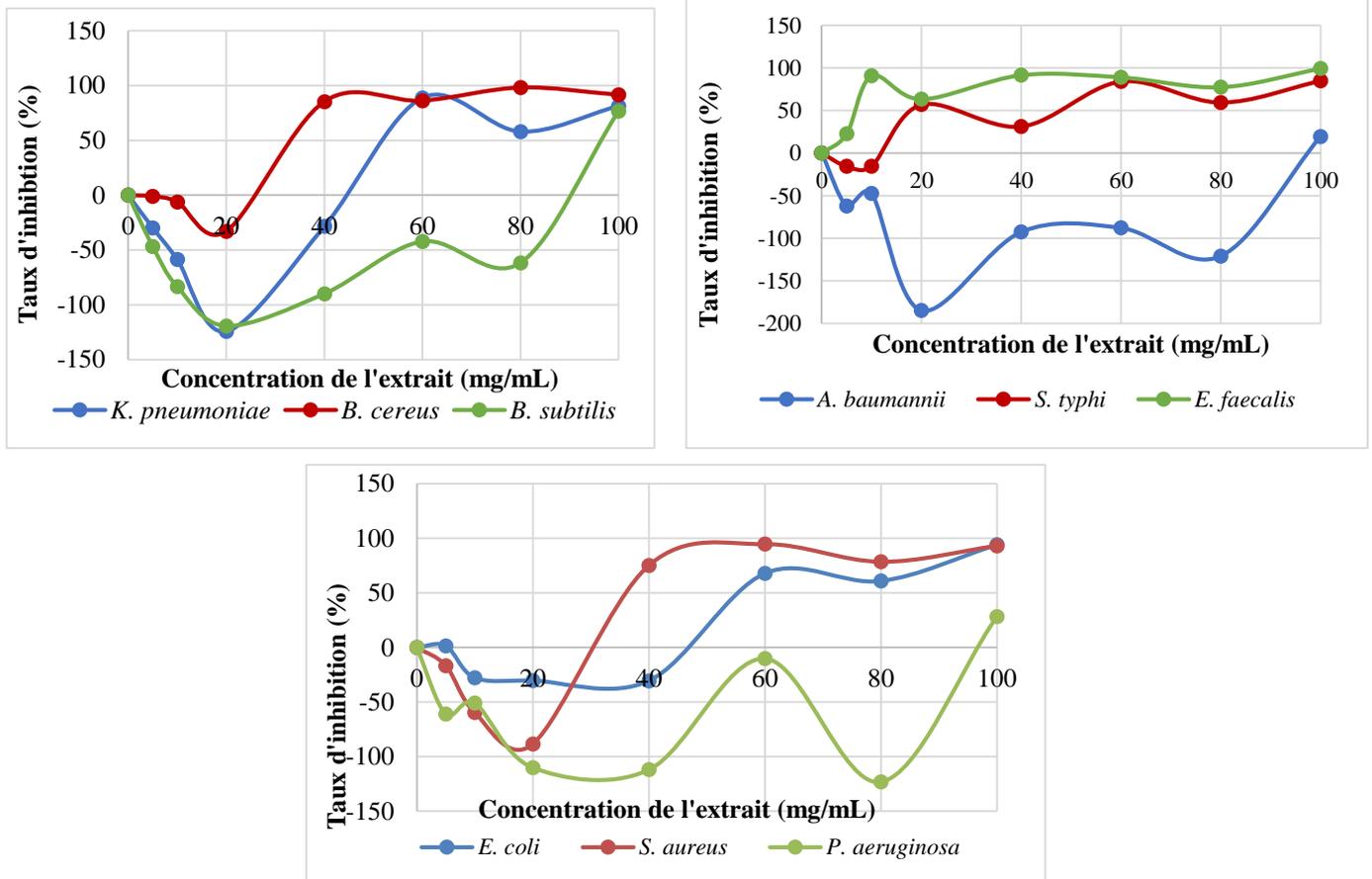
Les résultats du repiquage ont montré que *P. aeruginosa* est entièrement inhibée à 60 et 80 mg/mL qui peuvent donc être considérées comme les CMB. Alors, qu'*E. faecalis* est partiellement inhibée dès 20 mg/mL et ne pousse plus à 60 et 80 mg/mL, respectivement (**Figure 24**), ainsi on peut considérer que la CMI est de 20 mg/mL et que 60 et 80 mg/mL représentent les CMB. Ainsi, les valeurs des CMB sont plus faibles que celle observée pour l'extrait méthanolique, ce qui est en faveur d'une efficacité plus accentuée de cet extrait. Les autres souches testées sont encore viables malgré les taux d'inhibition élevés parfois notés, cela s'explique par des effets bactériostatiques.



**Figure 24.** Effet des concentrations de l'extrait d'éther de pétrole (EC-apolaire) sur *P. aeruginosa* (à gauche) et *E. faecalis* (à droite).

### III.5.2.3. Test de microdilution avec extrait éther de pétrole (polaire) :

L'extrait d'éther de pétrole (apolaire de l'EC) a été testé par microdilution sur les 9 souches bactériennes à des concentrations de 5, 10, 20, 40, 60, 80 et 80 mg/mL (**Figures 25**).



**Figure 25.** Inhibition des croissances bactériennes en fonction des concentrations de l'extrait d'éther de pétrole (EC-Polaire).

Les taux d'inhibition augmentent progressivement pour *E. coli* pour atteindre 94,1 %, à 100 mg/mL, tandis que pour *P. aeruginosa* les taux d'inhibition sont principalement négatifs à toutes les concentrations sauf à 100 mg/mL avec un taux de 28,30 %. Cela indique une stimulation de la croissance bactérienne pour cette souche à la plupart des concentrations testées. La même observation est notée pour *S. aureus* entre 5 et 40 mg/mL, à 100 mg/L, mais le taux d'inhibition est de 93,16 %.

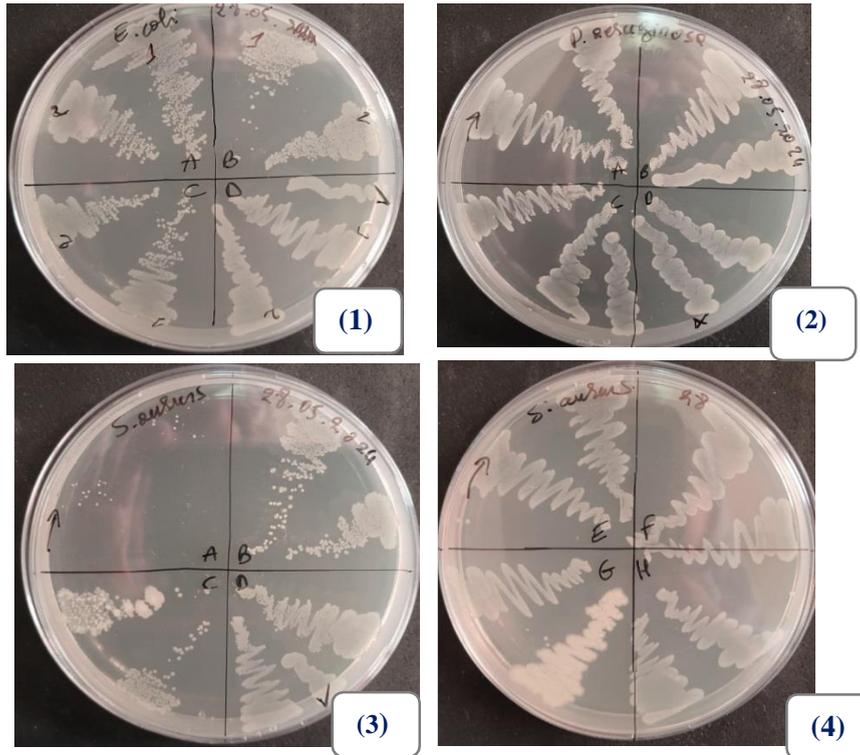
Pour *E. faecalis* et *S. typhi* nous observons une augmentation proportionnelle des taux d'inhibition avec les concentrations testées, qui est plus importante à toutes les concentrations d'extrait pour *E. faecalis*.

Cela dit, la croissance d'*A. baumannii* est stimulée par l'extrait et atteint le plus faible taux enregistré de 19,41 % à 100 mg/mL d'extrait.

Pour *K. pneumoniae* et *B. subtilis* nous notons un effet inverse des taux d'inhibition qui indique une croissance stimulée par l'augmentation des concentrations de l'extrait, mais un taux d'inhibition est atteint (114,72 %) à 100 mg/mL. La croissance de *B. cereus* est inhibée à partir de 40, 60,80 et 100 mg/mL, avec des taux d'inhibition de 77,7 ; 97,1 ; 78,9 ; 115.8 %, respectivement.

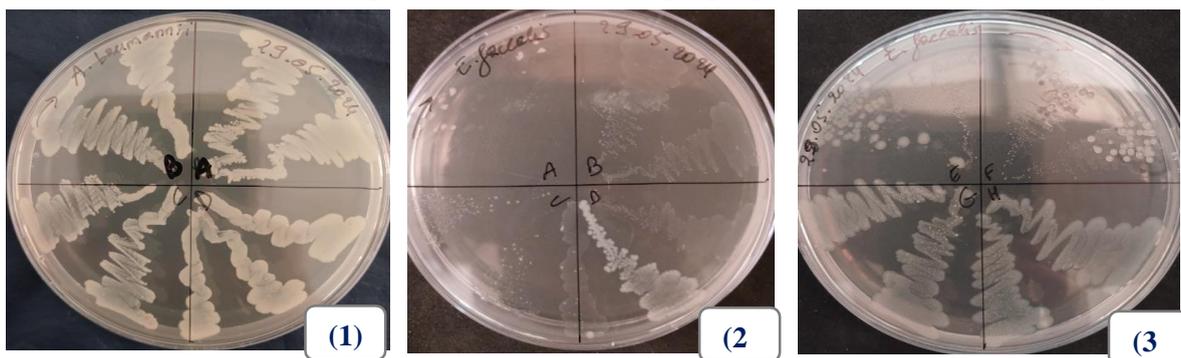
Les résultats du repiquage (Figure 26) ont montré que seule la croissance de *S. aureus* est complètement inhibée à 100 mg/mL d'extrait, montrant ainsi un effet bactéricide de l'extrait (avec un taux d'inhibition dépassant les 100 %). Dans ce cas, la CMI est égale à la CMB qui est de 100 mg/mL.

Les autres souches testées sont encore viables malgré les taux d'inhibition élevés parfois notés, cela s'explique par des effets bactériostatiques.



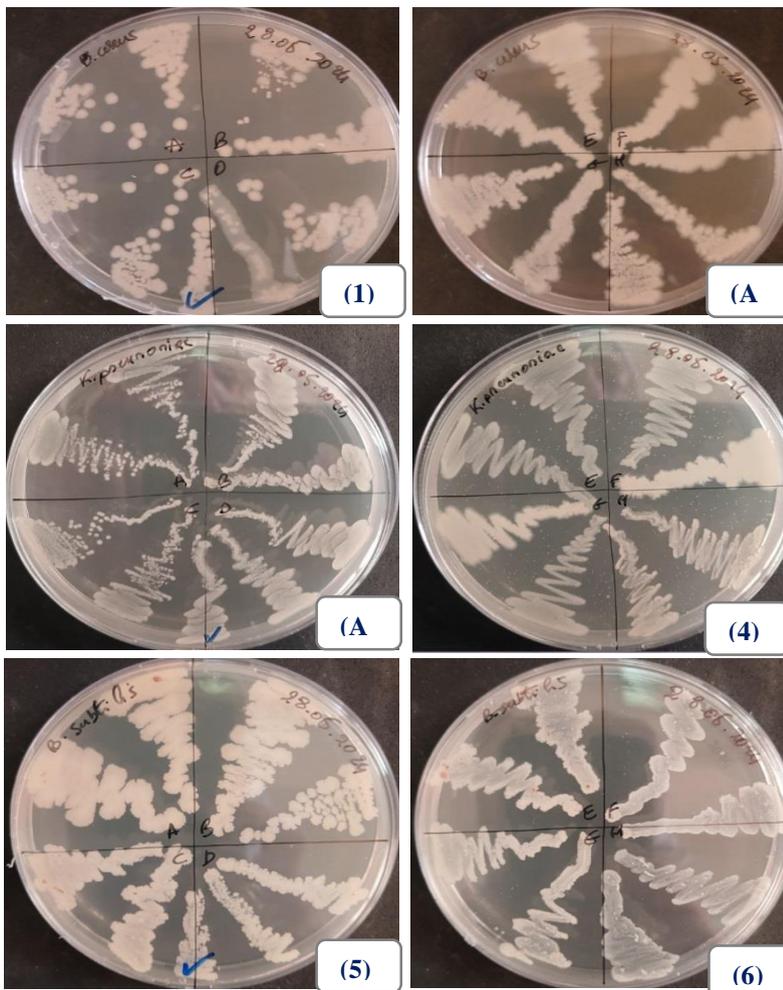
**Figure 26.** Effet des concentrations de l'extrait d'éther de pétrole (EC-polaire) de 40, 60, 80 et 100 mg/mL correspondants à D, C, B et A respectivement sur la croissance de *E. coli* (1) et *P. aeruginosa* (. Effet des concentrations de 0, 5, 10, 20, 40, 60, 80 et 100 mg/mL correspondent aux lettres H, G, E, F, C, D, B et A pour *S. aureus* (3 et 4) respectivement.

Les résultats du repiquage (**Figure 27**) ont montré que seule la croissance de *E. faecalis* est complètement inhibée à 100 mg/mL d'extrait, montrant ainsi un effet bactéricide de l'extrait. Ainsi, la CMI est égale à la CMB qui est de 100 mg/mL. Les autres souches testées sont encore viables malgré les taux d'inhibition élevés parfois notés, cela s'explique par des effets bactériostatiques.



**Figure 27.** Effet des concentrations de l'extrait d'éther de pétrole (EC-polaire) de 40, 60, 80 et 100 mg/mL correspondants à D, C, B et A respectivement sur la croissance de *A. baumannii* (1) et *E. faecalis* (2 et 3). Les concentrations de 0, 5, 10 et 20 mg/mL correspondent aux lettres H, G, E et F, respectivement.

Le repiquage des trois souches (*B. cereus*, *K. pneumoniae* et *B. subtilis*) ne montre pas d'effet bactéricide (**Figure 28**) mais plutôt bactériostatique.



**Figure 28.** Effet des concentrations de l'extrait d'éther de pétrole (EC-polaire) de 0, 5, 10, 20, 40, 60, 80 et 100 mg/mL correspondants à H, G, E, F, C, D, B et A, respectivement pour *B. cereus* (1 et 2), *K. pneumoniae* (3 et 4) et *B. subtilis* (5 et 6).

Concernant l'IC<sub>50</sub>, qui est la concentration inhibitrice médiane (CI<sub>50</sub>, ou IC<sub>50</sub> en anglais), c'est est une mesure de l'efficacité d'un composé donné pour inhiber une fonction biologique ou biochimique spécifique. Cette mesure quantitative indique quelle quantité d'une substance (inhibiteur) est nécessaire pour inhiber à moitié un processus biologique donné. Cette valeur de l'IC<sub>50</sub> calculée à partir des taux d'inhibition obtenus par microplaque (**Annexe 8 et 9**) pour *E. faecalis* qui a été complètement inhibée avec l'extrait éther de pétrole, est égale à 3,51 mg/mL. Alors que son IC<sub>50</sub> avec extrait méthanolique est de 7,21 mg/mL ou la bactérie montre a été inhibée par effet bactériostatique. Cela indique qu'il faut une concentration relativement élevée de l'extrait méthanolique pour inhiber 50% de l'activité biologique de cette bactérie.

D'après nos résultats des essais *in vitro* antibactériens sur gélose et sur microplaque, on constate que les extraits méthanolique et d'éther de pétrole des cladodes d'OFI (obtenu par EAU et EC) montrent des effets antibactériens globalement bactériostatiques mais aussi bactéricide particulièrement remarquée sur microplaques contre *B. subtilis* (extrait méthanolique EAU), contre *E. faecalis* et *P. aeruginosa* (extrait éther de pétrole apolaire-EC), et contre *E. faecalis* et *S. aureus* (extrait éther de pétrole polaire-EC).

Plusieurs auteurs, tels que (Shafiei *et al.* 2013) et (Wasnik et Tumane 2016) ont confirmé que les extraits de diverses espèces d'OFI, dans une variété de solvants polaires et apolaires, ont démontré une activité contre des souches bactériennes telles que *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Bacillus subtilis*.

Divers travaux (Marwa *et al.*, 2020 ; El-Mostafa *et al.*, 2014 ; Perucini-Avendano *et al.*, 2021), attestent de la présence d'une variété de métabolites secondaires tels que les tanins, les terpénoïdes, les alcaloïdes et les flavonoïdes possède des propriétés antimicrobiennes efficaces, augmentant ainsi la toxicité des extraits envers les microorganismes. (Marwa *et al.*, 2020) a expliqué que cette activité est probablement due à la capacité de ces métabolites à former des complexes avec des protéines extracellulaires et solubles, ainsi qu'à se lier aux parois cellulaires bactériennes, entraînant ainsi une rupture des membranes microbiennes.

Une croissance significative avec des concentrations croissantes d'extrait a été constatée pour certaines bactéries (*P. aeruginosa* et *A. baumannii*). Cette observation peut s'expliquer par la richesse des cladodes d'OFI en carbone, en azote, en phosphore et en sources minérales favorisant la croissance de différentes espèces bactériennes et de champignons (Reda *et al.*, 2020).

D'après l'étude menée par (Semiria *et al.*, 2022), l'extrait méthanolique de cladodes d'OFI a démontré une activité antibactérienne significative contre une variété de bactéries, notamment *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Enterococcus faecalis*, couvrant ainsi les bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Ils suggèrent son potentiel d'être utilisé comme un agent antibactérien efficace dans divers domaines. Il est intéressant de noter que les observations de notre étude concordent avec ces résultats, montrant que nos extraits ont également une activité contre les deux types de bactéries, à la fois Gram positif et Gram négatif, en particulier avec les souches mentionnées.

D'un autre côté, d'après nos résultats, les extraits d'éther de pétrole de l'EC (apolaire et polaire) pourraient être plus efficaces que l'extrait méthanolique montrant deux effets bactéricides sur trois bactéries (*E. faecalis*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*) par microdilution. Ces effets pourraient être reliés aux forts taux des flavonoïdes totaux notés dans notre étude pour l'extrait polaire (EC), et de la forte activité antioxydante aussi (Tableau VI). Quant à l'extrait apolaire (EC) il pourrait contenir des

composés phénoliques apolaires ou bien des terpènes potentiellement connus pour être actifs contre les bactéries (**Bassolé *et al.*, 2012**).

De la même façon, (**Mabotja *et al.*, 2021**), les extraits d'éther de pétrole présentaient une activité antibactérienne plus puissante par rapport aux extraits de méthanol à 50% de cladode d'OFI. Cette différence d'efficacité est principalement due à la différente polarité des solvants utilisés avec les molécules bioactives.

Conformément aux conclusions de l'étude menée par (**Welegerima *et al.*, 2018**), les extraits de cladodes d'*Opuntia ficus indica* ont démontré des propriétés antibactériennes significatives à la fois contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. De plus, ces travaux de recherche de (**Welegerima *et al.*, 2018**) et ceux de (**Aruwa *et al.*, 2019**) ont mis en évidence que les extraits de cladodes d'OFI sont une source riche en divers composés phytochimiques, notamment les substances phénoliques, les tanins, les glycosides, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponines, les stéroïdes et les alcaloïdes. Ces composés pourraient être responsables de l'activité inhibitrice observée contre les bactéries

De plus (**Boizot and Charpentier, 2020**) soulignent que l'activité antibactérienne observée peut être attribuée à la présence de ces composés qui sont reconnus pour leurs propriétés bactéricides et/ou bactériostatiques.

Les souches qui n'ont présenté aucune zone d'inhibition à différentes concentrations de nos extraits peuvent être expliquées par divers facteurs. Parmi ces éléments, on peut évoquer le problème de diffusion de l'extrait, tel que mentionné dans (**Fettah *et al.*, 2018**).

Plusieurs auteurs justifient l'absence de zone d'inhibition pour les extraits testés par la méthode des disques en soulignant plusieurs facteurs, notamment la charge du disque lors de l'imprégnation, la capacité de l'extrait à se diffuser correctement, ainsi que la polarité et la solubilité des produits évalués. Dans notre étude, l'extrait d'éther a montré deux phases, polaire et apolaire, qui se reformaient continuellement après chaque vortex avant la réalisation de chaque test, en accord avec l'article mentionnant l'importance de la polarité et de la solubilité de l'extrait. Comme souligné par (**Klančnik *et al.*, 2011**) l'absence de zone d'inhibition ne signifie pas nécessairement que le composé est inactif, en particulier pour les composés moins polaires qui diffusent plus lentement dans le milieu de culture.

# Conclusion

La diversité des composés bioactifs présents dans les plantes suscite un intérêt croissant en recherche pour leur potentiel bénéfique. Notre étude s'est spécifiquement concentrée sur *Opuntia ficus indica*, une plante appartenant à la famille des Cactaceae. Cette plante, présente un potentiel prometteur pour diverses applications thérapeutiques, notamment en raison de ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Son utilisation traditionnelle dans la médecine populaire mexicaine souligne son importance culturelle et ses bienfaits potentiels pour la santé.

Notre recherche s'est focalisée sur les extraits de cladodes, explorant ainsi leur potentiel et leurs applications comme agents antibactériens. Deux extraits obtenus par l'usage du méthanol et de l'éther de pétrole comme solvants d'extraction en extraction assistée par ultrasons (EAU) et en extraction conventionnelle (EC) ont été évalués pour leur efficacité antibactérienne.

Cette évaluation a été réalisée à l'aide de diverses méthodes telles que la méthode des disques, des puits, des spots, et la microdilution contre les bactéries suivantes *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, et *Acinetobacter baumannii*.

Les résultats obtenus ont montré que les deux extraits ont présenté un effet bactériostatique en majorité sur toutes les souches testées à différents degrés quel que soit la méthode utilisée, mais le résultat du test des spots avec l'extrait d'éther de pétrole (EC apolaire), favorisant un contact direct, a montré des effets plus notables sur les bactéries testées en plus de l'effet dose-dépendant observé pour certaines souches. Toutefois, un effet bactéricide est observé grâce à la méthode des micro dilutions sur quatre souches bactériennes (*B. subtilis* avec l'extrait méthanolique de l'EAU, et trois bactéries inhibées avec l'éther de pétrole de l'EC : *E. faecalis*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*), comme en témoigne l'absence de poussée bactérienne sur microplaques. La capacité antibactérienne la plus efficace a été donc observée avec l'extrait d'éther de pétrole (avec les deux fractions polaire et apolaire) montrant les CMB les plus faibles.

Cette activité des deux extraits peut s'expliquer par la présence de divers composés tels que les tanins, les glycosides, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponines, les stéroïdes et les alcaloïdes, ainsi que d'autres composés phénoliques polaires ou apolaires ou des terpènes, connus pour leur forte activité antibactérienne.

En somme, il apparaît que la plante étudiée est riche en métabolites secondaires aux propriétés thérapeutiques et médicinales prometteuses. Cependant, cette étude reste exploratoire et ne permet pas de conclure sur le mécanisme d'action de la plante. Elle constitue néanmoins une première étape dans la recherche des substances naturelles biologiquement actives.

Les résultats de cette étude offrent un aperçu du potentiel antibactérien des extraits de la plante étudiée. Ainsi, il est essentiel de poursuivre les recherches sur ces extraits pour :

- Purifier et isoler les composés bioactifs pour des tests individuels visant à les identifier et à identifier le mécanisme d'action ;
- Tester l'activité antibactérienne des divers extraits sur d'autres souches bactériennes.
- Approfondir l'étude des activités biologiques des espèces du genre *Opuntia* en vue de développer des antibiotiques à partir de ces extraits végétaux ;
- Entreprendre des recherches supplémentaires sur l'activité antibactérienne d'autres parties de la plante, car chaque partie possède une composition spécifique riche en divers composés, ce qui peut influencer leur efficacité sur des souches bactériennes spécifiques ;
- Explorer d'autres activités telles que l'activité anti-inflammatoire et anticancéreuse pour confirmer ou infirmer les propriétés biologiques attribuées à cette plante ;
- Étudier d'autres méthodes d'extraction et leur impact sur la composition chimique et les activités biologiques.

# **Références bibliographiques**

- A. MAZARI,. 2021. Importance nutritionnelle et agro-économique des produits issus du figuier de barbarie : revue de la littérature. 19, 43-63.
- ABBAS, R., CHAKKOUR, M., ZEIN EI DINE, H., OBASEKI, E. F., OBEID, S. T., JEZZINI A., GHSSEIN, G. & EZZEDDINE, Z. 2024. General Overview of Klebsiella pneumonia : Epidemiology and the Role of Siderophores in Its Pathogenicity. *Biology (Basel)*, 13.
- ADEROUD, N. 2017. *Wastewater treatment by Electrocoagulation-Electroflotation technique. Case study: Aqueous extract of the plant pad Opuntia ficus indica*. Phd Doctorat, Université Abderrahmane Mira De Bejaia.
- ANGULO-BEJARANO, O.MARTINE-CRUZ.,O.PAREDES-López. 2014. Phytochemical Content, Nutraceutical Potential and Biotechnological Applications of an Ancient Mexican Plant: Nopal (Opuntia ficus-indica). *Current Nutrition & FoodScience*, 196.
- ARAGONA, M., Lauriano, E. R., Pergolizzi, S .,Faggio ,C. 2018. *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller as a source of bioactivity compounds for health and nutrition. *Nat Prod Res*, 32,2037-2049.
- BARBA, F. J., GARCIA, C., FESSARD, A., MUNEKATA, P. E. S., LORENZO, J. M., ABOUDIA, A., OUADIA, A. & REMIZE, F. 2020. Opuntia Ficus Indica Edible Parts: A Food and Nutritional Security Perspective. *Food Reviews International*, 38, 930-952.
- BELHADJ SLIMEN, I., NAJAR, T. & ABDERRABBA, M. 2021. <bioactive-compounds-in-underutilized-vegetables-and-legumes-.pdf>. Springer Nature Switzerland AG.
- BEN HAJ KHALIFA, A., MOISSENET, D., VU THIEN, H. & KHEDHER, M. 2011. [Virulence factors in Pseudomonas aeruginosa: mechanisms and modes of regulation]. *Ann Biol Clin(Paris)*, 69, 393-403.
- BENATTIA, F. K. & ARRAR, Z. 2018. Antioxidative and Antiradical Activities of Bioactive Compounds of Extracts From Algerian Prickly Pear (Opuntia ficus-indica.L) Fruits. *Current Nutrition & Food Science*, 14, 211-217.
- BOIZOT, N. & CHARPENTIER, J.-P. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier.
- BOUTAKIOUT, A. 2017. *Etude physico-chimique, biochimique et stabilité d'un nouveau produit : jus de cladode du figuier de Barbarie marocain (Opuntia ficus-indica et Opuntia megacantha)*.
- BUCKLAND, C. E., SMITH, A. & THOMAS, D. S. G. 2022. A comparison in species distribution model performance of succulents using key species and subsets of environmental predictors.*Ecol Evol*, 12, e8981.
- CAPPELLE, C. 2017. Maîtrise de la contamination dans un secteur de remplissage aseptique. *Sciences pharmaceutiques*.
- CARREIRA-CASAS, A., OTERO, P., GARCIA-PEREZ, P., GARCIA-OLIVEIRA, P., PEREIRA, A. G., CARPENA, M., SORIA-LOPEZ, A., SIMAL-GANDARA, J. & PRIETO, M. A. 2021. Benefits and Drawbacks of Ultrasound-Assisted Extraction for the Recovery of Bioactive Compounds from Marine Algae. *Int J Environ Res Public Health*, 18.
- CERQUEIRA DOS SANTOS, S., ARAUJO TORQUATO, C., DE ALEXANDRIA SANTOS, D., ORSATO, A., LEITE, K., SERPELONI, J. M., LOSI-GUEMBAROVSKI, R., ROMAO PEREIRA, E., DYNA, A. L., LOPES BARBOZA, M. G., FERNANDES ARAKAWA, M. H.,PIRES BITENCOURT, J. A., DA CRUZ SILVA, S., DA SILVA SA, G. C., DIAS RODRIGUES, P., QUINTELLA, C. M. & FACCIN-GALHARDI, L. C. 2024. Production and characterization of rhamnolipids by Pseudomonas aeruginosa isolated in the Amazon region, and potential antiviral, antitumor, and antimicrobial activity. *Sci Rep*, 14, 4629.
- CHOWDHURY, A. R., MUKHERJEE, D., CHATTERJEE, R. & CHAKRAVORTTY, D. 2024. Defying the odds: Determinants of the antimicrobial response of Salmonella Typhi and their interplay. *Mol Microbiol*, 121, 213-229.
- CLAVE 2013. Compte rendu 131 Bactériologie.

- COTA-SÁNCHEZ, J. H. 2016. *Nutritional Composition of the Prickly Pear ( Opuntia ficus-indica ) Fruit*. 691-712.
- DACA, A. & JARZEMBOWSKI, T. 2024. *From the Friend to the Foe-Enterococcus faecalis Diverse Impact on the Human Immune System*. *Int J Mol Sci*, 25.
- DUBEY, A. 2019. Machine learning model for analysis of critically important antimicrobials for human medicine. *International Journal of Molecular Biology : Open Access*, 3, 287-293.
- DULCE, M., JIMÉNEZ-AGUILAR, MÚJICA-PAZ, H. & WELTI-CHANES, J. 2014. Phytochemical Characterization of Prickly Pear (Opuntia spp.) and of its Nutritional and Functional Properties: A Review. *Current Nutrition & Food Science*, 10, 57-69.
- E.CHERIF 2016. Agroline. In: E.CHERIF (ed.) *Agroline*.
- EL-HAWARY, S. S., SOBEH, M., BADR, W. K., ABDELFATTAH, M. A. O., ALI, Z. Y., EL-TANTAWY, M. E., RABEH, M. A. & WINK, M. 2020. HPLC-PDA-MS/MS profiling of secondary metabolites from Opuntia ficus-indica cladode, peel and fruit pulp extracts and their antioxidant, neuroprotective effect in rats with aluminum chloride induced neurotoxicity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27, 2829-2838.
- EL-MOSTAFA, K., EL KHARRASSI, Y., BADREDDINE, A., ANDREOLETTI, P., VAMECQ, J., ELKEBBAJ, M. S., LATRUFFE, N., LIZARD, G., NASSER, B. & CHERKAOUI-MALKI, M. 2014. Nopal cactus (Opuntia ficus-indica) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Molecules*, 19, 14879-901.
- FELKAI-HADDACHE, L., REMINI, H., DULONG, V., MAMOU-BELHABIB, K., PICTON, L., MADANI, K. & RIHOUEY, C. 2015. Conventional and Microwave-Assisted Extraction of Mucilage from Opuntia ficus-indica Cladodes: Physico-Chemical and Rheological Properties. *Food and Bioprocess Technology*, 9, 481-492.
- FETTAH, DJOUAMAA & LAMARA 2018. Évaluation in-vitro de l'activité antibactérienne des extraits naturels d'une sous-espèce de Teucrium polium L. cultivée dans la région de BeniSouik, Biskra.
- GREEN, K. 2012. Mise à jour sur le Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline. *Bacterial Diseases Network*, 4, 1-4.
- HADJ SADOK, T. 2010. *Composition chimique des jeunes cladodes d'Opuntia ficus indica et possibilités de valorisation alimentaire*. Ecole Nationale Supérieure Agronomique.
- HOWDEN, B. P., GIULIERI, S. G., WONG FOK LUNG, T., BAINES, S. L., SHARKEY, L. K., LEE, J. Y. H., HACHANI, A., MONK, I. R. & STINEAR, T. P. 2023. Staphylococcus aureus host interactions and adaptation. *Nat Rev Microbiol*, 21, 380-395.
- INGLESE, P. 2018. *Ecologie, culture et utilisations du figuier de barbarie*.
- KARAMPATAKIS, T., TSENGOULI, K. & BEHZADI, P. 2024. Pan-Genome Plasticity and Virulence Factors: A Natural Treasure Trove for Acinetobacter baumannii. *Antibiotics (Basel)*, 13.
- KHARRASSI, Y. E. 2015a. *Mise en évidence de la diversité des populations de cactus (Opuntia spp.) au Maroc et de la modulation du métabolisme lipidique par des extraits naturels et de phytostérols issues de cactus ou d'huile d'Argan dans les cellules microgliales BV2*. Phd, Université de Bourgogne.
- LOISON, P. 2013. *Etude de la spore de Bacillus subtilis : caractérisation des structures impliquées dans sa résistance*. Université de Bourgogne.
- MABOTJA, M. B., VENTER, S. L., DU PLOOY, C. P., KUDANGA, T. & AMOO, S. O. 2021. Phytochemical Content, Antioxidant, Alpha-Glucosidase Inhibitory and Antibacterial Activities of Spineless Cactus Pear Cultivars. *Plants (Basel)*, 10.
- MAHDEB, A. 2022. *Evaluation des teneurs en polyphénols totaux d'un sous-produit (poudre de cladode) des écotypes identifiés du figuier de barbarie conduits en monoculture dans deux régions de l'Est algérien (Bejaia, Souk Ahras)*. Doctorat, Université Mohammed Seddik Benyahia- de Jijel.

- MARIOD, A. A. 2019. *Wild Fruits: Composition, Nutritional Value and Products*.
- MARTINS, M., RIBEIRO, M. H. & ALMEIDA, C. M. M. 2023. Physicochemical, Nutritional, and Medicinal Properties of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. and Its Main Agro-Industrial Use: A Review. *Plants (Basel)*, 12.
- MENDEZ, L. P., FLORES, F. T., MARTIN, J. D., RODRIGUEZ RODRIGUEZ, E. M. & DIAZ ROMERO, C. 2015. Physicochemical characterization of cactus pads from *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus indica*. *Food Chem*, 188, 393-8.
- MÉRENS, A., DELACOUR, H., PLÉSIAT, P., CAVALLO, J.-D. & JEANNOT, K. 2011. *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2011, 49-62.
- MSADDAK, L. 2018. *Propriétés techno-fonctionnelles et substances bioactives de deux ingrédients alimentaires : cladodes du figuier de barbarie et feuilles de vigne*. Doctorat, Ecole Doctorale, Sciences, Ingénierie et Société.
- OPATOWSKI, M. 2020. *Résistance bactérienne aux antibiotiques, apport du système national des données de santé*. Doctorat, Université de Versailles -Saint-Quentin-en-Yvelines.
- REDA, T. A., MUSSIE, E. H., EJIGU, M. C., AYELE, A. K. & TEAME, H. B. 2020. Analysis of Chemical Composition of Cactus Pear (*Opuntia ficus-indica* L.) Cladode Extract as Natural Preparation for Fungal Culture Media. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2, 1-15.
- ROCCHETTI, G., PELLIZZONI, M., MONTESANO, D. & LUCINI, L. 2018. Italian *Opuntia ficus-indica* Cladodes as Rich Source of Bioactive Compounds with Health-Promoting Properties. *Foods*, 7.
- RYBTKE, M., HULTQVIST, L. D., GIVSKOV, M. & TOLKER-NIELSEN, T. 2015. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Infections: Community Structure, Antimicrobial Tolerance and Immune Response. *J Mol Biol*, 427, 3628-45.
- SANTOS-BUELGA, C., GONZALEZ-MANZANO, S., DUENAS, M. & GONZALEZ-PARAMAS, A. M. 2012. Extraction and isolation of phenolic compounds. *Methods Mol Biol*, 864, 427-64.
- SEMIRIA, AMMAM, A., KADDA, H. & REDA, B. 2022. Polyphenol Content, Antioxidant and Antibacterial Activity of The Aqueous Extract of *Opuntia ficus-indica* Cladodes. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. C, Physiology and Molecular Biology*, 14, 465-474.
- SHOUKAT, R., CAPPAL, M., PIA, G. & PILIA, L. 2023. An Updated Review: *Opuntia ficus indica* (OFI) Chemistry and Its Diverse Applications. *Applied Sciences*, 13, 7724.
- SILVA, M. A., ALBUQUERQUE, T. G., PEREIRA, P., RAMALHO, R., VICENTE, F., OLIVEIRA, M. & COSTA, H. S. 2021. *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.: A Multi-Benefit Potential to Be Exploited. *Molecules*, 26.
- SORNCHUER, P., SANINJUK, K., AMONYINGCHAROEN, S., RUANGTONG, J., THONGSEPEE, N., MARTVISET, P., CHANTREE, P. & SANGPAIROJ, K. 2024. Whole Genome Sequencing Reveals Antimicrobial Resistance and Virulence Genes of Both Pathogenic and Non-Pathogenic *B. cereus* Group Isolates from Foodstuffs in Thailand. *Antibiotics (Basel)*, 13.
- SOUAD, N. 2013. *Etude de l'effet de l'âge des plantations de figuier de Barbarie (Opuntia ficus indica (L. Miller) sur la variation des ressources naturelles (sol et végétation) des steppes algériennes de l'Est. Cas de Souk-ahras et Tébessa*. Doctorat, BADJI MOKHTAR ANNABA
- A. 2020. *La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires état des lieux en 2019*. DOCTEUR EN PHARMACIE, Université de Bordeaux, France.
- VURAL, N., ALGAN CAVULDAK, Ö. & ANLI, R. E. 2018. Multi response optimisation of polyphenol extraction conditions from grape seeds by using ultrasound assisted extraction (UAE). *Separation Science and Technology*, 53, 1540-1551.
- WILLIAMS, N. & WEIR, T. L. 2024. Spore-Based Probiotic *Bacillus subtilis*: Current Applications in Humans and Future Perspectives. *Fermentation*, 10, 78.

ZEGHBIB, W. 2023. *Etude des propriétés physico-chimiques et biologiques de fruits de deux espèces cultivée et sauvage d'Opuntia de la région de Béjaia*. Doctorat, Université A.MIRA-BEJAIA.

ARUWA, C. E., AMOO, S. O. & KUDANGA, T. 2019. Extractable and macromolecular antioxidants of *Opuntia ficus-indica* cladodes: Phytochemical profiling, antioxidant and antibacterial activities. *South African Journal of Botany*, 125, 402-410.

ASTELLO-GARCÍA, M. G., CERVANTES, I., NAIR, V., SANTOS-DÍAZ, M. D. S., REYES-AGÜERO, A., GUÉRAUD, F., NEGRE-SALVAYRE, A., ROSSIGNOL, M., CISNEROS-ZEVALLOS, L. & BARBA DE LA ROSA, A. P. 2015. Chemical composition and phenolic compounds profile of cladodes from *Opuntia* spp. cultivars with different domestication gradient. *Journal of Food Composition and Analysis*, 43, 119-130.

CLÉMENT, O. E. L. 2014. *Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines*. Doctorat, Ouagadougou.

DJERIDANE, A., YOUSFI, M., NADJEMI, B., BOUTASSOUNA, D., STOCKER, P. & VIDAL, N. 2006. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*, 97, 654-660.

EL-MOSTAFA, K., EL KHARRASSI, Y., BADREDDINE, A., ANDREOLETTI, P., VAMECQ, J., ELKEBBAJ, M. S., LATRUFFE, N., LIZARD, G., NASSER, B. & CHERKAOUI-MALKI, M. 2014. Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Molecules*, 19, 14879-901.

FETTAH, DJOUAMAA & LAMARA 2018. Évaluation in-vitro de l'activité antibactérienne des extraits naturels d'une sous-espèce de *Teucrium polium* L. cultivée dans la région de BeniSouik, Biskra.

GNANAKALAI, K. & GOPAL, R. 2016. In Vitro Antibacterial Activities Of *Opuntia Ficus Indica* Stem And Fruit Extracts Using Disc Diffusion Method *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 8.

KLANČNIK, A., PISKERNIK, S., JERŠEK, B. & MOŽINA, S. S. 2011. Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of Microbiological Methods*, 81, 121-126.

MARWA, H. F., EL-MASRY, R. A. A., A.M.GOMAA & AWAD, A. E. 2020. EVALUATION OF ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF *Opuntia ficus-indica*, SEEDS AND PEELS EXTRACTS. 47, 587-596.

PERUCINI-AVENDANO, M., NICOLAS-GARCIA, M., JIMENEZ-MARTINEZ, C., PEREA-FLORES, M. J., GOMEZ-PATINO, M. B., ARRIETA-BAEZ, D. & DAVILA-ORTIZ, G. 2021. Cladodes: Chemical and structural properties, biological activity, and polyphenols profile. *Food Sci Nutr*, 9, 4007-4017.

REDA, T. A., MUSSIE, E. H., EJIGU, M. C., AYELE, A. K. & TEAME, H. B. 2020. Analysis of Chemical Composition of Cactus Pear (*Opuntia ficus-indica* L.) Cladode Extract as Natural Preparation for Fungal Culture Media. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2, 1-15.

SEMIRIA, AMMAM, A., KADDA, H. & REDA, B. 2022. Polyphenol Content, Antioxidant and Antibacterial Activity of The Aqueous Extract of *Opuntia ficus-indica* Cladodes. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. C, Physiology and Molecular Biology*, 14, 465-474.

CLÉMENT, O. E. L. 2014. *Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines*. Doctorat, Ouagadougou.

GEORGEÄ, S., BRAT, P., ALTER, P. & AMIOT, M. J. 2005. Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived Products. *J. Agric. Food Chem*, 53, 1370-1373

LOUKILI, E. L. H., BOUCHAL, B., BOUHRIM, M., ABRIGACH, F., GENVA, M., ZIDI, K., BNOUHAM, M., BELLAOUI, M., HAMMOUTI, B., ADDI, M., RAMDANI, M., FAUCONNIER, M.-L. & TAYEL, A. A. 2022. Chemical Composition, Antibacterial, Antifungal and Antidiabetic Activities of Ethanollic Extracts of *Opuntia dillenii* Fruits Collected from Morocco. *Journal of Food Quality*, 2022, 1-15.

- RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M. & RICE-EVANS, C. 1999. Antioxidant Activity Applying An Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231-1237.
- VALENTE, L. M. M., DA PAIXÃO, D., DO NASCIMENTO, A. C., DOS SANTOS, P. F. P., SCHEINVAR, L. A., MOURA, M. R. L., TINOCO, L. W., GOMES, L. N. F. & DA SILVA, J. F. M. 2010. Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae). *Food Chem*, 123, 1127-1131.
- WELEGERIMA, G., ZEMENE, A. & TILAHUN, Y. 2018. Phytochemical composition and antibacterial activity of *Opuntia Ficus Indica* cladodes extracts. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 243-246.
- AWAD, A. M., KUMAR, P., ISMAIL-FITRY, M. R., JUSOH, S., AB AZIZ, M. F. & SAZILI, A. Q. 2021. Green Extraction of Bioactive Compounds from Plant Biomass and Their Application in Meat as Natural Antioxidant. *Antioxidants* (Basel), 10.
- KHODDAMI, A., WILKES, M. A. & ROBERTS, T. H. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18, 2328-75.
- MSADDAK, L. 2018. *Propriétés techno-fonctionnelles et substances bioactives de deux ingrédients alimentaires : cladodes du figuier de barbarie et feuilles de vigne. Doctorat, Ecole Doctorale Sciences, Ingénierie et Société.*
- REDA, T. A., MUSSIE, E. H., EJIGU, M. C., AYELE, A. K. & TEAME, H. B. 2020. *Analysis of Chemical Composition of Cactus Pear (Opuntia ficus-indica L.) Cladode Extract as Natural Preparation for Fungal Culture Media.* *Journal of Medicinal Chemistry*, 2, 1-15.

## Webographie :

▸ Anonyme 1 :

1. <https://www.terroirdumaroc.gov.ma/marketplace/seller/location/shop/Flora?loc=Bejaad,%20Khouribga,%20Maroc>
2. <https://olico.it/fr/124-confiture-extra-de-figues-de-barbarie-250-gr.html>
3. <https://app.samsungfood.com/recipes/101f116ea2ecb2ccd5b66b906ea1af81d251b367142>
4. [https://xprsnutra.com/products/organic-nopal-cactus-powder?\\_pos=1&\\_psq=organic+nopal&\\_ss=e&\\_v=1.05](https://xprsnutra.com/products/organic-nopal-cactus-powder?_pos=1&_psq=organic+nopal&_ss=e&_v=1.05)
5. <https://www.weleda.fr/produit/creme-hydratante-24h-g006446>
6. <https://boyaskincare.en.made-in-china.com/product/hFjTKEplgLfz/China-Pure-Herbal-Anti-Wrinkles-Brightening-Prickly-Pear-Seed-Face-Oil-for-Dry-Skin.html>

# **Annexes**

▪ **Annexe 01 : Appareillage utilisés**

- Bain à Ultrasons (BRASONIC-UI Trasonic cleaner, Mexique).
- Bain marie (Memmert).
- Balance analytique (RADWG, Algérie).
- Centrifugeuse (Benchtop low speed).
- Etuve (MMM Medcenter Ecocell)
- Autoclave
- Plaque agitatrice (VELP Scientifica, France).
- Réfrigérateur ( IRIS)
- Spectrophotomètre UV-Visible de marque : Shimadzu Corporation
- Vortex (VELP Scientifica, France)
- Hotte (Poste de sécurité microbiologique (PSM) classe II )
- Evaporateur rotatif
- Lecteur microplaque
- Mixeur PHILIPS (400w HR2108)
- Tamiseur vibrant (Retsch As200)

▪ **Annexe 02 : Logiciels utilisés**

- Endnote (logiciel de gestion des références bibliographiques)

- JMP

▪ **Annexe 03 : Produits et réactifs chimiques**

-

- DMSO (Diméthylsulfoxyde)                      - Acétone

-

- Acide gallique  $C_7H_6O_5$                               - Alcool

- Ether de pétrole                                      - Méthanol

- Carbonate de sodium  $Na_2CO_3$                       - Trolox

- Chlorure d'aluminium  $AlCl_3$                       - Folin-Ciocalteu

- Chlorure de Sodium  $NaCl$                               - Quercitaine

- Eau distillée    - Eau Javel

- ABTS : l'acide 2,2'-azino -bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

▪ **Annexe 04 : Matériels utilisés**

<b>Verrerie</b>		<b>Autres</b>	
Béchers		Couteau	Micropipette
Tubes à essais		Règle	Embouts bleus
Flacons		Planche en plastique	Embouts jaunes
Erlenmeyers		Spatule	Eppendorf
Eprouvette (1L , 50ml , 10ml)		Pince	Papier Whatman
Cristallisoir		Gants	Bec Bunsen
Boites Pétri		Masque	Cuves
Bocal		Anse de platine	Micropipette

▪ **Annexe 05 : Composition des milieux de cultures et solutions utilisées**

➤ **Milieu Mueller Hinton Agar (MH) :**

- Infusion de viande bovine (2g)
- Hydrolysate acide de caséine (17,0g)
- Amidon soluble (1,5g)
- Agar (17g)
- pH = 7,4 ± 0,2 à 25°C

➤ **Mueller Hinton Bouillon** (même composition que le Mueller Hinton mais sans Agar).

➤ **Bouillon nutritif (Loukili et al.) :**

- Peptone de Gélatine (5,0 g)
- Extrait de betterave (3,0g)
- pH = 6,8±0.2 à 25°C

➤ **Gélose Nutritive (GN)**

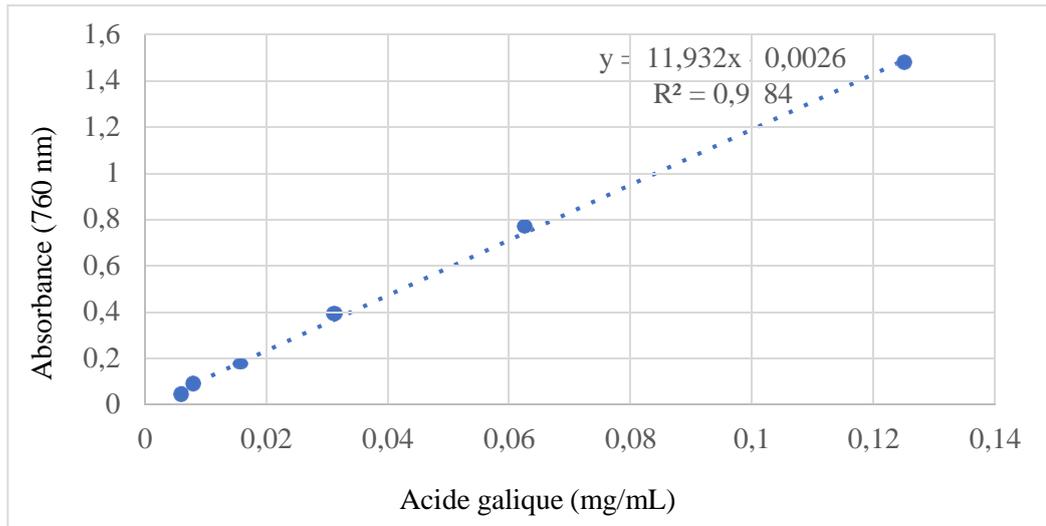
- Extrait de viande (1,0g)
- Extrait de viande (2,5g)
- Peptone (5,0g)
- Chlorure de sodium (5,0g)
- Agar (15,0g)
- pH = 7,0

➤ **Eau physiologique stérile :**

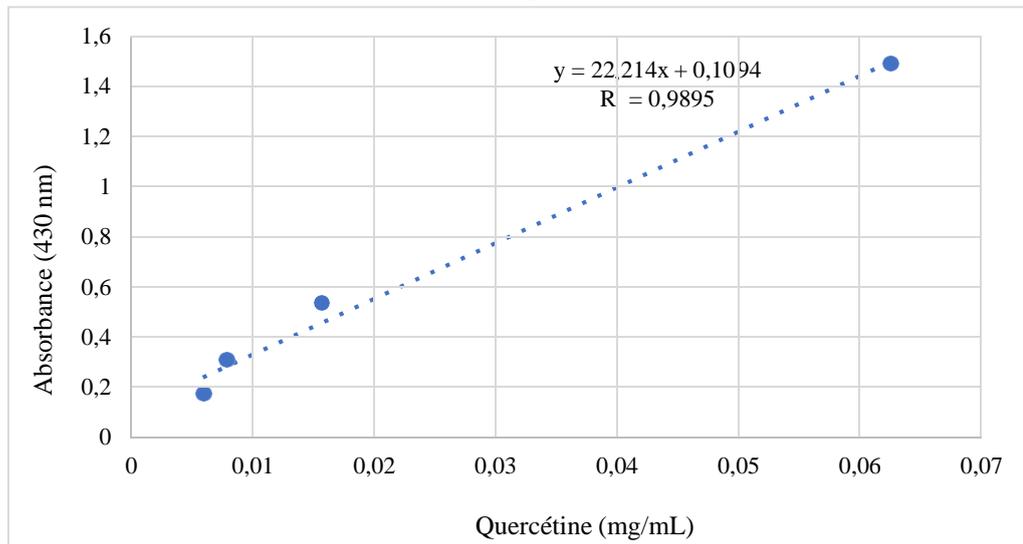
Chlorure de sodium (NaCl) (9g) et l'eau distillée (100ml).

▪ **Annexe 06 : Courbes d'étalonnages**

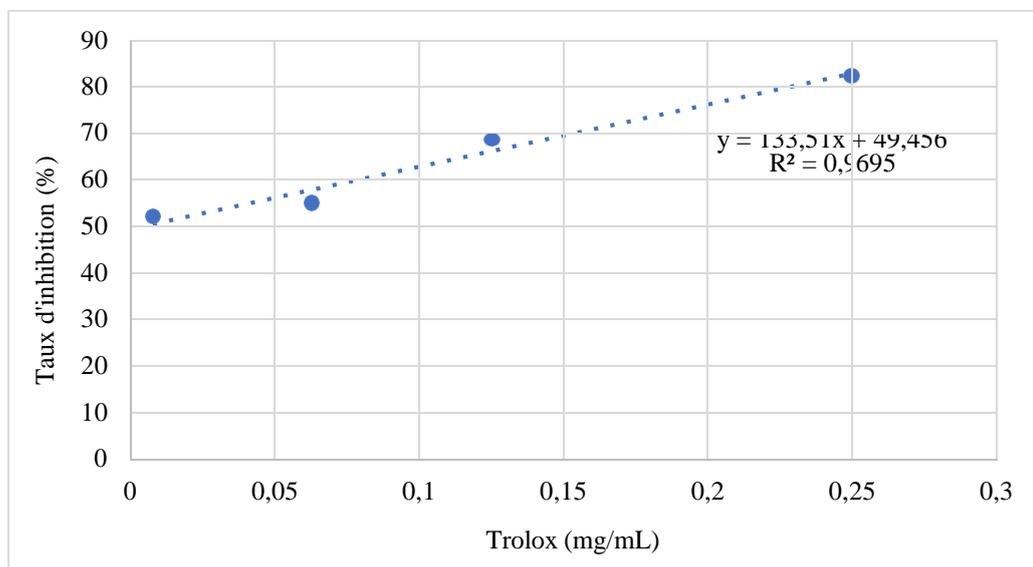
**6.a. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique**



**6.b. Courbe d'étalonnage de Quercétine**



**6.c. Courbe d'étalonnage de Trolox**



▪ **Annexe 07 : Antibiogramme des souches utilisées**

Ces seuils de sensibilité sont basés sur les recommandations du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) et European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).

Souches bactériennes	Gram	Antibiogramme	
		Diamètre de la zone (mm)	Résistance
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6314 )	+	AUG 30 : 31 AMC 30 : 22 VA 30 : 20 TE 30 : 27 FA 10 : 40 CD 2 : 29 K30 : 29	Sensible
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	+	AMC 30 = 18 AML 10 = 45 DO 30 = 33 S 10 = 13	Sensible/intermédiaire Sensible Sensible Résistante
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 10876)	+	AUG 30 = 35 AMC 30 = 25 VA 30 = 20 TE 30 = 22 DA 2 = 23 CD 2 = 29	Sensible Sensible Résistante Sensible Sensible Sensible
<i>Bacillus subtilis</i> ( ATCC 6633)	+	AUG 30 = 31 AMC 30 = 27 VA 30 = 28 TE 30 = 21 DA 2 = 21 CD 2 = 22	Sensible Sensible Sensible Sensible Sensible Sensible
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 29522)	-	AMC 30 = 20 TE 30 =15 CRO 30 = 10 K 30 = 25 S 10 = 20	Sensible Résistante Résistante Sensible Sensible
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	-	AMC 30 = 20	Résistante
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	AUG 30 =25 K 30 = 20 DO 30 =21 S 10 = 18	Sensible Sensible Sensible Sensible
<i>Salmonella typhi</i> (ATCC 14028 )	-	AUG 30 =30 AMC 30 = 21 AML 10 = 23 DO 30 = 15 S 10 = 17	Sensible Sensible Sensible Intermédiaire Sensible

Acinetobacter baumannii (ATCC 610)	-	AUG 30 = 23 AMC 30 = 20 TE 30 = 15 CRO 30 = 19	Résistante Résistante Sensible Intermédiaire
---------------------------------------	---	---	---

➤ **Abréviations des antibiotiques standards utilisés :**

**AUG 30 :** Amoxicilline + acide clavulanique

**AMC 30 :** Amoclave (amoxicilline + acide clavulanique )

**VA 30 :** Vancomycine

**TE 30 :** Tétracycline

**FA 10 :** Acide fusidique

**CRO 30 :** Ceftriaxone

**DA2 / CD2 :** Clindamycin

**K 30 :** Kanamycin

**AML 10 :** Amoxicilline

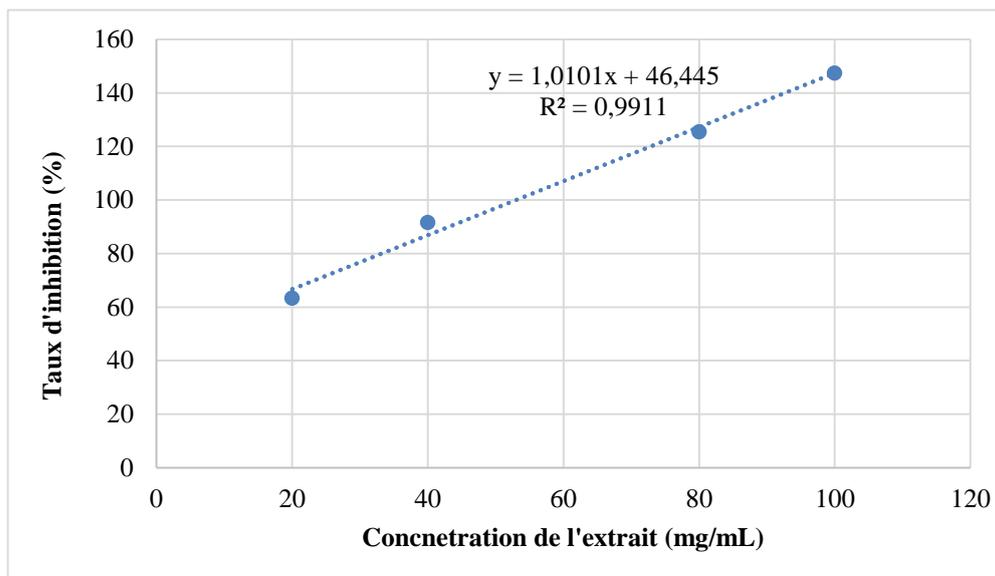
**FOX 30 :** Céfoxitine

**DO 30 :** Doxycycline

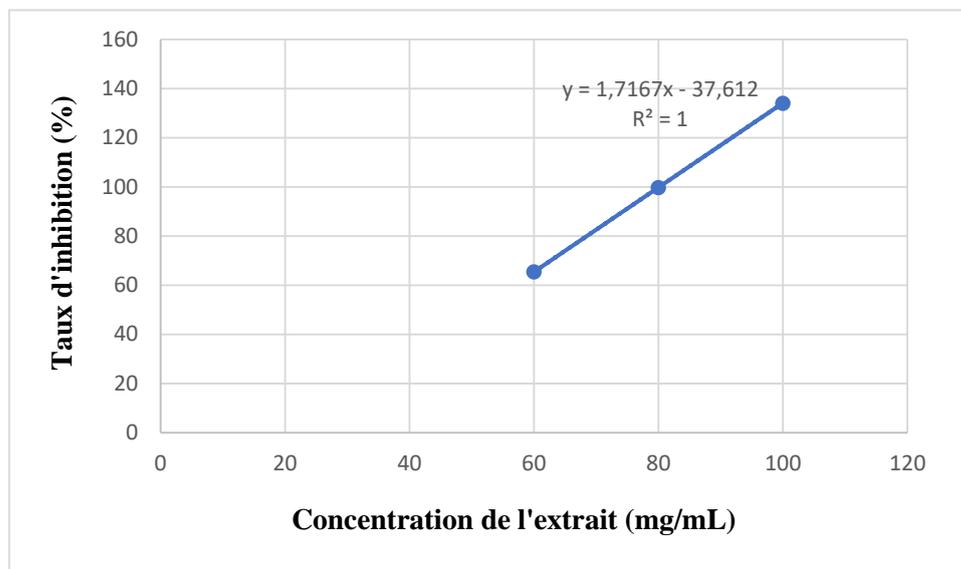
**S 10 :** Streptomycine

**P 10 :** Pénicilline G

- **Annexe 08 :** IC50 pour *E. faecalis* en microplaque avec extrait éther de pétrole (EC-polaire)



▪ **Annexe 09** : IC50 pour *E. faecalis* en microplaque avec extrait méthanolique



▪ **Annexe 10** : Les bactéries testées et les milieux sélectifs correspondants

1. <i>Escherichia coli</i> ATCC 29522	Milieu EMB (Eosin Methylene Blue) ou Mac Conkey
2. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6314	Milieu Agar Mannitol Salt (MSADDAK) (Chapman)
3. <i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 610	CHROM-Agar Acinetobacter
4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Agar Cétrimide/ King's A and King's B Media
5. <i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	TSA (Tryptic Soy Agar) avec antibiotique
6. <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Mannitol Egg Yolk Polymyxin (MYP) Agar
7. <i>Salmonella typhi</i> ATCC 14028	XLD Agar (Xylose Lysine Deoxycholate)/Hektoen Enteric Agar (HE Agar)
8. <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Gélose Slanetz and Bartley
9. <i>Klebsiella pneumoniae</i> (souche de diagnostique)	MacConkey Agar/Eosin Methylene Blue (EMB) Agar/Hektoen Enteric (HE) Agar/Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) Agar.

ATCC = American Type Culture Collection

## Résumé

L'*Opuntia ficus indica* (OFI), également connu sous le nom de "figuier de Barbarie", est un cactus emblématique des régions arides et semi-arides du Mexique. Sa richesse en molécules bioactives en fait une ressource précieuse pour diverses applications. Cette étude vise à évaluer l'efficacité antibactérienne d'extraits obtenus à partir de cladodes d'*Opuntia ficus indica*, par extraction assistée par ultrasons et par extraction conventionnelle à l'aide de deux solvants différents : le méthanol et l'éther de pétrole. Un panel de neuf souches bactériennes, incluant des Gram positifs et des Gram négatifs, a été testé pour explorer les variations d'activité antimicrobienne en fonction des solvants utilisés et des types de bactéries. L'évaluation de l'effet antimicrobien *in vitro* a été réalisée à l'aide de trois méthodes de diffusion sur gélose : diffusion par disques, par puits et par spots. La technique de micro-dilution a également été utilisée. Les deux extraits ont montré un effet bactériostatique relativement variable sur toutes les souches testées, ainsi qu'un effet bactéricide par microdilution sur trois souches : *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. L'extrait d'éther de pétrole a démontré une activité antimicrobienne plus prononcée que l'extrait méthanolique, étant actif avec de plus faibles concentrations bactéricides (20, 60 et 80 mg/mL) que l'extrait méthanolique (200 mg/mL) et ayant la plus importante activité antioxydante. Les résultats obtenus confirment le potentiel inhibiteur des extraits testés, qui pourrait être principalement attribué à l'abondance des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes totaux quantifiés, permettant leurs utilisations futures à des fins thérapeutiques.

**Mots-clés :** *Opuntia ficus indica*, cladodes, extrait méthanolique, extrait d'éther de pétrole, activité antibactérienne.

## Abstract

*Opuntia ficus indica* (OFI), also known as "prickly pear", is an emblematic cactus of the arid and semi-arid regions of Mexico. Its richness in bioactive molecules makes it a valuable resource for various applications. This study aims to evaluate the antibacterial effectiveness of young cladodes extracts of *Opuntia ficus indica*, by ultrasound-assisted extraction and by conventional extraction (CE) using two different solvents: methanol and petroleum ether. A panel of nine bacterial strains, including Gram-positive and Gram-negative strains, was tested to explore variations in antimicrobial activity depending on the used solvents and the types of bacteria. The *in vitro* evaluation of the antimicrobial effect was carried out using three agar diffusion methods: disk diffusion, well diffusion and spot diffusion. The micro-dilution technique was also used. Both extracts showed a relative variable bacteriostatic effect on all the strains tested, as well as a bactericidal effect by microdilution method on three strains: *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. The petroleum ether extract demonstrated more pronounced antimicrobial activity than the methanolic extract, being active with lower bactericidal concentrations (20, 60 and 80 mg/mL) than the methanolic extract (200 mg/mL) and exhibiting the most important antioxidant activity. The obtained results confirm the inhibitory potential of the tested extracts, that could mainly be attributed to the abundance of quantified total phenolic compounds and total flavonoids, and which could be used for future therapeutic purpose.

**Key words:** *Opuntia ficus indica*, cladodes, methanolic extract, petroleum ether extract, antibacterial activity.