

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 Biologie physico-chimique
Spécialité Biochimie Appliquée



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Activité antimicrobienne des extraits de deux
plantes médicinales *Crataegus laciniata* et *Pistacia
lentiscus***

Présenté par : **Derfoune Soumaya**

Soutenu le : 26 Juin 2023

Devant le jury composé de :

Mme. BENLOUKIL.M	MAA	Président
Mme. CHAHER-BAZIZI.N	MCA	Encadreur
Mme. BOUREBABA.Y	MCB	Examineur
Melle Saiden.N	Doctorante	Invitée
Melle Kadi.R		

Année universitaire :2022/2023

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 Biologie physico-chimique
Spécialité Biochimie Appliquée



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Activité antimicrobienne des extraits de deux
plantes médicinales *Crataegus laciniata* et *Pistacia
lentiscus***

Présenté par : **Derfoune Soumaya**

Soutenu le : 26 Juin 2023

Devant le jury composé de :

Mme. BENLOUKIL.M	MAA	Président
Mme. CHAHER-BAZIZI.N	MCA	Encadreur
Mme. BOUREBABA.Y	MCB	Examineur
Melle Saiden.N	Doctorante	Invitée
Melle Kadi.R		

Année universitaire :2022/2023

Remerciements

Avant tout, on tient à remercier Dieu le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.

Je tiens particulièrement à remercier Madame Chaher-bazizi, Nassima, pour m'avoir fait l'honneur d'être ma promotrice.

Je tiens particulièrement à remercier Madame Kasmi Souad de m'avoir fait confiance, m'avoir encouragée et conseillée tout en nous laissant une grande liberté. Pour son soutien et sa grande générosité.

Je tiens à remercier les membres de jury d'avoir accepter d'examiner mon travail.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance et ma sincère gratitude à tous les enseignants qui m'ont accompagnés durant ce cursus universitaire.

Merci à tous nos collègues du laboratoire, pour nous avoir encouragés et aidés et pour les bons moments passés ensembles.

Merci à toute personne ayant contribué à l'élaboration de ce travail.

Dédicace

Je le plaisir de dédier ce modeste travail à :

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE : Grimet Rebiha

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes cotés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A MON TRÈS CHER PÈRE : Derfoune Mohammed

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquents soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal

Mon cher frère "Saïd" et sœurs "Chaima et Salma", mes compagnons de route.

Mes deux neveux Ishak et Cerine

A mes amies Souad et Thanina, Je ne peux trouver les mots justes et sin pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter. 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.

Soumaya

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Listes des figures

Introduction	1
I.Généralités	2
I.1 Infection microbienne	3
I.2 Les agents microorganismes responsables des infections	4
I.3 Les antibiotiques et phénomène de résistance	10
I.3.1 Les antibiotiques	11
I.3.1.2 Classification des antibiotiques	4
I.3.1.3 Mode d'action des antibiotiques.....	4
I.3.2 Résistance aux antibiotiques	5
I.3.2.1 Définition.....	5
I.3.2.2 Mécanismes de la résistance.....	6
II.Généralités sur les plantes	8
II.1 <i>Crataegus laciniata</i>	8
II.1.1 Description botanique	8
II.1.2 Etymologie	8
II.1.3 Classification systématique de la plante <i>Crataegus laciniata</i>	9
II.1.4 Localisation géographique	9
II.1.5 Composition chimique de <i>Crataegus</i>	9
II.1.6 Propriétés thérapeutiques traditionnelles et pharmacologiques de <i>Crataegus</i> ...	10
II.2 <i>Pistacia lentiscus</i>	10
II.2.1 Description botanique de <i>P.lentiscus</i>	10
II.2.2 Etymologie et appellations de <i>P.lentiscus</i>	11
II.2.3 Classification systématique de la plante <i>P.lentiscus</i>	12
II.2.4 Répartition géographique	12
II.2.5 Composition chimique de <i>pistacia lentiscus</i>	13
II.2.6 Propriétés thérapeutiques traditionnelles et pharmacologiques de <i>P.lentiscus</i> ..	13
III.Les polyphénols	15
III.1 Définition des composés phénoliques.....	15
III.2 Biosynthèse.....	15
III.3 Classification des composés phénolique	15
III.6 Propriétés biologique des polyphénols	18

III.6.1	Activité antimicrobienne des polyphénols	19
III.6.2	Mécanisme d'action	19
I. Matériel	21
I.1	Matériel végétal.....	21
I.2	Produits chimiques et réactifs :	23
I.3	Micro-organismes testés	21
I.4	Méthodes.....	22
I.4.1	Préparation de matériel végétale	22
I.4.2	Extraction des composés phénoliques.....	22
I.4.3	Rendement d'extraction	24
I.4.4	Dosage des composés phénoliques	24
I.5	Evaluation de l'activité antimicrobienne	26
I.5.1	Revivification des souches	26
I.5.2	Préparation des charges microbiennes (inoculum).....	26
I.6	Tests antimicrobiens.....	27
I.6.1	Détermination de l'effet antimicrobien sur milieu solide	27
I.6.2	Détermination des CMI par la technique de micro-dilution en milieu liquide ..	28
I.7	Analyse statistique.....	29
II. Résultats et discussions		
II.1	Rendement d'extraction	30
II.2	Dosage des composés phénoliques.....	30
II.2.1	Dosage des phénols totaux	30
II.2.2	Dosage des Flavonoïdes	32
II.3	Etude de l'activité antimicrobienne des différents extraits étudiés.....	33
II.3.1	Pouvoir antibactérien.....	33
II.3.1.1	Détermination de l'effet antibactérien sur milieu solide	33
II.3.1.3	Détermination des CMI et CMI50 par la technique de micro-dilution en milieu liquide.....	38
II.3.2	Pouvoir antifongique	40
II.3.2.1	Résultats de test de sensibilité sur milieu solide.....	40
II.3.2.2	Détermination des CMI et CMI50 par la technique de micro-dilution en milieu liquide.....	41
Références bibliographiques		

Liste des abréviations

µm :micromètre

nm: nanometer

PPT: polyphenols totaux

FCR :réactif de Folin Ciocalteu

mg EAG/ g MS : milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extraitsèche

mg EQ/g ES: milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait sèche

DO :densité optique

DMSO :Diméthyle sulfoxyde (DMSO)

Ø :diamètre

TE :tétracycline

CMI : concentration minimale inhibitrice

IC₅₀ :concentration inhibitrice à 50%

Abs :absorbance

EEL :extrait ethalonique de feuilles de *Crataegus laciniata*

EEF:extrait éthalonique de fruits de *Crataegus laciniata*

EMP: extrait méthalonique de fruits de

Nd : non déterminé

UFC/ml : unité formant colonie par millilitre

Liste des figures

Numéro de la figure	Titre de la figure	Page
Figure 1	mécanismes d'action des antibiotiques sur la cellule bactérienne	5
Figure 2	les différents mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques	7
Figure 3	<i>Crataegus laciniata</i> ; (A) les fleurs ; (B) les feuilles ; (C) les fruits	8
Figure 4	Photos représentant la plante <i>pistacia lentiscus</i> (A) fleur ;(B) feuille ;(C) fruit ;(D) inflorescences	11
Figure 5	Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols	15
Figure 6	: Squelette de base des flavonoïdes ; En bleu ciel, pont 3 carbones ; en bleu médian, partie provenant de la voie de l'acide shikimique ; en bleu foncé, partie provenant de la voie de l'acétate	17
Figure 7	structures de base des principaux flavonoïdes	17
Figure 8	Exemple des tanins : (A) condensés (Proanthocyanidines type B) ,(B) : hydrolysables (penta-O-galloylglucose)	18
Figure 9	mécanisme d'action des polyphénols sur les bactéries	20
Figure 10	Matériels végétale <i>C.laciniata</i> (A) les fruits ; (B) les feuilles (original)	22
Figure11	Le matériel végétal après traitement : (A) : La poudre des fruits ;(B) la poudre des feuilles de <i>C.laciniata</i> , (c)lapâte des fruits de <i>P. lentiscus</i> (photographie original)	23
Figure 12	les différentes étapes d'extraction des composées phénoliques de fruits de <i>P. lentiscus</i> (Original).	25
Figure 13	protocole de dosage des PPT dans les extraits de <i>P.lentiscus</i> et <i>C. laciniata</i>	25

Figure 14	protocole de dosage des flavonoïdes	26
Figure 15	étapes suivies pour la préparation des précultures jeunes	26
Figure 16	étapes de préparation des suspensions microbiennes (Original)	28
Figure 17	étapes de la réalisation de la méthode de diffusion sur disque (Original)	28
Figure 18	Teneur en PPT et FLV dans les extraits testés.	33
Figure 19	Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition obtenus avec EEL et l'antibiotique de référence	35
Figure 20	Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition obtenus par l'EEF et l'antibiotique de référence	36
Figure 21	Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition obtenus avec l'EMP et l'antibiotique de référence	37
Figure 22	Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition obtenus avec les extraits testées et l'antibiotique de référence.	38
Figure 23	Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition exercées par les extraits testées	41

Liste des tableaux

Numéro du tableau	Titre du tableau	Page
Tableau I	Différents noms vernaculaires de <i>C.laciniata</i>	9
Tableau II	Différents appellations de la plante <i>P.lentiscus</i>	12
Tableau III	Classification Systématique de la plante <i>P.lentiscus</i>	12
Tableau V	Principaux acides hydroxy benzoïques	16
Tableau VI	Principaux acides hydroxy cinnamiques	16
Tableau VII	Aspect, couleur et rendement en extraits obtenues à partir des fruits de <i>P. lentiscus</i> et des feuilles et fruits de <i>C. laciniata</i>	30
Tableau VIII	Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits hydroalcoliques des feuilles et fruits de <i>C. laciniata</i> et des fruits de <i>P. lentiscus</i>	31
Tableau IX	Teneurs en flavonoïdes dans les extraits hydroalcoliques des feuilles et fruits de <i>C. laciniata</i> et des fruits de <i>P. lentiscus</i>	32
Tableau X	Diamètres des zones d'inhibitions en (mm) et degré de sensibilité des souches bactériennes aux différents extraits et antibiotiques de références	34
Tableau XI	Concentrations inhibitrices à 50% des extraits EEF, EEL et EMP pour les souches bactériennes testées par la méthode de microdilution en milieu liquide.	39
Tableau XII	Activité antifongique (exprimée en zone d'inhibition) des différents extraits contre des souches fongiques référenciées	40
Tableau XIII	Concentrations minimales inhibitrices à 50% des extraits EEF, EEL et EMP pour les souches fongiques testées par la méthode de micro-dilution en milieu liquide	42

*Introduction
générale*

Avec l'émergence d'effets secondaires des médicaments synthétiques, insuffisamment et mal contrôlé ainsi le développement de la résistance aux antibiotiques due à la surconsommation d'antibiotiques, le risque d'effets microbiens sur la santé humaine augmente (Yakhlef et *al.*, 2011). Cette question ouvre plusieurs portes de recherche dans ce domaine ainsi que dans d'autres approches alternatives, notamment la phytothérapie. En effet, plusieurs études ont montré que les plantes peuvent résister à l'attaque des parasites en utilisant plusieurs mécanismes de défense dont la synthèse de composés à activité antimicrobienne naturellement toxiques pour les bactéries et les champignons (Papuc et *al.*, 2017).

Les plantes aromatiques et médicinales sont une source inépuisable de médicaments traditionnellement puissants, leurs propriétés thérapeutiques sont attribuables à la présence de nombreux composés naturels bioactifs, connus sous le nom de métabolites secondaires notamment les polyphénols avec de larges activités biologiques, antioxydantes, antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires et chimio préventives du cancer. Malgré les avancées de la pharmacologie, l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales reste très répandue dans certains pays, en particulier dans les pays en développement où les systèmes médicaux modernes sont souvent absents (Fertout-Mouri et *al.*, 2016 ; Papuc et *al.*, 2017).

L'Algérie par sa situation géographique abrite une importante richesse en plantes aromatiques et médicinales qui sont utilisées dans les remèdes traditionnels depuis l'antiquité (Baba Aissa, 1999). A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore Algérienne en général, on s'est intéressé à deux espèces : *Pistacia lentiscus*, connu sous le nom de tideukth, darou, communément appelé le lentisque appartenant à la famille des Anacardiaceae et *Crataegus laciniata* connu sous le nom de zaarour, communément appelé l'Aubépine qui sont l'une des familles les plus utilisées comme source d'extraits à fort pouvoir antimicrobien à l'échelle mondiale.

L'objectif de notre travail vise à montrer la richesse de ces deux plantes en polyphénols et à déterminer leur activité antimicrobienne.

Notre mémoire est structuré comme suit :

- La première partie est divisée comme suit :
 - les principales informations sur les notions de l'Activité antimicrobienne et une synthèse bibliographique sur les composés phénoliques
 - une présentation botanique et phytochimique des plantes, de *Pistacia lentiscus* et *Crataegus laciniata*.

- La deuxième partie du document présentera la démarche expérimentale qui regroupe deux parties à son tour :
 - Le matériel et les méthodes utilisés dans notre travail
 - La présentation et la discussion des résultats obtenus qui sont suivis par une conclusion générale.

*Revue
bibliographique*

I. Généralités

I.1 Infection microbienne

Les maladies ou des affections provoquées et engendrées par des agents pathogènes tels que les bactéries, champignons ou virus qui introduisent dans l'organisme tout en le détruisant par des multiplications et perturbations des fonctions importantes du corps. Elles peuvent se transmettre de l'homme à l'homme ou de l'animal à l'homme (Jawerth, 2020).

I.2. Les agents microorganismes responsables des infections

I.2.1. Les bactéries

Une bactérie est un microorganisme unicellulaire et procaryote, appartenant au règne des procaryotes. Elles possèdent une structure cellulaire relativement simple, dépourvue de noyau et d'organites membranaires internes. Leur matériel génétique, constitué d'ADN, est généralement regroupé dans une région appelée le nucléoïde. Les bactéries se reproduisent généralement par division cellulaire, un processus appelé la scissiparité, qui leur permet de se multiplier rapidement (Werth, 2022).

I.2.2. Les champignons

Les champignons, appelés mycètes, sont des organismes eucaryotes unicellulaires ou pluricellulaires avec une paroi cellulaire en chitine. Ils peuvent être macroscopiques ou microscopiques, avec une apparence filamenteuse ou levuriforme. Ils sont présents partout dans la nature et jouent un rôle essentiel dans le recyclage de la matière organique en tant qu'hétérotrophes. Ils se distinguent par leur paroi composée de polysaccharides, tels que le bêta-glucane et la chitine, ainsi que par la présence d'ergostérol dans leur membrane. Ils se reproduisent en produisant de nombreuses spores, ce qui leur permet de se disperser et de contaminer leur environnement. Cette capacité de reproduction sexuée et asexuée est à la base de leur classification (Chabasse et al., 2002).

I.3. Antibiotiques et phénomène de résistance

I.3.1. Antibiotiques

Un antibiotique est une substance biologique antibactérienne produite par des microorganismes tels que les champignons et les bactéries microscopiques, ou bien obtenue par synthèse chimique. Les antibiotiques ont la capacité d'inhiber la prolifération ou de détruire d'autres micro-organismes (Yala et al., 2001).

I.3.1.2. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques sont classés en deux catégories principales en fonction de leur mécanisme d'action : bactéricides et bactériostatiques. Les antibiotiques bactéricides tuent les bactéries, tandis que les antibiotiques bactériostatiques ralentissent ou arrêtent la croissance des bactéries à l'extérieur du corps (Werth, 2002).

I.3.1.3. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques bloquent spécifiquement le processus métabolique vital des bactéries sensibles, selon différents mécanismes et cibles, on cite les quatre principaux qui sont :

I.3.1.3.1. Paroi bactérienne

Les antibiotiques inhibent la synthèse de la paroi cellulaire en agissant sur des cibles qui se situent en extérieur de la cellule bactérienne (parois), sont uniquement actives contre les bactéries en croissance. Ces derniers bloquent la synthèse des peptidoglycanes, les cellules s'allongent sans former de parois, par conséquent, une lyse cellulaire se produit sous l'action de la pression osmotique interne (Mainil, 2013).

I.3.1.3.2. Membrane cytoplasmique

Ils agissent sur les membranes lipidiques, d'abord la membrane externe, puis cytoplasmique. Ces antibiotiques au moment de leur fixation sur les membranes induisent la perturbation leur structure et leur fonction, en les rendant perméables, ce qui provoque une mort bactérienne rapide (Mainil, 2013).

I.3.1.3.3. Synthèse des protéines (sur l'ARN des ribosomes)

De nombreux antibiotiques conduisent à l'inhibition de la synthèse protéique, pour constituer de bonne cible ils se lient sur les ribosomes certains s'attachent sur la petite sous-unité 30S, tandis que d'autres se fixe à la grande sous-unité 50S, à concentration sous-thérapeutique, ils provoquent de fausses lectures, à dose thérapeutique, ils inhibent l'allongement de la chaîne peptidique en bloquant le complexe d'inhibition. En plus en réduisant l'AMP (Adénosine Mono Phosphate) cyclique intracellulaire, ils perturbent la barrière de perméabilité de la membrane cytoplasmique, ce qui mène à la fuite vers l'extérieur des composants intracellulaires (Yala et al., 2001).

I.3.1.3.4. Acides nucléiques

Les agents qui inhibent la synthèse ou le fonctionnement des acides nucléiques agissent de sorte qu' en inhibant la répllication de l'ADN soit par inhibition de (l'ADN polymérase, et l'ADN hélicase) / ARN polymérase en arrêtant ainsi la répllication ou la transcription, ou parréduction de la synthèse des précurseurs nucléotidiques (Prescott, 2013).

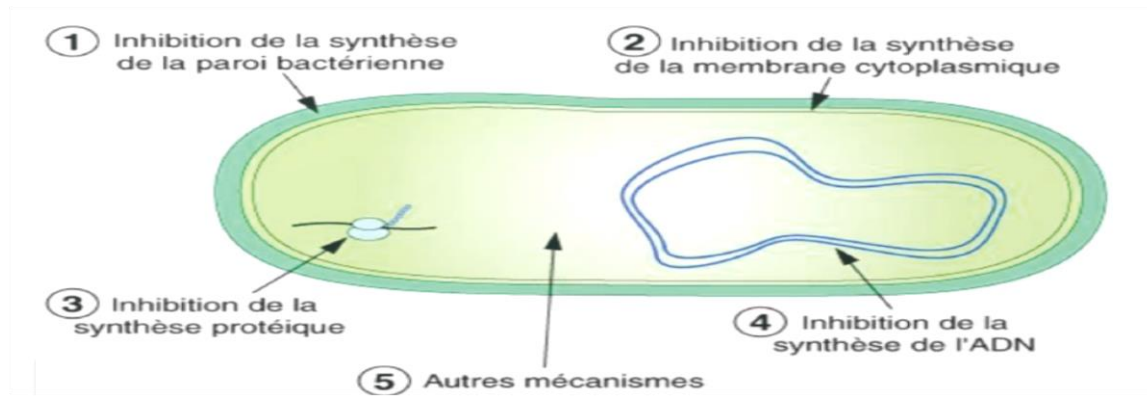


Figure 1 : mécanismes d'action des antibiotiques sur la cellule bactérienne(Prescott, 2013).

I.4.Résistance aux antibiotiques

I.4.1.Définition

La résistance aux antibiotiques peut être définie de différentes manières. Selon des critères microbiologiques (résistance *in vitro*) ou cliniques (résistance aux médicaments *in vivo*), les souches bactériennes sont considérées comme résistantes à un antibiotique lorsqu'elles peuvent continuer à se développer à des concentrations d'antibiotiques significativement plus élevées que celles qui sont efficaces pour les souches actives de la même espèce. En bactériologie médicale, on considère qu'une souche est résistante à un antibiotique lorsque la concentration minimale inhibitrice (CMI) dépasse la concentration maximale de l'antibiotique dans le plasma atteinte lors du traitement (Carle, 2009). Il existe deux modes de résistance :

- **Résistance naturelle**

Les microorganismes sont naturellement insensibles aux antibiotiques chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Il fait donc partie du patrimoine génétique des bactéries. Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible. (Carle, 2009; Yala et al., 2001).

- **Résistance acquise**

Il s'agit d'acquérir et de transférer des gènes qui ont la capacité de transformer les bactéries insensibles à un ou à un groupe d'antibiotiques. Ce nouveau gène peut être obtenu par les mutations au niveau chromosomique ; c'est un phénomène de transfert d'ADN par conjugaison de plasmides ou transposons (le mécanisme le plus courant)(Carle, 2009).

I.4.2.Mécanismes de la résistance

Quatre mécanismes principaux conduisent à la résistance aux antibiotiques :

I.4.2.1.Modification des cibles antibiotiques

Les bactéries peuvent subir des mutations spontanées dans leur ADN, ce qui peut entraîner des changements dans les protéines cibles des antibiotiques. Ces mutations peuvent rendre les antibiotiques moins efficaces pour inhiber la croissance bactérienne (Mainil, 2013).

I.4.2.2.Synthèse d'antibiotiques inactifs

Il existe de nombreuses enzymes produits par certaines bactéries qui détruisent l'antibiotique par divers mécanismes chimique ; par conséquent la modification de noyau actif des antibiotiques par ces enzymes vas empêcher les antimicrobiens de se lier à leurs cibles en clivant ou en ajoutant des groupes chimiques entraînant ainsi une perte d'activité. Parmi les réactions biochimiques catalysées avec ces enzymes bactériennes, nous pouvons citer parmi elles l'hydrolyse, l'acétylation, réactions de phosphorylation, d'estérification. Ces enzymes sont souvent associées à des éléments génétiques mobiles(Mainil, 2013).

I.4.2.3.Pompes à efflux

Les pompes à efflux sont des protéines ancrées dans la membrane externe de la cellule bactérienne. Elles utilisent de l'énergie produite par la membrane cytoplasmique pour expulser les métabolites du corps et les composés toxiques étrangers, tels que les antibiotiques. Elles réduisent la concentration d'agents antimicrobiens dans le cytoplasme bactérien, limitant ainsi l'accès des antibiotiques à leurs cibles(Carle, 2009).

I.4.2.4.Réduction de la perméabilité des bactéries aux antibiotiques

Les bactéries Gram-positives ont une enveloppe cellulaire simple, avec une paroi externe épaisse en peptidoglycane, ce qui permet aux antibiotiques de les traverser par simple diffusion. En revanche, les bactéries Gram-négatives ont une enveloppe plus complexe et difficile à pénétrer. Pour les souches Gram-négatives, les agents antimicrobiens hydrophiles entrent dans la bactérie par des porines, tandis que les substances hydrophobes passent simplement à travers la couche phospholipidique. De plus, la mutation des gènes codant pour les porines, entraînant leur perte, leur réduction de taille ou une diminution de leur expression, conduit à l'obtention de niveaux de résistance faibles vis-à-vis de plusieurs antibiotiques(Carle, 2009).

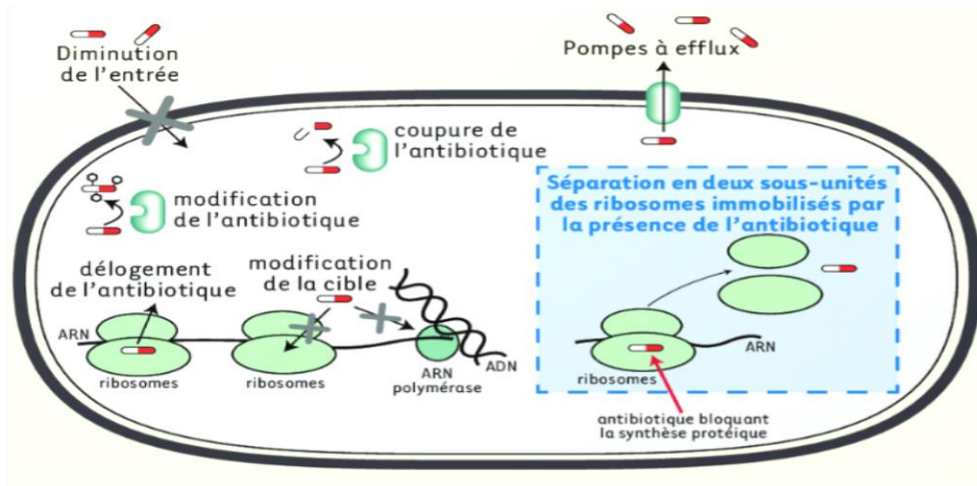


Figure 2 :les différents mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques(Duval et al., 2019)

II. Généralités sur les plantes

II.1. *Crataegus laciniata*

II.1.1. Description botanique

Crataegus laciniata est un arbuste épineux appartenant à la famille des Rosacées. Il peut atteindre une hauteur de 6 mètres. Les fleurs (figure 4. A) blanches poussent en grappes de 5 à 12 et sont hermaphrodites. Les feuilles (figure 4. B) de cette plante sont largement ovales ou obovales, avec des bords dentés. Elles sont insérées isolément sur un axe à différents niveaux et possèdent de 5 à 9 lobes. Les feuilles subterminales ont de courts pétioles. Les fruits (figure 4.C), appelés baies d'aubépine, sont ovoïdes et passent du vert-rouge au rouge vif, puis au rouge foncé. Ils ont une peau blanche et charnue. (Verma et *al.*, 2007; Yanar et *al.*, 2011; Kumar et *al.*, 2012) .



Figure 03 : *Crataegus laciniata* ; (A) les fleurs ; (B) les feuilles ; (C) les fruits

II.1.2. Etymologie

Le mot "*Crataegus*" vient du latin "*cratægus*", transcrit du grec "*krataegos*" ou "*kratos*", signifiant "force", en référence à la dureté du bois. "*Aubépine*" est un nom féminin, dérivé du latin "*alba spina*", signifiant "épine blanche", faisant allusion à l'arbuste épineux aux fleurs blanches (Calvo et *al.*, 2015). Selon Bachiri et *al.*, (2015), cette espèce possède plusieurs noms vernaculaires, comme indiqué dans le Tableau I.

Tableau I : Différents noms vernaculaires de *Crataegus laciniata* selon Bachiri et al.,(2015)

Langues	Noms vernaculaires (appellations) :
Français	Aubépine
Anglais	Hawthorne
Arabe	Tabgha
Latin	<i>Crataegus laciniata</i>
Bérbère	Admam

II.1.3. Classification systématique de la plante *Crataegus laciniata*

Classification systématique de la plante *Crataegus laciniata* selon Li et al., (2009):

- Règne : Planta (Plantes)
- Sous-règne : Tracheobionta (plantes vasculaires)
- Embranchement : Spermatophyta (spermaphytes)
- Sous-embranchement : Angiospermae (angiospermes)
- Classe : Magnoliophyta (dicotylédones)
- Famille : Rosaceae
- Genre : *Crataegus*
- Espèce : *Crataegus laciniata*

II.1.4. Localisation géographique

Les arbres de *Crataegus* sont utilisés comme haies en Europe et se trouvent dans les régions tempérées du monde, notamment en Afrique du Nord, en Asie occidentale, en Inde, en Chine et en Amérique du Nord. En Australie, ils sont considérés comme une mauvaise herbe envahissante. En Algérie, ils se trouvent dans les forêts, les maquis du Tell et les hauts plateaux. (Verma et al., 2007; Kumar et al., 2012 ; Baba Aissa, 1999).

II.1.5. Composition chimique de *Crataegus*

Les fruits, les feuilles et les fleurs de l'aubépine contiennent différents constituants chimiques, notamment des flavonoïdes, des proanthocyanidines oligomères (OPC), des triterpénoïdes, des acides organiques, des stérols et des traces d'amines cardioactives. Les flavonoïdes et les proanthocyanidines sont les principaux composés bioactifs. On trouve également de la vitamine C, des saponines et des tannins (Verma et al., 2007 ; Martinelli et al., 2021).

II.1.6. Propriétés thérapeutiques traditionnelles et pharmacologiques de *Crataegus*

II.1.6.1. Propriétés traditionnelles

L'aubépine a été utilisée depuis l'Antiquité en médecine traditionnelle en raison de sa richesse en métabolites secondaires et antioxydants, qui confèrent à la plante ses propriétés thérapeutiques curatives et bénéfiques. Selon Kumar *et al.*, (2012), une décoction des feuilles et des fruits de l'aubépine est principalement utilisée pour traiter les maladies cardiovasculaires. Dans la médecine traditionnelle arabe, elle est également utilisée comme agent thérapeutique contre le cancer, le diabète et l'impuissance sexuelle. En Turquie, les fruits et les fleurs d'aubépine sont consommés sous forme de thé et de vinaigre pour traiter diverses affections telles que la toux, la grippe, l'asthme, les maux d'estomac, les rhumatismes douloureux, la néphrite et les hémorroïdes (Caliskan, 2015). Au Mexique, l'extrait de cette plante est utilisé pour traiter le diabète, notamment aux premiers stades de la maladie, et est considéré comme bénéfique (Rigelsky, 2002).

II.1.2.6. Propriétés pharmacologiques

Les espèces d'aubépine sont reconnues pour leur valeur médicinale importante, notamment en raison de leurs effets antioxydants, anticoagulants (Rababa'h *et al.*, 2020) et cardio-protecteurs. Elles sont utilisées dans le traitement des maladies cardiaques, de l'hyperlipidémie et de l'hypertension (Tadić *et al.*, 2008; Vikrant *et al.*, 2012). L'aubépine améliore le flux sanguin coronaire, inhibe l'élimination des lipides plasmatiques et présente des propriétés hépato-protectrices, gastro-protectrices et antimicrobiennes (Andrade-Cetto, 2005; Ljubuncic *et al.*, 2006). Elle possède également des propriétés hypotensives (Schröder *et al.*, 2003; Amhamdi *et al.*, 2009), diurétiques et immunostimulantes (Li *et al.*, 2009). De plus, l'aubépine est utilisée pour traiter les troubles du système nerveux central tels que l'anxiété et la dépression légère (Hanus *et al.*, 2004).

II.2. *Pistacia lentiscus*

II.2.1. Description botanique de *P.lentiscus*

Le Pistachier lentisque, également connu sous le nom de *P.lentiscus*, est un petit arbuste ou arbrisseau résineux, dioïque et aromatique de la famille (Nacira *et al.*, 2019) des Anacardiaceae (Aissat *et al.*, 2022). Il peut atteindre une hauteur de 1 à 3 mètres. Il fait partie du genre qui comprend neuf espèces et cinq sous-espèces (AL-Saghir, 2012).

- **Les fleurs :** sont anémophiles, actinomorphes et apétales (Figure 5.A). Les fleurs mâles sont rouges, tandis que les fleurs femelles sont vert jaunâtre. Les fleurs mâles

ont 5 sépales et des étamines, tandis que les fleurs femelles ont 3-4 sépales, un ovaire supérieur avec un pistil et un ovule (Idzajt, 2019 ;Beldi et *al.*, 2021).

- **Feuilles :**(Figure 5.B) sont alternes, caduques ou persistantes, composées en pinnules, mais parfois trifoliolées ou unifoliées, pari- ou imparipennées, membraneuses ou coriaces (AL-Saghir , 2012).
- **Les inflorescences :** sont des panicules axillaires dressées (Figure5.D), avec de nombreuses fleurs. Les panicules mâles sont denses et mesurent 4 à 6 cm de long, tandis que les panicules femelles sont lâches et mesurent 2 à 4 cm de long. La période de floraison se situe entre mars et mai, avant l'apparition des feuilles (Idzajt,2019).
- **Les fruits :** sont des drupes sphériques qui changent de couleur au fur et à mesure de leur maturation, passant du vert immature au rouge puis au noir (Figure 5.c). Ils sont lisses, brillants, d'un diamètre de 5 à 6 mm et contiennent une seule graine. Le stigmate persiste à l'extrémité du fruit. L'endocarpe, ou noyau, est subsphérique, légèrement aplati, de couleur foncée à noire, dur, lisse et brillant, mesurant de 3,5 à 4,5 mm de long et 4,5 mm de diamètre (Idzajt,2019).



Figure 04 :Photos représentant la plante *pistacia lentiscus* (A) fleur ;(B) feuille ;(C) fruit ;(D) inflorescences (Idzajt,2019).

II.2.2.Etymologie et appellations de *P.lentiscus*

Selon Benguedouar et *al.*, (2022), cette espèce est connue sous différents noms vernaculaires courants dans différents pays, comme indiqué dans le Tableau II.

Tableau II: Différents appellations de la plante *P.lentiscus*

Langues	Appellations
Français	Lentisque
Anglais	Lentisk
Italien	Lentisco
Arabe	Dherw
Berbère	Tidekt

II.2.3. Classification systématique de la plante *P.lentiscus*

Selon Benguedouar et *al.*, (2022), la classification de la plante *P.lentiscus* est donnée comme suit :

Tableau III : Classification Systématique de la plante *P.lentiscus*

Classification	Nom spécifiques
Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphyte
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylidènes
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceae
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia lentiscus L.</i>

II.2.4. Répartition géographique

Le Pistachier lentisque est originaire d'Asie centrale et présente deux centres de diversité : la région méditerranéenne (Europe du Sud, Afrique du Nord, Moyen-Orient) et l'Asie occidentale et centrale. Il se trouve naturellement de l'Afrique du Nord aux Philippines, du Texas au Nicaragua, ainsi que dans la Macaronésie. En Algérie, le Pistachier pousse à l'état sauvage dans des régions subhumides et semi-arides, le long de la côte méditerranéenne jusqu'à Saïda. Sa distribution dépend du rayonnement solaire, de la température et des précipitations (AL-Saghir , 2012 ;Nacira et *al.*, 2019).

II.2.5. Composition chimique *depistacia lentiscus*

Plusieurs études sur la plante *P. lentiscus* ont révélé la présence de nombreux composés bioactifs. Les extraits de toutes les parties de la plante (feuille, tige, fruit et racine) contiennent des composants phénoliques, tels que l'acide gallique et ses dérivés galloylés, ainsi que des flavonoïdes tels que la myricétine-3-O-rhamnoside et la quercétine-3-glucoside(Aissat et *al.*, 2022). Les fruits de *P. lentiscus* sont riches en anthocyanes, notamment des dérivés de cyanidine et de delphinidine(Bhourri et *al.*, 2010;Trabelsi et *al.*, 2012 ; Aissat et *al.*, 2022). D'autres composés présents incluent les proanthocyanidines, lesterpénoïdes tels que l' α -pinène (Mecherara-Idjeri et *al.*, 2008;Trabelsi et *al.*, 2012), le β -myrcène(Benyoussef et *al.*, 2005), le limonène(Bouyahya et *al.*, 2019), le δ -3-carène et le camphène(Milia et *al.*, 2021). Une étude spécifique sur l'écorce de la plante a également révélé la présence de triterpènes, de glucides, de tanins, d'alcaloïdes et de flavonoïdes. Ces découvertes soulignent le potentiel biologique des extraits de *P. lentiscus*(Selim et *al.*, 2022).

II.2.6. Propriétés thérapeutiques traditionnelles et pharmacologiques de *P.lentiscus*

II.2.6.1. Propriétés thérapeutiques traditionnelles

P. lentiscus est utilisé depuis l'Antiquité dans la médecine traditionnelle en raison de ses effets bénéfiques sur la santé. Toutes les parties de la plante, y compris les feuilles, les fruits, les racines et les tiges, sont utilisées à des fins médicinales(Elloumi et *al.*, 2022).

En Algérie, les parties aériennes de la plante sont traditionnellement utilisées pour traiter diverses affections telles que les maux de ventre, l'hypertension artérielle, les maux de gorge, la toux, l'eczéma, les calculs rénaux et la jaunisse. Elle est également réputée pour ses propriétés stimulantes, diurétiques, et pour ses effets bénéfiques sur les problèmes respiratoires et les troubles digestifs(Amhamdi et *al.*, 2009;Boudieb et *al.*, 2019).

En Afrique du Nord, le pistachier lentisque est utilisé pour traiter l'hypertension artérielle, les maladies cardiaques et le diabète. Des utilisations similaires sont signalées en Espagne et en Italie où la plante est cultivée. En Iran, elle est largement utilisée pour renforcer le tissu gingival, désodoriser, renforcer le cerveau et le foie, ainsi que pour traiter les troubles gastro-intestinaux(Zitouni et *al.*, 2022).

Le pistachier lentisque est considéré comme l'une des plantes les plus utilisées dans la pharmacologie traditionnelle en Sardaigne. Il est utilisé pour traiter l'inflammation et les infections buccales, l'arthrose, la bronchite, les antitussifs, les antipyrétiques, les allergies,

l'asthme, les ulcères, les troubles gastro-intestinaux, la cicatrisation des plaies et l'hémostase(Zitouni et *al.*, 2022).

II.2.6.2. Propriétés pharmacologiques de *P.lentiscus*

Les composés phénoliques et les flavonoïdes présents dans les fruits et autres parties du pistachier lentisque montrent une grande capacité à inhiber la peroxydation des lipides(Atmani et *al.*, 2009; Botsaris et *al.*, 2015; Belhachat , 2017 ;Hemma et *al.*, 2018). Ils agissent en piégeant les radicaux peroxytes, en chélatant les ions de métaux de transition, en inhibant la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et en induisant la biosynthèse d'enzymes antioxydant(Barbouchi et *al.*, 2020).

Des études ont également montré que les fruits et les feuilles de *P. lentiscus* possèdent une activité anti-inflammatoire en régulant la fonction du système immunitaire. Ils inhibent l'activité des enzymes responsables de l'inflammation, régulent l'adhésion des monocytes et suppriment la production de médiateurs inflammatoires(Remila et *al.*, 2015;Ben Khedir et *al.*, 2016).La résine de *P. lentiscus* est considérée comme un agent anticancéreux potentiel contre plusieurs types de cancers, notamment du sein, du foie, de l'estomac, de la rate et de l'utérus. Elle induit l'apoptose (mort cellulaire programmée) et présente des effets antiprolifératifs sur les cellules cancéreuses(Soulaidopoulos et *al.*, 2022).

D'autres effets bénéfiques de *P. lentiscus* incluent des propriétés antidiabétiques(Mehenni et *al.*, 2016), antimicrobiennes(Mezni et *al.*, 2015) et anti-tumorales(Remila et *al.*, 2015). Ces effets sont attribués à différents composés présents dans les parties de la plante, tels que les feuilles et les fruits.

Les polyphénols

III. Les polyphénols

III.1. Définition des composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents dans les plantes supérieures, jouant un rôle important dans les applications industrielles et thérapeutiques (Rasouli et al., 2017). Ces macromolécules ont un poids moléculaire d'environ 800 Dalton, leur permettant de traverser les membranes cellulaires (Prabhu et al., 2021). Les polyphénols naturels sont une vaste classe de composés chimiques qui contiennent au moins un cycle aromatique et un ou plusieurs groupes hydroxyle. Ils peuvent varier de simples molécules, comme les acides phénoliques, à des composés plus complexes et agrégés, tels que les tanins. Leur caractéristique commune est la présence d'au moins un noyau benzénique (phénolique) associé à d'autres éléments dans une structure plus ou moins complexe (Chira et al., 2008).

III.2. Biosynthèse

Les métabolites primaires sont la source principale via laquelle les polyphénols sont synthétisés en utilisant des procédés de formations manifestées par deux voies métaboliques essentielles (Figure 6) l'une via l'acide shikimique appelé la voie shikimate et l'autre à travers de l'acide mévalonique nommée la voie mévalonate (Martin, 2002).

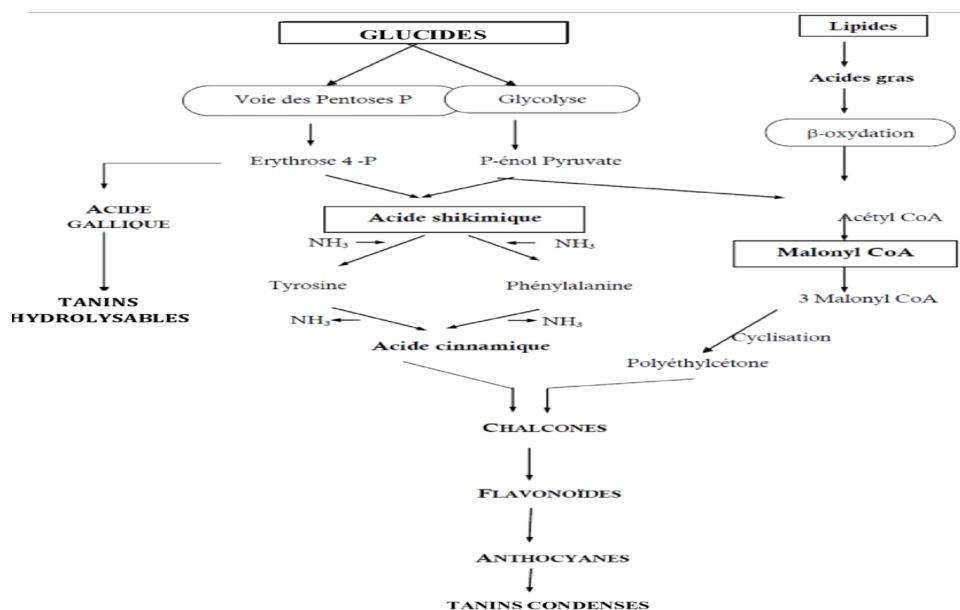


Figure 05 : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (Martin, 2002)

III.3. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques varient en structure depuis des cycles aromatiques simples de faible poids moléculaire jusqu'à des tanins complexes de très haut poids moléculaire. Ils

peuvent également être classé selon leur disposition, le nombre d'atomes de carbone qui les composent dépend de la nature de leur squelette carboné et dépend de la longueur de la chaîne aliphatique attachée au cycle benzénique(Chira et *al.*, 2008).

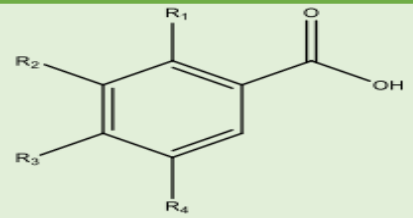
III.3.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés phénoliques aux structures simples. Ceux-ci comprennent deux sous-groupes principaux, l'acide hydroxy benzoïque et l'acide hydroxy cinnamique. Les acides phénoliques sont généralement présents dans les aliments d'origine végétale sous deux formes principales : libre et lié. Ces derniers sont plus courants et se présentent sous forme d'esters, de glycosides et d'acides conjugués (El Gharras, 2009).

III.3.1.1. Acides hydroxy benzoïques

Les acides hydroxybenzoïques sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type (C6-C1) constitué d'un noyau benzénique attaché à la chaîne grasse au carbone (Tableau V) (El Gharras, 2009).

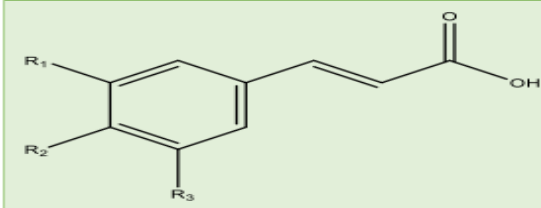
Tableau v : Principaux acides hydroxy benzoïques

Structure	R1	R2	R3	R4	Acide phénolique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	OH	H	H	OH	Acide Protocatechimique
	OH	H	H	H	Acide salicylique

III.3.1.2. Acides hydroxy-cinnamiques

Dérivés de l'acide cinnamique (tableau VI), ils ont la structure générale de base suivante Type (C6-C3), souvent associé à des molécules organiques, Existe principalement sous forme libre, peut également exister sous forme estérifiée de la Quinine(Madrau et *al.*, 2009).

Tableau VI : Principaux acides hydroxy cinnamiques

Structure	R1	R2	R3	Acide phénolique
	H	H	H	Acide cinnamique
	OH	OH	H	Acide caféique
	H	H	H	acide paracoumarique

III.3.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques contenant 15 atomes de carbone formant une structure C6-C3-C6, c'est-à-dire deux cycles aromatiques reliés par un pont à 3 carbones.

Les flavonoïdes sont des molécules à structure benzopyrène (Figure 7) (Chira et al., 2008).

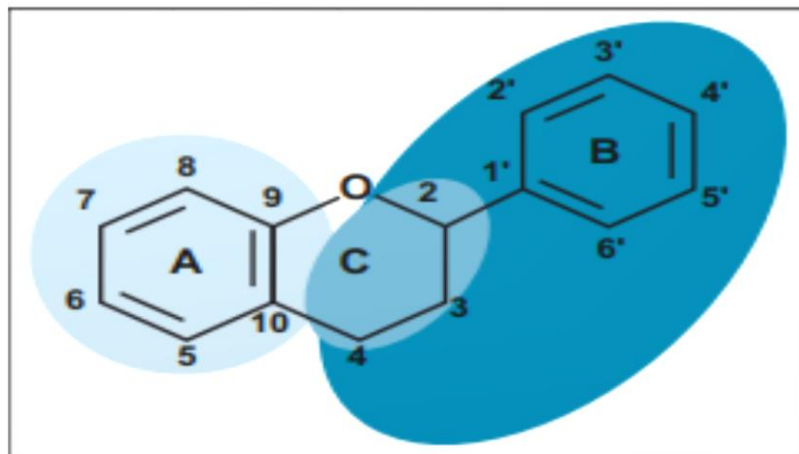


Figure 06: Squelette de base des flavonoïdes ; En bleu ciel, pont 3 carbones ; en bleu médian, partie provenant de la voie de l'acide shikimique ; en bleu foncé, partie provenant de la voie de l'acétate) (El Gharras, 2009).

III.3.2.1. Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont divisés en six sous-groupes selon le type d'hétérocycle qu'ils contiennent: les flavonoïdes, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanes (Chira et al., 2008).

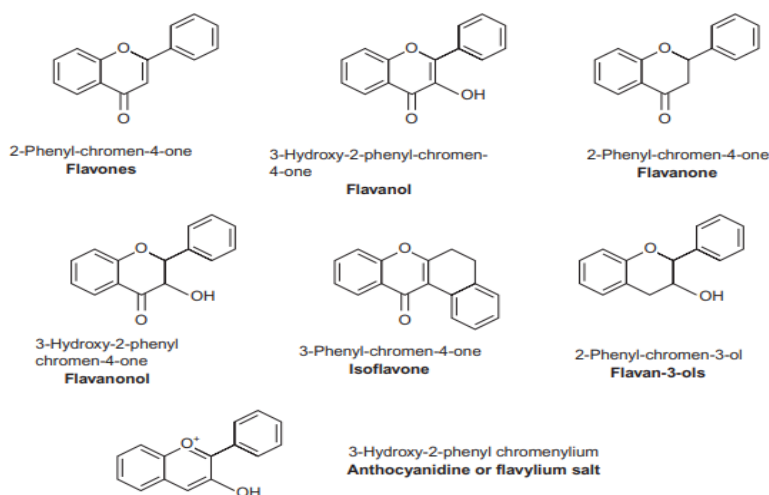


Figure 07 : structures de base des principaux flavonoïdes (Chira et al., 2008).

III.3.3. Tanins

Les tanins sont des molécules avec des fortes hydroxylation et capable d'interagir avec les glucides, les protéines et enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils

peuvent également lier cellulose et de nombreux éléments minéraux(Ref'at et *al.*, 2008) . Ce sont deux types :

III.3.3.1.Tanins hydrolysables

Composé de plusieurs types d'acide gallique et de glucides (généralement glucose).De tanins gallo, des unités galloyle peuvent également être ajoutées par une liaison esters, généralement en position C3 de l'acide gallique et les unités d'acide gallique adjacentes par couplage pour former des esters d'acide hexahydroxydibenzoïque, dits : ellagitanins.

Ces deux groupes, les gallotanins et les ellagitanins sont appelés tanins hydrolysables. Comme leur nom l'indique, ces composés peuvent être dégradés en fragments simples (acide phénols et sucres) (Ref'at et *al.*, 2008).

III.3.3.1.Tanins condensés

Les tanins condensés ou proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités de flavanes qui sont liés par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6. Tanins concentrés sont largement distribué dans les légumes, les fruits, le cacao et certaines céréales(Ref'at et *al.*, 2008).

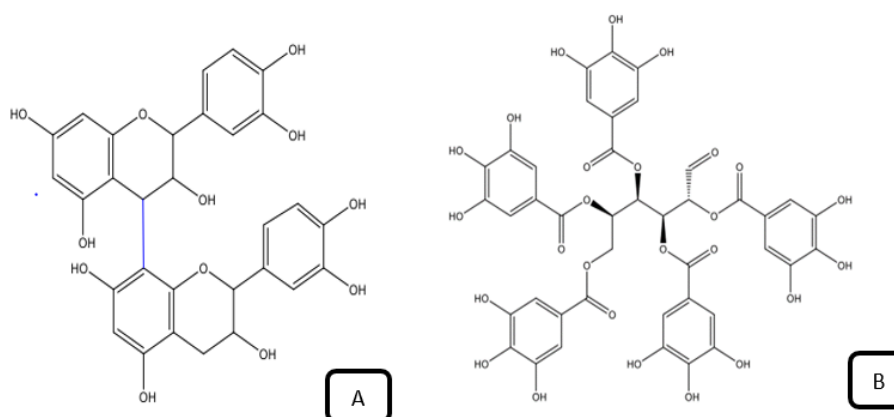


Figure 08 : Exemple des tanins : (A) condensés (Proanthocyanidines type B) ,(B) : hydrolysables (penta-O-galloylglucose)(Ref'at et *al.*, 2008).

III.4.Propriétés biologique des polyphénols

Les polyphénols végétaux sont des composés naturels ayant une large gamme d'activités biologiques, y compris des propriétés anticancéreuses, antioxydantes, anti-inflammatoires, anti-âge, cardioprotectrices et antibactériennes. Cette étude se concentre spécifiquement sur leurs capacités antimicrobiennes(Álvarez-Martínez et *al.*, 2020).

III.4.1. Activité antimicrobienne des polyphénols

Les phénols ont un mode d'action antimicrobienne qui consiste à modifier la nature des protéines, ce qui les classe comme des agents agissant en surface. Les flavonoïdes, quant à eux, ont un mécanisme d'action antimicrobienne très complexe. Ils inhibent les fonctions de l'ADN et de la membrane cytoplasmique, isolent le substrat nécessaire à la croissance des micro-organismes et inhibent également leur métabolisme énergétique (Papuc et *al.*, 2017).

III.4.1.1. Mécanisme d'action

III.4.1.1.1. La membrane cellulaire

Les composés phénoliques ont la capacité d'agir sur deux niveaux différents : la membrane cellulaire et la paroi cellulaire des microorganismes. Ces composés interagissent avec les protéines membranaires bactériennes en formant des liaisons hydrogène via leurs groupes hydroxyle. Cela entraîne une modification de la perméabilité de la membrane, ce qui conduit à la destruction de la cellule. De plus, ils peuvent pénétrer à l'intérieur des cellules bactériennes et coaguler leur contenu. Les bactéries gram positives sont plus sensibles aux effets de ces extraits phénoliques que les bactéries gram négatives (Papuc et *al.*, 2017).

III.4.1.2. Les enzymes et privation de substrat

Le mécanisme de toxicité des polyphénols envers les microorganismes implique l'inhibition des enzymes par des composés oxydants. Les polyphénols, notamment les quinones et les tanins, interagissent avec les protéines enzymatiques en se liant à leur site actif, ce qui entraîne l'inhibition de leur activité, notamment l'enzyme ADN-gyrase. De plus, les composés phénoliques peuvent se lier à des molécules substrats, ce qui rend ces dernières moins accessibles aux enzymes (Cushnie, 2005; Daglia, 2012; Papuc et *al.*, 2017).

III.4.1.3. Chélateur des métaux

La formation d'un complexe entre les composés phénoliques et les ions métalliques peut être responsable de l'inhibition de l'activité bactérienne (Cowan, 1999).

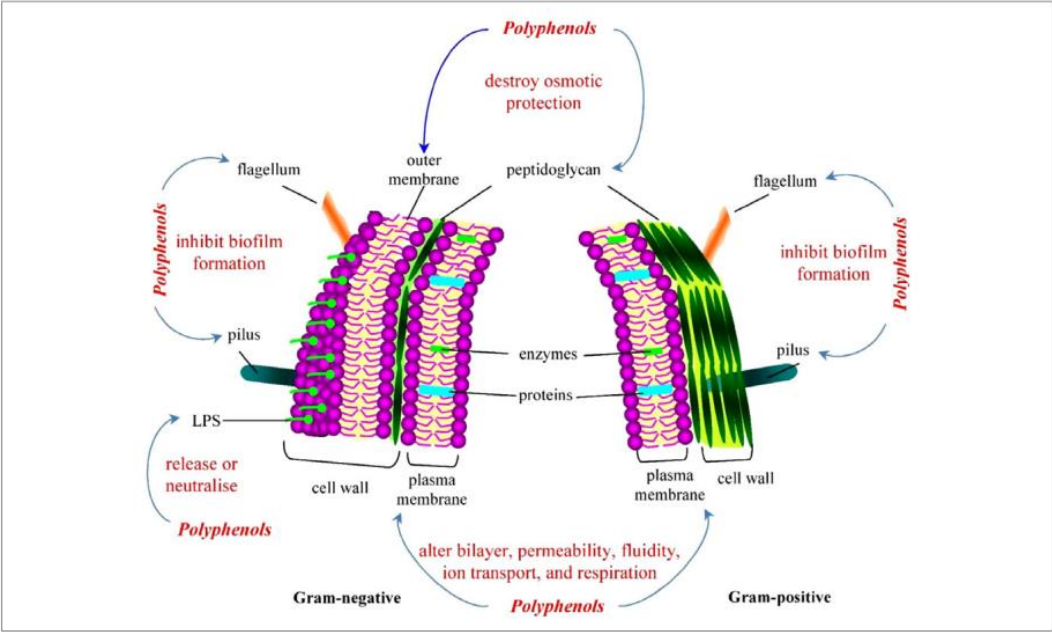


Figure 9 : mécanisme d’action des polyphénols sur les bactéries (Papuc et al., 2017)

*Matériels et
méthodes*

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de recherche de biochimie appliquée et de laboratoire pédagogique de génétique au département de Biologie physico-chimique, Université Abderrahmane MIRA de Bejaia. Nous nous sommes intéressés à caractériser les composés phénoliques des extraits préparés à partir des fruits et feuilles de *C.laciniata* et les fruits de *P.lentiscus* et à déterminer leurs activités antibactérienne et antifongique.

I. Matériel

I.1. Matériel végétal

I.1.1. *Pistacia lentiscus*

Le choix de la plante, *P.lentiscus*, comme sujet d'étude dans le présent travail a été guidé non seulement par les nombreuses utilisations traditionnelles qui en sont répertoriées, mais aussi par le fait qu'il s'agit d'une plante très abondante localement et relativement très étudiée en Algérie. Sur cette base, nous avons utilisés les fruits (graines noirs) qui ont été récoltés au niveau du village de Tizi Neftah, commune d'Amizour située à l'est de Bejaia, loin de tout impact de pollution en Novembre 2022.

I.1.2. *Cratægus laciniata*

Les fruits (Figure 12, A) et les feuilles (Figure 10, B) d'une espèce de la famille des rosacées appelée *C.laciniata* qui ont été préalablement identifiées, ont été récolté en Octobre 2021 dans la région de Djurdjura, de la wilaya de Tizi Ouzou (Algérie).



Figure 10: Matériel végétale *C.laciniata* (A) les fruits ; (B) les feuilles (original)

I.2. Micro-organismes testés

Sept souches bactériennes pathogènes pour l'Homme et cinq souches fongiques phytopathogène de référence ont été choisies dans cette étude.

- **Souches bactériennes :**

Gram négatif : *Echericheria coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, ont été récupérée de La clinique mère-enfant Ait Mokhtar de Targua Ouzmmour, à Bejaia.

Gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, ont été récupérées du laboratoire d'Ecologie Microbienne, université de Bejaia.

- **Souches fongiques :** *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Fusarium oxysporum* et *Botrytis cinerea*, ont été récupérées du laboratoire d'Ecologie Microbienne, université de Bejaia.

I.4.Méthodes

I.4.1. Préparation du matériel végétal

L'utilisation du matériel végétal a été précédée par les étapes suivantes :

- ❖ **Séchage :** le matériel végétal fraîchement récolté a été lavé avec l'eau pour éliminer les impuretés, ensuite, séchées à l'étuve à 40°C pour les fruits de *P.lentiscus* et à 37°C pour les feuilles de *C.laciniata* ; par contre les fruits de *C.laciniata* ont été coupés en petit morceau après élimination du noyau, congelés à -20°C puis lyophilisés.
- ❖ **Broyage :** Les plantes séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à leur réduction en poudre, pour les fruits (Figure 11, A) et les feuilles (Figure 11, B) de *C.laciniata*, ou en pâte, pour le fruit de *P. lentiscus* (Figure 11, C).
- ❖ **Tamissage :** les poudres des fruits et des feuilles de *C.laciniata*, ont été tamisées pour obtenir des poudres de 63µm de diamètre.
- ❖ **Stockage :** la pâte et/ou les poudres obtenues ont été ensuite conservées et stockées hermétiquement dans des bécchers en verre fermés au frais et à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.

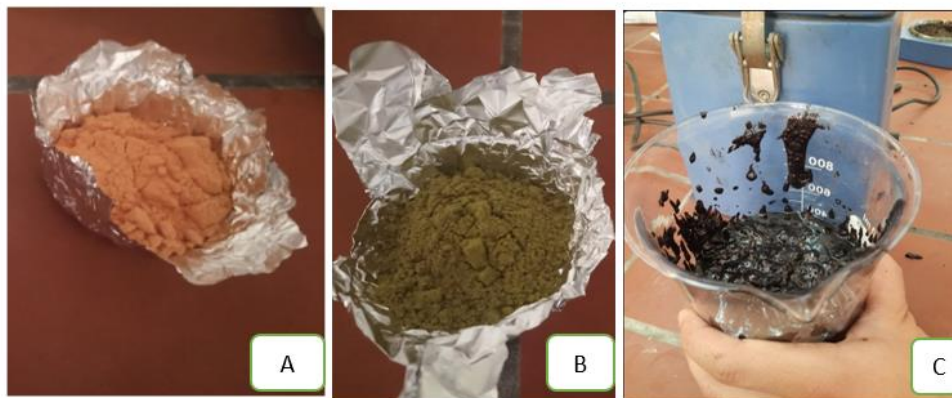


Figure 11 : matériel végétal après traitement : (A) : poudre des fruits ; (B) poudre des feuilles de *C.laciniata*, (c) pâte des fruits de *P. lentiscus* (Original)

I.4.2.Extraction des composés phénoliques

Une optimisation des conditions d'extraction a été faite et les conditions optimums ont été appliquées pour l'extraction. De ce fait l'extraction a été faite avec des ultrasons pour les

fruitset les feuilles de *C. laciniata* en utilisant l'éthanol. Alors que pour *P. lentiscus* en utilisant le méthanol.

Crataegus laciniata

Une quantité de poudre de 10g de l'échantillon séché est ajouté à 200 ml de solvant éthanol à(80) % pour les fruits et à (50%) pour les feuilles, ensuite ont été soumis à une extraction par ultrason à 70 °C pendant 25 minute pour les fruits et à 50° C pendant 35 min pour les feuilles. Après extraction les macérât (l'éthanol qui contient les polyphénols extraits) ont été filtré sur un papier filtre. Les filtrats ont été ensuite évaporés grâce à l'évaporateur rotatif jusqu'à l'obtention d'un poids constant après ont été lyophilisé. Les résidus sec obtenu ont été récupérés dans des flacons hermétiquement fermé et conservés à -20°C e à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation.

Pistacia lentiscus

Pour cette plante, 100g de poudre de graine ont été délipidée après avoir eu plusieurs cycles de lavage avec l'hexane grâce à l'appareil de Soxlet. Ensuite, le résidu a été mélangé avec 500 ml de méthanol 80% (1/5), sous agitation. Cette extraction par ultrason a été effectuée à une température ambiante pendant 30 minutes. Le macéras a été filtré sur un papier filtre. Le filtrat a été ensuite évaporé grâce à un rotavapeur à 40°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Le résidu sec obtenu a été conservé à froid et à l'abri de la lumière(Figure12)(Aissat et al., 2022).



Figure 12 : les différentes étapes d'extraction des composées phénoliques de fruits de *P.lentiscus*(Original).

I.4.3. Rendement d'extraction

Le rendement des différents extraits obtenus est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue après évaporation et la masse initiale du matériel végétal utilisé. Ce rendement est calculé par l'équation suivante donnée par (Falleh et *al.*, 2008):

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = ME / MS \times 100$$

Où :

ME : Masse d'extrait après évaporation du solvant en (g).

MS : Masse de la matière végétale sèche (g).

I.4.4. Dosage des composés phénoliques

La détermination de la teneur en composés phénoliques : polyphénols totaux (PPT) et flavonoïdes totaux (FVT) présents au niveau des différents extraits a été réalisée à l'aide d'une lecture microplaques de type BioTek ELx800.

I.4.4.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT)

Le dosage des PPT est effectué par la méthode de réactif de FolinCiocalteu (FCR) (Singleton et Rossi, 1965) en utilisant une méthode de dosage sur microplaque adaptée et décrite par (Moldovan et *al.*, 2021).

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation, en milieu basique, des composés phénoliques par le réactif de FCR, composé de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et l'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur jaune (Catalano et *al.*, 1999). Ceci entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 760 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Ribéreau-Gayon, 1968).

Le protocole de dosage des PPT des extraits de deux plantes, *P.lentiscus* et *C. laciniata* est résumé dans la figure 13. Les teneurs en PPT dans les extraits ont été déterminées en se référant à une courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique, comme standard, dans les mêmes conditions que l'échantillon (Figure 1, Annexe). Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/ g MS).

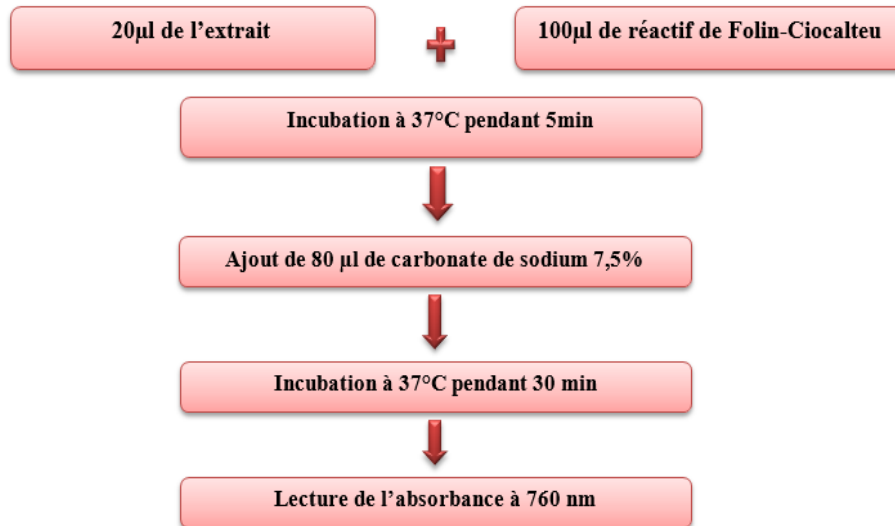


Figure 13: Protocole de dosage des PPT dans les extraits de *P.lentiscus* et *C. laciniata* (Moldovan et al., 2021)

I.4.4.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5 susceptible de donner en présence de chlorure d'aluminium un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{+3} . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (Ribereau-Gayon, 1968).

Le contenu en flavonoïdes des deux extraits est estimé par la méthode de (Djeridane et al., 2006), représenté dans la figure 14.

La teneur en flavonoïdes a été déduite à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec la quercétine (Figure 2, Annexe). Cette teneur a été exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait sèche (mg EQ/g ES).

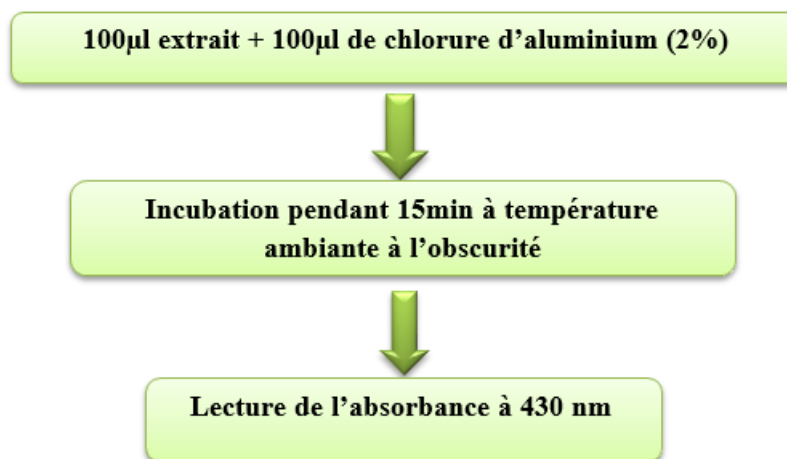


Figure 14 : Protocole de dosage des flavonoïdes (Djeridane et al., 2006).

I.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne

I.5.1. Revivification des souches

A partir des milieux sélectifs, des souches microbiennes ont été prélevées, cultivées et revivifiées par repiquage par la méthode des stries sur des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive. L'incubation des souches bactériennes a été effectuée, à l'étuve à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Alors que pour les champignons, ils ont été activés pendant 7 jours dans l'étuve à une température de 25°C, avant de les tester.



Figure 15: étapes suivies pour la préparation des précultures jeunes (**Original**)

I.5.2. Préparation des charges microbiennes (inoculum)

A l'aide d'une anse de platine, quelques colonies ont été prélevées à partir des pré-cultures. Ces colonies ont été ensuite, mises dans des tubes stériles contenant 40 ml d'eau physiologique (0.9 %) stérile (figure 18). À l'aide d'un vortex les suspensions microbiennes ont été bien homogénéisées. La turbidité des suspensions a été mesurée à l'aide d'un densitomètre et a été ajustée à 0.5 du standard de Mc Farland (DO = 0.08 à 0.1 mesurée à une longueur d'onde $\lambda = 630 \text{ nm}$), ce qui correspond à $1-2 \times 10^8 \text{ UFC/ml}$ (Yala *et al.*, 2016).

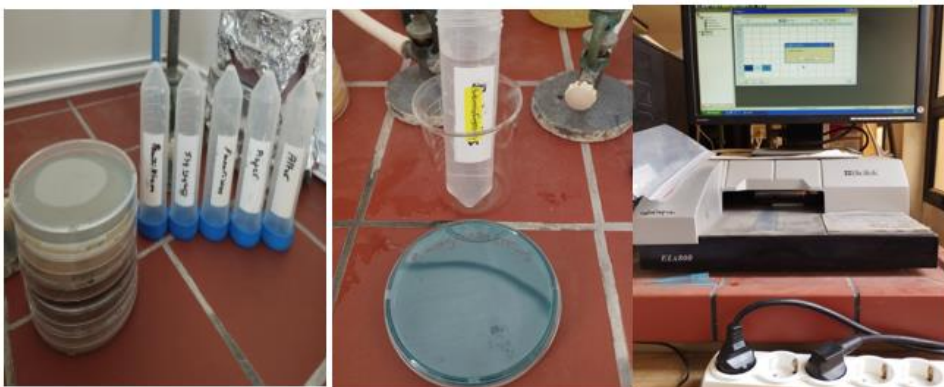


Figure 16 : étapes de préparation des suspensions microbiennes (**Original**)

I.5.3 .Tests antimicrobiens

Pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *P. lentiscus* et *C. laciniata*, deux techniques différentes ont été utilisées :

- ✓ Méthode qualitative : méthode de diffusion sur milieu solide gélosé (Antibiogramme) décrite par (Yakhlef et *al.*, 2011), qui permet la mise en évidence de l'activité antimicrobienne.
- ✓ Méthode quantitative : méthode de microdillution sur milieu liquide qui a pour but la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) à partir d'une gamme de concentrations effectuée dans le milieu de culture décrite par (Diatta et *al.*, 2022) ,avec quelques modifications.

I.5.3.1. Détermination de l'effet antimicrobien sur milieu solide

La technique de diffusion en milieu solide appelée aussi méthode des disques ou l'aromatogramme est basé sur la technique utilisée en bactériologie médicale nommée antibiogramme (Billerbeck, 2007;Kaloustian et *al.*, 2008). Le principe de cette technique repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide, dans une boîte de Pétri, à partir d'un point précis, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme. L'activité de la substance antimicrobienne sur les germes étudiés a été évaluée par la mesure d'une zone d'inhibition (mm).

L'effet antimicrobien des extraits bruts, les antimicrobiens comme contrôles positifs, et le DMSO comme contrôle négatif, vis-à-vis des cibles étudiées a été réalisée en utilisant la méthode de diffusion sur les milieux gélose de Muller Hinton (MH) pour les bactéries et Sabouraud (SB) suivant le protocole de (Yakhlef et *al.*, 2011)avec quelques modification.

Toutes les étapes (figure17) suivies dans ce test ont été réalisées dans des conditions stériles comme suit :

- ✓ Les différents extraits organiques des deux plantes sont solubilisés dans le DMSO(Figure 4, Annexes),
- ✓ la gélose appropriée à chaque souche a été coulée dans des boîtes de pétri de 90 mm de diamètre en raison de 15ml,
- ✓ les boites ont été ensuite,ensemencée par écouvillonnage à l'aide d'un écouvillon stérile imbibé en le trempant dans les suspensions microbiennes (pour chaque suspension, un nouveau écouvillon spécifique),

- ✓ des disques en papier stériles, de 9mm de diamètre, ont été déposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec benzène. Ensuite, une quantité de 50 μ l de chaque extrait, antimicrobiens ou DMSO a été déposée sur ces disques,
- ✓ les boîtes ont été mises au réfrigérateur pendant 2h pour assurer une meilleure diffusion des extraits, puis ont été incubées à 37°C pendant 24h pour les bactéries, et à 25°C pendant 48h pour les champignons,
- ✓ le diamètre des zones d'inhibition a été mesuré à l'aide d'une règle. Chaque expérience a été rétablie en duplicate et les valeurs ont été exprimées en moyenne \pm écart type. Selon (Fertout-Mouri et *al.*, 2016), les résultats seront symbolisés par des signes selon la sensibilité des souches vis-à-vis des substances testées :
 - (-) : résistant ($\emptyset < 08$ mm),
 - (+) : Sensible ($09 < \emptyset < 14$ mm),
 - (++) : Très sensible ($15 < \emptyset < 19$ mm)
 - (+++): Extrêmement sensible ($\emptyset > 20$ mm)

Dans cette étude, un antibiotique a été utilisé, à savoir, Tétracycline (TE 30 μ g) pour les bactéries Gram négatif et positif. Alors que pour les champignons, Fluconazole a été utilisé.



Figure 17: Les étapes de la réalisation de la méthode de diffusion sur disque (Original)

I.5.3.2. Détermination des CMI par la technique de micro-dilution en milieu liquide

Principe

C'est une technique quantitative standardisée de détermination de CMI en micro-dilution par l'utilisation de microplaques contenant 96 cupules, stérile avec couvercle. La CMI est la plus faible concentration de la substance antimicrobienne inhibant toute croissance bactérienne ou fongique visible après une incubation de 24 h à 37°C et de 48 h à 28°C, respectivement (Moudache et *al.*, 2021).

Protocole

La méthode de micro dilution sur milieu liquide utilisant des plaques Elisa à 96 puits a été utilisée. Des précultures ont été préparées de la même façon que celles décrites précédemment pour le test de diffusion. Le milieu liquide utilisé était du bouillon Mueller Hinton (MH) pour les bactéries et bouillon Sabouraud pour les champignons. La détermination des CMI a été réalisée comme décrit ci-dessous (Diatta *et al.*, 2022), avec quelques modifications :

- Dans chaque puits, 160µl de l'extrait ou de DMSO, ont été mélangées avec 160 µl de milieux de culture appropriée pour chaque souche. Un blanc d'extrait a été préparé en parallèle, composé de 160µl d'eau physiologique et 160 µl d'extrait,
- des dilutions en série ont été effectuées, pour avoir des concentrations de (32mg/ml, 16mg/ml, 8mg/ml, 4mg/ml, 2mg/ml, 1mg/ml, 0.5mg/ml, 0.25mg/ml),
- comme une dernière étape, 40µl de la suspension microbienne ont été ajoutées au puits, excepté ceux du blanc de l'extrait, ou 40µl de l'eau physiologique ont été additionnées,
- Les microplaques ainsi préparées ont été incubées, à la température optimale de croissance du microorganisme, à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 48h pour les champignons.

Les tests ont été réalisés deux fois à raison de 4 puits/échantillon lors de chaque essai et le pourcentage d'inhibition de la croissance microbienne a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Abs \text{ contrôle} - Abs \text{ échantillon}) / Abs \text{ contrôle}] \times 100$$

Ou :

Abs échantillon = Abs d'extrait - Abs de blanc

I.5.3.3. Analyse statistique

Les résultats en été exprimé en Moyenne ± écart-type et les CMI en été déterminées en utilisant le Graph Pad prism8 en utilisant la méthode Standard cuve calculations : pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées. La valeur de l'IC50 est exprimée en mg/ml.

*Résultats et
discussions*

II.1. Rendement d'extraction

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

Les taux d'extraction (rendement) des différents extraits hydro alcooliques : extrait hydroéthanolique de fruits de *P.lentiscus* et hydroéthanolique pour les feuilles et les fruits de *C.laciniata* soumis à l'extraction par Ultrason ont été calculés et présentés dans le (tableau VII suivant) ; ainsi leur aspect et couleurs :

Tableau(VII) : Aspect, couleur et rendement en extraits obtenues à partir des fruits de *P.lentiscus* et des feuilles et fruits de *C.laciniata*.

Matériel végétale	La partie étudiée	La masse en gramme de matériel végétale sec	Aspect et couleur	Rendement (%)
<i>C. laciniata</i>	Feuilles	10g	Poudre verte	30,82%
	Fruits	10g	Pate coulante rouge	50,21%
<i>P. lentiscus</i>	Fruits	100g	Pate coulante violet	25,39%

D'après les résultats présentés dans le Tableau VII, le rendement de l'extrait méthanolique des fruits de *P.lentiscus* est de 25,39 %. Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Remila et al., (2015) à partir de l'extrait éthanolique des *P.lentiscus* récoltée dans la région d'Amizour, Béjaia qui égale à 3,07%. Une autre étude menée par Barbouchi et al., (2020) sur les différentes parties de *P. lentiscus* récolté de deux régions différentes du Maroc a rapporté des rendements supérieurs à nos résultats et qui sont de 39,50%,36,25% pour les extraits méthanolique et éthanolique des fruits respectivement.

Pour la plante *C.laciniata*, les rendements en extraits éthanoliques obtenus à partir des feuilles et des fruits sont de 50,21% et 30,82% respectivement, sont significativement importants ($p < 0,0001$) par rapport à l'extrait méthanolique des fruits de *P.lentiscus*.

II.2. Dosage des composés phénoliques

II.2.1. Dosage des phénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été déterminée par spectrophotométrie en utilisant le Réactif de Folin-Ciocalteu.

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux dans nos extraits ont été déterminées et calculées en se référant à une courbe d'étalonnage linéaire ($y = 0,0058x + 0,0951$) établie avec des concentrations précises d'Acide gallique (Figure 1, Annexes), comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligramme

équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/ g MS). Les résultats du dosage des polyphénols totaux dans l'extrait des fruits de *Pistacia lentiscus* et les feuilles et les fruits de *C. laciniata* ont été représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau (VIII) : Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits hydroalcooliques des feuilles et fruits de *C. laciniata* et des fruits de *P. lentiscus*

La plante	Extrait	Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/ g MS)
<i>C. laciniata</i>	EEF	100,44± 1,67
	EEL	301,75± 10,96
<i>P. lentiscus</i>	EMP	324,91 ± 26,02

Selon les résultats obtenus (Tableau VIII), le contenu phénolique total des extraits de fruits (EEF) et de feuilles (EEL) de *C. laciniata* est d'environ 100,44± 1,67 mg EAG/ g MS et 301,75± 10,96mg EAG/ g MS respectivement. D'après ces résultats on peut déduire que la quantité de polyphénols totaux de nos extraits EEF et EEL est importante voir élevée ; la teneur en (PPT) dans l'extrait (EEF) de *C. laciniata* est supérieure à celle montrée par Kostić et al., (2012) qui ont dosé les polyphénols totaux dans les extraits des fruits d'une plante du même genre *C. Oxyacantha* avec le même solvant et la même méthode d'extraction (Ultrason), mais dans des pays différents. Cette dernière contient une quantité en PPT égale à 19.32±0.49 mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait brut.

Une autre étude menée par Belabdelli et al., (2022) a rapporté une teneur en PPT dans l'extrait éthanolique des feuilles de *C. monogyna* supérieure à celle obtenue dans notre extrait qui égale à 473.4 mg EAG /g MS. Benabderrahmane et al., (2021) ont dosé les PPT dans les extraits d'éthyle acétate des feuilles et fruits de *C. Oxyacantha* et ont trouvé des teneurs inférieures à celles que nous avons rapportées et qui sont égales à 34,633 et 16,702 mg EAG /g respectivement.

Pour la plante *P. lentiscus*, les résultats obtenus sont exprimés dans le Tableau VIII ; la teneur en PPT dans l'extrait hydrométhanlonique des fruits a été estimée par une valeur de l'ordre 324,91 ± 26,02mg EAG/ g MS, ce qui signifie la richesse de notre extrait en PPT en le comparant aux résultats rapportés par Remila et al., (2015), Mehenni et al., (2016) et Yemmen et al., (2017) qui ont trouvé des quantités en polyphénols totaux dans les extraits éthanoliques de *P. lentiscus* inférieures à celles de notre extrait et qui sont de l'ordre de 205,79 ± 6,51 ; 41,8 ± 1,03 et 108,67 ± 0,5 mg EAG/g d'extrait.

II.2.2. Dosage des Flavonoïdes

L'analyse quantitative des flavonoïdes dans les différents extraits EEF, EEL et EMP a été réalisée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium($AlCl_3$). Les résultats sont exprimés au mg équivalent de quercétine par gamme de matière sèche (mg EQ/g MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la quercétine (Figure 2,annexe) ($y = 0,0091x + 0,0214$).

Tableau (IX) :Teneurs en flavonoïdes dans les extraits hydroalcooliques des feuilles et fruits de *C.laciniata* et des fruits de *P.lentiscus*

La plante	Extrait	Teneur en flavonoïdes totaux (mg EQ/ g MS)
<i>C.laciniata</i>	EEF	2,84±0,0024
	EEL	17,88±0,42
<i>P.lentiscus</i>	EMP	11,069 ±0,426

Selon le Tableau IX, les quantités en flavonoïdes dans les extraits éthanoliques des fruits (EEF) et des feuilles (EEL) de *C.laciniata* sont estimées à 2,84±0,0024 et 17,88±0,42mg EQ/ g MS respectivement. Ces teneurs reflètent la richesse de nos extraits en (FT) comparées à celles obtenus par Kostić et al., (2012) sur l'extrait éthanolique de fruits de *C. Oxyacantha* qui est égale à 0.556±0.023 mg EQ/ g MS.

D'après le Tableau III, la teneur en flavonoïdes dans l'extrait hydrométhanolique des fruits de *P.lentiscus*, qui est d'environ 11,069 ±0,426mg EQ/ g MS, est plus élevée en la comparant à celles trouvées par Djebari et al., (2021) et Mehenni et al., (2016) sur les extraits éthanoliques de fruit de *P.lentiscus* et sur les feuilles (Dahmoune et al., 2014) ou elles sont égales respectivement à 9±4.1 ; 3.49 ± 1.19 et 4.61 ± 0.02mg EQ/ g MS.

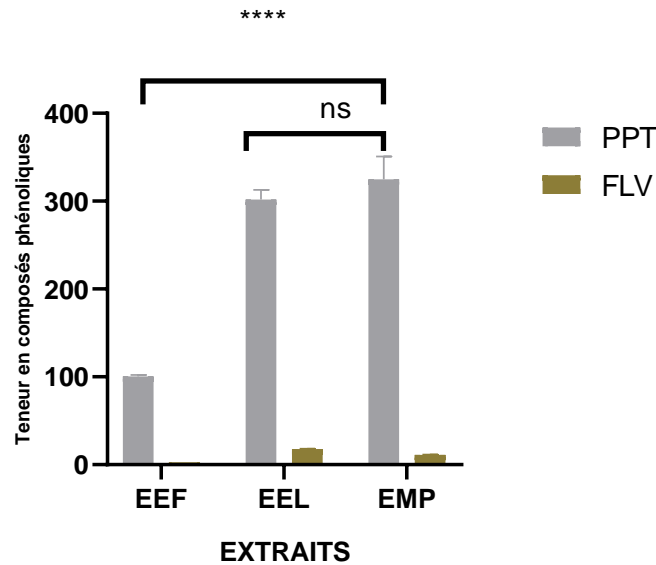


Figure18 :Teneur en PPT et FLV dans les extraits testés.

La figure 20, montre que la teneur en PPT dans les extraits EMP et EEL est significativement importante par rapport à EEF ($p < 0,0001$). En outre, la teneur en PPT est significativement intéressante par rapport aux FLV dans tous les extraits ($p < 0,0001$).

II.3. Etude de l'activité antimicrobienne des différents extraits étudiés

Le présent travail s'intéresse à l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits de deux plantes médicinales. Il s'agit de *Crataegus laciniata* et *Pistacia lentiscus*, vis-à-vis de 12 souches microbiennes de référence, 7 souches bactériennes et 5 souches fongiques.

II.3.1. Pouvoir antibactérien

II.3.1.1. Détermination de l'effet antibactérien sur milieu solide

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antimicrobien de *C.laciniata* et *P.lentiscus* par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé, MuellerHinton pour les bactéries et Sabouraud pour les champignons.

L'effet antimicrobien des différents extraits testés (EEF, EEL et EMP) se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques de papier imprégnés.

Les diamètres des zones d'inhibitions diffèrent d'une souche microbienne et d'un extrait à un autre. Comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons un extrait à une activité antimicrobienne si son diamètre d'inhibition dépasse 10 mm (Ponce et al., 2008).

Les résultats des tests de sensibilités bactériennes aux différents extraits testés (EEF, EEL et EMP) et aux antibiotiques de références sont regroupés dans le Tableau XI. Les valeurs indiquées sont les moyennes des deux essais.

Tableau X : Diamètres des zones d'inhibitions en (mm) et degré de sensibilité des souches bactériennes aux différents extraits et antibiotiques de références

Souches Bactériennes	Diamètres des zones d'inhibition en (mm)			Antibiotique de référence (TE 30 µg)
	EEF	EEL	EMP	
<i>E.coli</i>	16,5±0,00 (++)	23±0,00 (+++)	26±0,00 (+++)	30±0,70 (+++)
<i>P.aeruginosa</i>	12,5±0,70 (+)	16,25±0,35 (++)	19,5±0,70 (+++)	35±0,00 (+++)
<i>S. aureus</i>	20±0,00 (+++)	26±0,00 (+++)	31±0,70 (+++)	35±0,70 (+++)
<i>P. mirabilis</i>	13,50±0,35 (+)	18,5±0,70 (++)	19,5±0,70 (+++)	28±0,35 (+++)
<i>S.epidermidis</i>	9.25±0,70 (+)	22,5±0,70 (+++)	23±0,00 (+++)	23±00 (+++)
<i>B.cereus</i>	8,50±0,70 (-)	24,5±0,70 (+++)	25,50±0,00 (+++)	19±0,35 (++)
<i>B.subtilis</i>	0±00 (-)	24±0,00 (+++)	28±0,00 (+++)	25±0,00 (+++)

Les résultats du tableau X révèlent que les plus haut niveaux d'activités marqués ont été enregistrés par l'extrait éthanolique des feuilles de *C.laciniata* et l'extrait méthanolique des fruits de *P.lentiscus* contre un large spectre de bactéries Gram(+) et Gram (-) avec des degrés de sensibilité variables avec des diamètres des zones d'inhibition de l'ordre de 17 mm à 31 mm, suivi par des activités légèrement moins importantes à absentes pour l'extrait de fruits de *C.laciniata*.

II.3.1.1.1. Résultats du test de sensibilité des souches bactériennes à l'extrait éthanolique des feuilles de *C.laciniata*

Le test de sensibilité vis-à-vis de l'extrait éthanolique des feuilles de *C.lacinita* montre que les bactéries à Gram négatif, *P.aeruginosa*, *E.coli* et *P.mirabilis* se sont révélées très sensibles à l'extrait EEL avec des diamètres de zones d'inhibition de 23 mm, 23,25±0,35mm et 22,5±0,70mm respectivement (figure 21). Les autres souches à Gram positif présentent une sensibilité extrême ($p < 0,0001$) vis-à-vis de l'extrait, les meilleurs diamètres des zones d'inhibition enregistrés sont compris entre 24 et 26 mm avec *S.aureus*, *B. cereus* et *B. subtilis*.

Comparée à ces dernières, *S.epidermidis* présente une sensibilité intermédiaire rapport avec un diamètre de 18,5 mm.

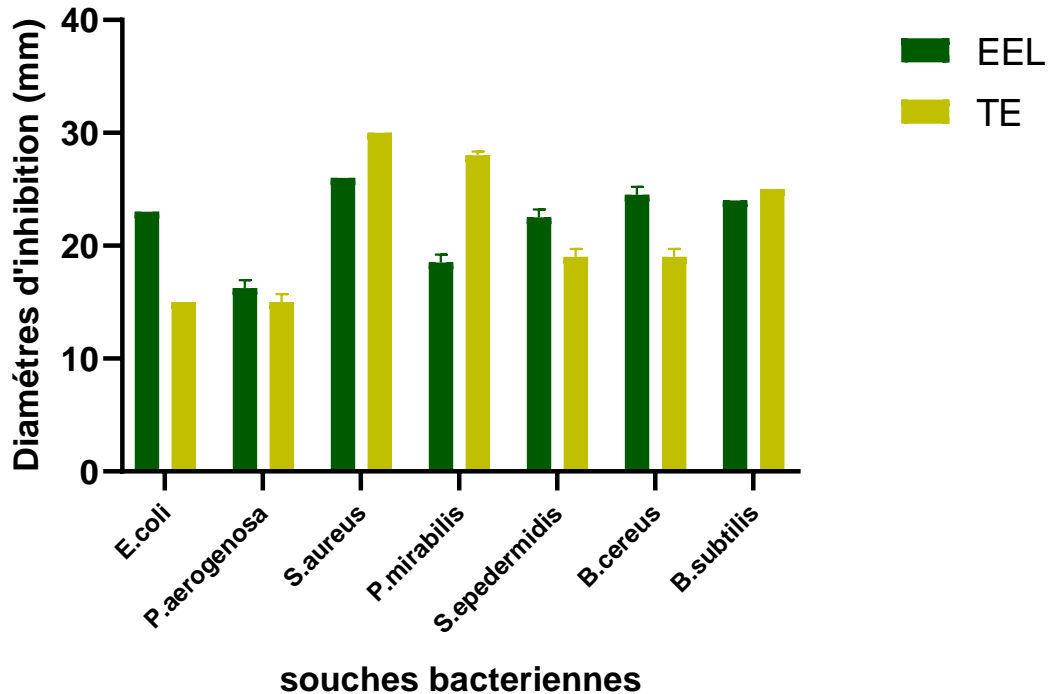


Figure 19 : Représentation graphique des diamètres des zones d’inhibition obtenus avec EEL et l’antibiotique de référence

Benabderrahmane et *al.*, (2021) ont testé l’effet antibactérien des extraits de feuilles de *C. oxyacantha* ont rapporté la présence d’effet antibactérien contre *S. aureus*, mais aucun pouvoir inhibiteur sur *E. coli* n’a été observé.

Une autre étude menée par Benmalek et *al.*, (2013) a montré que les extraits obtenus à partir de *C. oxyacantha* n’ont aucun effet inhibiteur sur *E. coli* (ATCC 25992), *S. aureus* (ATCC 25923), *S. aureus* (ATCC 43300) par contre, ils ont un effet inhibiteur plus important *vis-à-vis* de *P. aeruginosa* (ATCC 27852) dont le diamètre d’inhibition est égale à 20mm.

II.3.1.1.2. Résultats du test de sensibilité des souches bactériennes à l'extrait éthanolique des fruits de *C. laciniata*

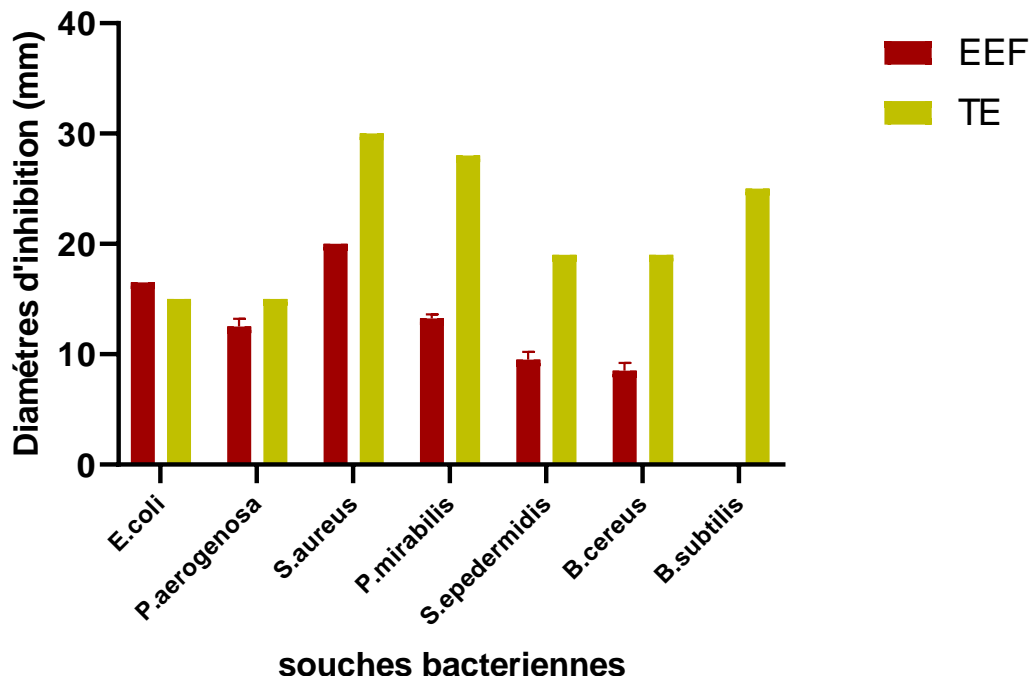


Figure 20 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition obtenus par l'EEF et l'antibiotique de référence

L'analyse des résultats (Figure 22 ; Tableau XI) montre que *S. aureus* est extrêmement sensible aux extraits éthanoliques des fruits de *C.laciniata*(EEF) avec un diamètre d'inhibition d'environ 20mm. Cependant, cet extrait révèle une activité légèrement inhibitrice sur *E.coli*, *P.aeruginosa* et *P.mirabilis* avec des diamètres des zones d'inhibition de 16,50 ; 12,50 et 13,25 mm respectivement. Il y a lieu de signaler que *S.epidermis*, *B.cereus* et *B.subtilis* s'avèrent résistante à l'égard de cet extrait.

Nos résultats ont été comparés à ceux obtenus par Tadić et al., (2008) qui ont étudié l'activité antibactérienne d'extrait éthanolique des fruits de *Crataegus* sur un large spectre de bactéries parmi lesquelles il y a *E.coli*, *S.aureus*, *B.subtilis* et *P. aeruginosa*, qui ont montré un certain degré de sensibilité avec des diamètre compris entre 11, 8, 23 et 13 mm respectivement. Par contre, ils ont rapporté que *P.mirabilis* a été résistante vis-à-vis l'extrait.

Nos résultats sont comparables à ceux de Kostić et al., (2012) qui ont rapporté que *E. coli* (ATCC 25922), *P.aeruginosa*(ATCC 9027) présentent une sensibilité significative vis-à-vis de

l'extrait avec des diamètres d'inhibition de 22 et 27 mm respectivement contrairement à *B. subtilis* (ATCC 6633) et *S. aureus*(ATCC 6538) qui sont plutôt résistantes.

II.3.1.1.3. Test de sensibilité des souches bactériennes à l'extrait méthanolique de fruits de *P. lentiscus*

Toutes les souches bactériennes testées se sont révélées extrêmement sensibles ($\varnothing > 20$ mm) vis-à-vis de l'extrait méthanolique de *P.lentiscus*. En revanche, la plus forte inhibition a été enregistrée chez *S.aureus* avec une large zone d'inhibition qui été égale à 31mm (figure 23).

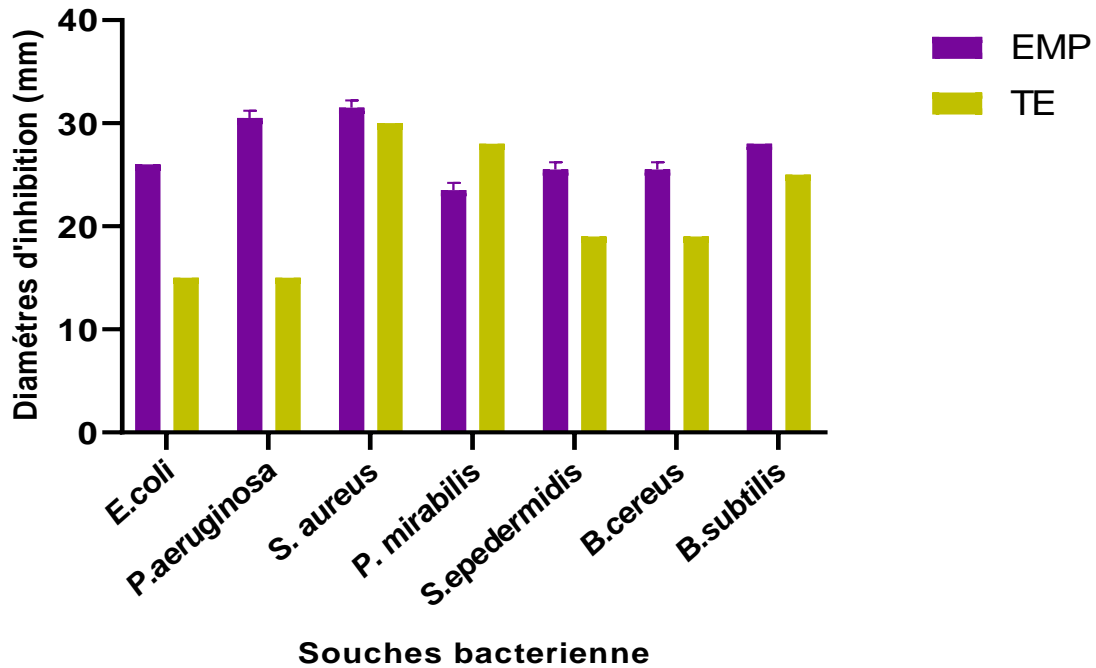


Figure 21 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition obtenus avec l'EMP et l'antibiotique de référence

Dans l'étude menée par Djebari et *al.*, (2021) sur l'évaluation de l'activité antibactérienne liée à différents macérât de *P. lentiscus vis-à-vis* de 9 souches bactériennes choisies pour leur fréquence élevée pour induire des infections alimentaires et gastro-intestinales, les macérât de fruits ont montré le plus grand diamètre d'inhibition dans le cas de *S. epidermidis* ($9,50 \pm 0,5$ mm) et de *B. subtilis* ($10,50 \pm 1,50$ mm).

Une étude même par Bammou et *al.*, (2015) sur l'activité antimicrobienne de *P.lentiscus* a montré que l'extrait de feuille n'avait aucun effet sur *E. coli*, mais *S.aureus* a montré une certaine sensibilité. La plus grande activité inhibitrice est obtenue par l'extrait éthanolique vis-à-vis de *S. aureus* avec une large zone inhibitrice de l'ordre de 28mm.

Nos résultats sont comparables à ceux d'Aouar, (2015), qui ont démontré que les extraits méthanoliques de *P. lentiscus* présentent une bonne activité antibactérienne contre *S. aureus*,

avec un diamètre d'inhibition de 42 mm, et contre *E. coli*, avec un diamètre d'inhibition de 33 mm.

II.3.1.1.4. Résultats de l'analyse comparative

Des différences significatives sont notées entre les différents extraits *vis-à-vis* des souches étudiées. Au sein de la même plante, l'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique de feuilles de *C.laciniata* est significativement important par rapport à l'extrait éthanolique des fruits ($p < 0,0001$). En comparant l'effet inhibiteur de deux plantes, l'effet de l'extrait méthanolique des fruits de *P.lentiscus* est significativement plus important que celui des deux extraits EEL et EEF ($p < 0,0001$).

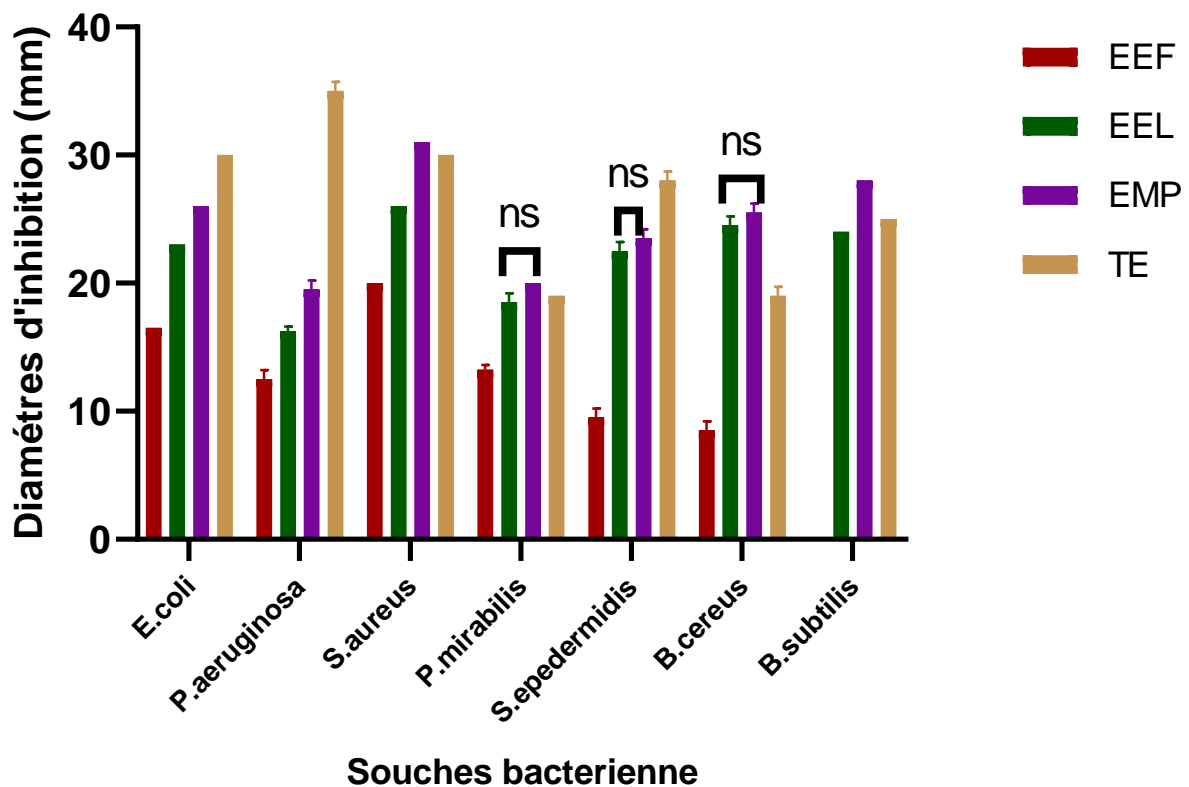


Figure 22: Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition obtenus avec les extraits testés et l'antibiotique de référence.

II.3.1.2. Détermination des CMI et IC50 par la technique de micro-dilution en milieu liquide

Nous rapportons dans le tableau XI les CMI et IC50 de nos extraits les plus actifs constatés lors de l'étude en milieu solide et dont les diamètres d'inhibition sont supérieurs ou égaux à 10 mm,

qui sont obtenus par la méthode de micro dilution en milieu liquide. En effet, ces deux paramètres ont été déterminée pour toutes les souches, à l'exception de *S.epidermidis*, *B.cereuset* *B.subtilis* qui ont montré une résistance à l'extrait éthanolique des fruits de *C.laciniata*. Les paramètres ont été inversement proportionnels aux diamètres des zones d'inhibitions. En revanche plus l'activité antibactérienne a été grande plus la IC50 a été réduite.

Tableau XI : Concentrations minimales inhibitrices à 50% des extraits EEF, EEL et EMP pour les souches bactériennes testées par la méthode de microdilution en milieu liquide.

Souches bactériennes	IC 50 (mg /ml)			CMI (mg /ml)		
	EEF	EEL	EMP	EEF	EEL	EMP
<i>E. coli</i>	24,60	7,36	2,20	>32	4-8	4-8
<i>P.aeruginosa</i>	28,51	9,49	3,84	>32	16-32	16-32
<i>S. aureus</i>	10,52	4,64	0,21	>32	16-8	2-4
<i>P.mirabilis</i>	25,34	14,46	0,24	>32	16-8	1-2
<i>S.epidermidis</i>	Nd	4,99	0,32	Nd	4-8	1-0.25
<i>B.cereus</i>	Nd	5,37	0,72	Nd	>32	8-16
<i>B.subtilis</i>	Nd	8,90	2,08	Nd	16-8	16-32

Nd : non déterminé

Les valeurs des concentrations minimales inhibitrices ont été déterminées dans une large gamme de concentrations allant de 0,25 à 32 mg/ml. L'extrait le plus actif, avec les concentrations les plus faibles (0,25-4 mg/ml) est celui de l'EMP contre *S.epidermidis*, *P.mirabilis* et *S.aureus* suivi par l'EEL contre *S.epidermidis* et *E. coli* (4-8mg/ml), contrairement à l'EEF qui a enregistré les grandes valeurs de CMI qui dépassent 32mg/ml.

Ces résultats ont confirmé les valeurs obtenues par la méthode de diffusion sur milieu solide. Les souches les plus sensibles ont enregistré les petites IC50. Les petites valeurs ont été enregistrées chez *S. aureus* vis-à-vis des trois extraits EMP, EEL et EEF avec des degrés de sensibilité variables allant de 0,21 ; 4,64 et 10,52 mg/ml respectivement.

Les grandes valeurs ont été enregistrées chez *P.aeruginosa* vis-à-vis des trois extraits EMP, EEL et EEF avec des degrés de sensibilité variables allant de 3,84 ; 9,49 et 28,51 mg/ml respectivement.

II.3.2. Pouvoir antifongique

II.3.2.1 Résultats du test de sensibilité sur milieu solide

Les résultats des tests de sensibilités des souches fongiques aux différents extraits testés EEF, EEL et EMP sont regroupés dans le Tableau XII. Les valeurs indiquées sont les moyennes des deux essais.

Tableau XII : Activité antifongique (exprimée en zone d'inhibition) des différents extraits contre des souches fongiques référenciées (moyenne \pm SD, n = 2)

Souches fongiques	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	Extraits			Antifongique
	EEF	EEL	EMP	Fluconazole
<i>Penicillium</i>	13,5 \pm 0,70	15 \pm 0,00	19,5 \pm 0,70	20
<i>Aspergillus</i>	15,5 \pm 0,70	22,5 \pm 0,70	20 \pm 0,00	15
<i>Alternaria</i>	14,5 \pm 0,70	22,5 \pm 0,70	21,5 \pm 0,70	18
<i>Fusariumoxysporum</i>	23,5 \pm 0,70	24,50 \pm 0,70	16,50 \pm 0,70	13
<i>Botrytis cinerea</i>	15 \pm 0,00	22 \pm 0,00	20 \pm 0,00	/

Les résultats obtenus (Tableau XII) ont montré que les extraits des deux plantes sont dotés d'une activité qui s'allait de modérément à légèrement inhibitrice *vis-à-vis* de toutes les souches fongiques avec des degrés de sensibilité variables allant de 15 à 24,5 mm.

Lafigure 25 a permis de constater que les souches *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Botrytis cinerea* et *Penicillium* ontété très sensibles *vis-à-vis* de l'extrait éthanolique des feuilles de *C. laciniata* avec des diamètres compris entre 15 et 24,5 mm respectivement.

L'extrait de fruit de *C. laciniata* a montré une activité légèrement inhibitrice sur les souches *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria* et *Botrytis cinerea* avec des zones d'inhibition allant de 13,5 à 15 mm. A l'opposé *Fusarium* a été révéleé extrêmement sensibles avec un diamètre qui égale à 23,5mm. Ces résultats sont différents de ceux observés par Kostić et *al.*, (2012)quiont montré que l'extrait éthanolique des fruits de *C. oxyacantha* n'a aucun effet inhibiteur sur la croissance d'*Aspergillus niger* ATCC 16404.

L'extrait méthanolique des fruits de *P.lentiscus* a été actif sur toutes les souches testées, le degré de sensibilité élevé a été enregistré chez *Alternaria* avec un diamètre d'inhibition qui est égale à 21,5mm. Ces résultats sont en accord avec ceux de Rhouma et *al.*, (2009)qui ont également observé une activité antifongique des extraits aqueux et éthanoliques de feuilles de *P.vera* et *P.*

atlantica. Les résultats de notre étude sont inférieurs à ceux obtenus par Debbabi et *al.*, (2017) qui ont montré l'activité antifongique des extraits foliaires de *Pistacia lentiscus* L sur *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* et *Fusarium*.

La comparaison de pouvoir inhibiteur de nos extraits à celui de l'antifongique a permis de classer l'antifongique en deuxième position par rapport aux extraits EEL et EMP. Par contre, il a un effet significativement actif que celui de l'extrait EEF ($p < 0,0001$).

D'après les résultats obtenus par l'analyse statistique et selon le pouvoir inhibiteur de la croissance des souches fongiques on a pu constater que l'activité antifongique de l'extrait EEL est hautement significative par rapport à l'extrait EMP et EEF ($p < 0,0001$) et l'activité de l'extrait EMP est hautement significative à celle d'EEF ($p < 0,0001$).

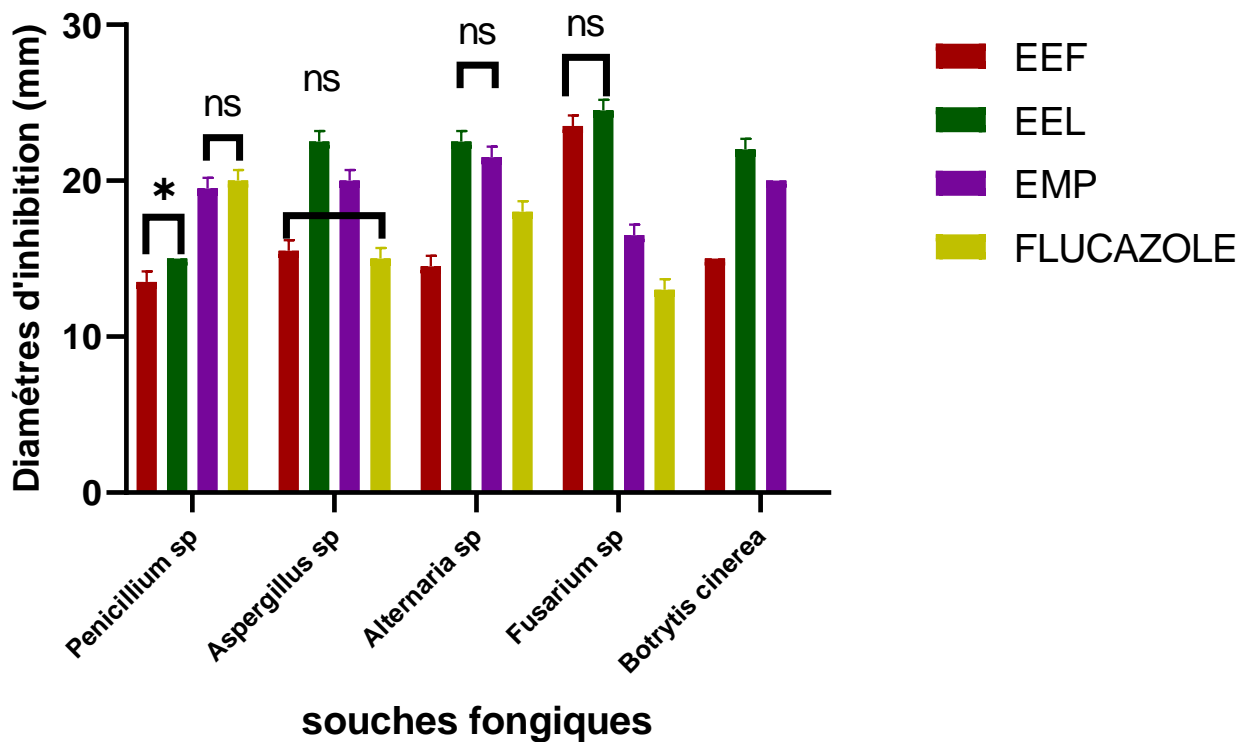


Figure 23 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition exercées par les extraits testés

II.3.2.2. Détermination des CMI et IC50 par la technique de micro-dilution en milieu liquide

Les valeurs des concentrations minimales inhibitrices ont été déterminées dans une large gamme de concentration allant de 0,25 à 32 mg/ml. L'extrait le plus actif, avec les concentrations les plus faibles (0,5-1 mg/ml) est celui de l'EMP contre *Fusarium oxysporum* suivi par EEL contre *Aspergillus* (1-2 mg/ml) (tableau XIII).

Tableau XIII: Concentrations inhibitrices à 50% des extraits EEF, EEL et EMP pour les souches fongiques testées par la méthode de micro-dilution en milieu liquide.

Souches fongiques	IC 50 (mg /ml)			CMI(mg /ml)		
	EEF	EEL	EMP	EEF	EEL	EMP
<i>Penicillium</i>	2,29	3,01	0,63	8-16	4-8	8-16
<i>Aspergillus</i>	4,43	0,49	5,31	16-32	1-2	8-16
<i>Alternaria</i>	9,60	1,78	4,66	>32	4-8	8-16
<i>Fusarium</i>	0,21	1,78	4,46	8-16	4-8	0.5-1
<i>Botrytis cinerea</i>	10,52	1,62	2,30	16-32	4-8	2-4

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par la méthode de diffusion sur milieu solide, ce qui confirme l'effet antifongique des trois extraits sur toutes les souches fongiques. Les souches les plus sensibles ont enregistré les petites IC50. C'est le cas de *Fusarium oxysporum* qui a enregistré la petite valeur qui est égale à 0,21mg/ml pour l'extrait EEF. A l'opposé, les valeurs des IC50 pour les deux extraits EEL et EMP ont montré des résultats différents par rapport aux diamètres des zones d'inhibition. Sur milieu liquide, *Aspergillus* se révèle la plus sensible avec une IC50 de l'ordre de 0,49 mg/ml pour l'extrait EEL par contre, *Penicillium* a été la plus sensible sur milieu solide. Pour l'extrait EMP *Penicillium* se révèle la plus sensible avec une IC50 de l'ordre de 0,63 mg/ml par contre *Fusarium* a été la plus sensible sur milieu solide.

Ces observations suggèrent que la taille de la zone d'inhibition ne reflète pas nécessairement l'efficacité réelle d'un composé antibactérien. Cette constatation est en accord avec les suggestions de Cimanga et al., (2002) .

Discussion générale

En général, les rendements en extrait sec varient en fonction de paramètres et le protocole d'extraction : température, solvant d'extraction, granulométrie et coefficient de diffusion des

solvants. Le rendement de l'extrait est plus élevé pour les extraits alcooliques ou aqueux, ceci est cohérent avec les résultats obtenus.

Chaque extraction donnera un profil sensoriel et chimique différent. Plusieurs études ont confirmé que *P. lentiscus* L et les plantes du genre *Crataegus* sont riches en composés phénoliques et que cette abondance augmente progressivement avec l'augmentation de la polarité du solvant d'extraction utilisé (Bampouli et al., 2014; Botsaris et al., 2015; Amel et al., 2016). Des études récentes ont montré que des facteurs externes tels que les facteurs géographiques et climatiques, la saison de récolte et l'organe utilisé, et des facteurs internes tels que les facteurs génétiques, la maturité des plantes et le temps de stockage ont un impact important sur leur teneur en composés phénoliques (Falleh et al., 2008)

Le dosage des composés phénoliques a révélé et montré la richesse de nos extraits en polyphénols et flavonoïdes pour les deux extraits EEL et EMP. A l'opposé de l'extrait EEF qui est révélé moins riche en polyphénols totaux avec une quantité en flavonoïdes faible en le comparant aux deux autres extraits, ce qui confirme son faible effet antibactérien. Selon Mezni et al., (2015), la forte teneur en composés phénoliques de l'extrait peut être responsable de leur efficacité car il existe une corrélation positive entre le contenu en composés phénoliques et l'activité antimicrobienne.

Le criblage des propriétés antibactériennes des échantillons de *C.laciniata* et *P. lentiscus*, suggère que ces extraits ont une activité antibactérienne, mais la sensibilité varie légèrement entre toutes les souches bactériennes Gram (+) et Gram (-). Cela a été confirmé par la grande sensibilité de *S.aureus* vis-à-vis de tous les extraits et la résistance des Gram (-) comme *E.coli* et *P.mirabilis* en les comparant à ces dernières. Cet écart de sensibilité serait due au fait que les bactéries Gram (-) ont une couche de peptidoglycane coincée entre la membrane plasmique et la couche externe, composée de lipopolysaccharides et de protéines, formant ainsi une barrière imperméable aux substances qui peuvent pénétrer et inhiber la croissance bactérienne. En revanche, pour les bactéries Gram (+), il n'y a pas cette barrière, ce qui permet le contact direct des composés phénoliques avec les phospholipides de la bicouche membranaire de cellules. Ceci entraîne une augmentation de perméabilité aux ions et passage des composants, ce qui provoque le changement de système enzymatique intracellulaire important et nécessaire pour la survie des bactéries (Abdallah et al., 2019). Il a été signalé aussi par Papuc et al., (2017) que le contact direct des composés phénoliques avec les peptidoglycans de la paroi des bactéries Gram(+) conduit à la perte de leur rigidité ce qui provoque la lyse de ces dernières sous la pression osmotique provoquant ainsi l'altération de leur membrane cellulaire.

Cette variabilité de l'efficacité des extraits de plantes peut aussi dépendre de leur composition chimique qui peut-être liée à la polarité des substances biologiquement actives ; en revanche un composé moins polaire comme les flavonoïdes sans groupe hydroxyle OH est plus efficace que les agents microbiens avec hydroxyle. D'autre part, on trouve que les flavonoïdes trihydroxylés sur le cycle B et substitués en 3-OH sont nécessaires pour l'activité antimicrobienne (Daglia, 2012).

Contrairement à d'autres études qui ont montré que le site et le nombre de groupes hydroxyles sur un groupe phénolique est lié à sa toxicité relative pour les micro-organismes, une hydroxylation accrue entraîne une toxicité accrue. De plus, certains auteurs ont constaté que plus les composés phénoliques sont fortement oxydés, plus ils seront inhibiteurs (Cowan, 1999). Selon Candan *et al.*, 2003, les substances solubles dans l'eau (hydrosoluble) jouent un rôle plus faible par rapport aux substances non solubles. Cela signifie probablement la capacité des molécules liposolubles à s'insérer dans la membrane cellulaire bactérienne et provoquer des dégâts, cela a été montré par Daglia, (2011). Les flavonoïdes lipophiles peuvent perturber les membranes microbiennes en formant des complexes avec des protéines extracellulaires des microorganismes.

(Bouزيد *et al.*, 2011) ont démontré que les extraits méthanoliques d'aubépine contenaient de grandes quantités de polyphénols (y compris des flavonoïdes, des tanins, des acides phénoliques, des terpènes et des pectines), mais ne présentaient qu'une faible activité antibactérienne contre les souches testées. Son activité peut être masquée par la présence de sucres. Selon les recherches de Gundogdu *et al.*, (2014), le fructose est le principal sucre de l'aubépine, avec une teneur de 18,378g/100g. Cela peut justifier l'activité modeste de l'extrait et notamment notre extrait EEL.

Les flavan-3-ols et les flavonols ont l'avantage d'attirer l'attention en raison d'une large application par rapport aux autres polyphénols par son spectre antibactérien et sa forte activité antibactérienne caractérisée par l'inhibition de divers facteurs de virulence microbienne, telles que l'inhibition de formation de biofilm, adhésion réduite et neutralisation des ligands hôtes et les toxines bactériennes et leur capacité à établir une synergie avec certains antibiotiques (Daglia, 2011), ce qui est montré par la forte activité antibactérienne des deux extraits EEL et EMP de fait que leur richesse en flavonoïdes, en revanche la faible activité de EEF a été due à son manque de flavonoïdes.

Selon Bashige et *al.*, 2020, la densité de l'inoculum microbien est un élément essentiel et doit être ajustée à l'aide d'un photomètre ou en comparant à un étalon d'opacité ou de turbidité, la norme recommandée est Mc Farland.

L'activité antifongique de nos extraits peut être liée à la capacité largement répandue de ces flavonoïdes à inhiber la germination des spores des agents pathogènes des plantes. Différents mécanismes proposés jusqu'à présent pour expliquer l'activité antibactérienne des tanins y compris l'inhibition des enzymes microbiennes extracellulaires, la privation de substrats nécessaires à la croissance microbienne ou effet direct sur le métabolisme microbien en inhibant la phosphorylation oxydative (Cowan, 1999). Selon Papuc et *al.*, (2017), un autre mécanisme par la préservation en fer est impliqué. De nombreux microbes peuvent surmonter les défenses végétales à base de tanins. Ils peuvent détoxifier les tanins par la synthèse de polymères en les complexant, ou par la synthèse des sidérophores.

L'activité d'un extrait est probablement due à la présence de synergie entre un nombre de composants, qui lorsqu'ils sont séparés deviennent inactifs individuellement (Alam et *al.*, 2021). Ceci justifie la variabilité d'effet inhibiteur de l'extrait EMP dans l'activité antifongique par rapport à l'extrait EEL à cause de l'étape de délipidation qu'elle a subi.

*Conclusion
générale*

L'émergence de la résistance aux antibiotiques à travers toutes les souches bactériennes pathogènes a profondément troublé le milieu médical exprimant un besoin urgent pour de nouvelles classes d'antibiotiques. C'est pourquoi l'investigation pharmacologique des plantes médicinales traditionnelles reste importante pour offrir des bases scientifiques pour l'usage traditionnel des plantes et fournir à la société de nouvelles sources de médicaments sains et efficaces.

Les objectifs visés par ce travail sont l'extraction et la détermination de la composition chimique des extraits éthaloniques de feuilles et de fruits de *C.laciniata* et l'extrait méthalonique des fruits de *P.lentiscus* ainsi que l'évaluation qualitative et quantitative des effets antimicrobien de ces extraits.

La méthode d'extraction par ultrasons adoptée vise à extraire et à sélectionner les composés phénoliques à partir des deux plantes et elle permet de retenir des rendements de l'ordre de 30,82% et 50,21% pour les fruits et les feuilles de *C.laciniata* respectivement mais également de 25,39% à partir des fruits de *P.lentiscus*.

Les résultats du dosage des composés phénoliques contenus dans ces différents extraits ont révélé des teneurs considérables avec des quantités appréciables en polyphénols notamment en phénols totaux et flavonoïdes de l'ordre de 324,91±26.02 mg EAG/g, 11.07±0.42 mg EQ/ g MS pour l'EMP et 100,44± 1,67mg EAG/ g MS, 2,84±0,0024mg EQ/ g MS respectivement pour l'EEF et de 301,75± 10,96mg EAG/ g MS, 11,069 ±0,426mg EQ/ g MS respectivement pour l'EEL.

L'activité antimicrobienne a été déterminée in vitro qualitativement et quantitativement sur sept souches bactériennes à savoir *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Echerichia coli*, *Pseudomonas aerogenosa* et cinq souches fongiques *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Fusarium oxysporum* et *Botrytis cinerea*, selon la méthode de diffusion. Les résultats de l'activité antibactérienne révèlent que les plus hauts niveaux d'activités marqués ont été enregistrés par l'extrait éthalonique des feuilles de *C.laciniata* et l'extrait méthalonique des fruits de *P.lentiscus* contre un des souches testées avec des degrés de sensibilité variables allant d'un diamètre d'inhibition de l'ordre de 17 mm à 31 mm, suivi par des activités légèrement moins importantes à absentes pour l'extrait de fruits de *C.laciniata*. Concernant l'activité antifongique, les résultats obtenus ont montré que les extraits des deux plantes ont été dotés d'une activité modérément à légèrement inhibitrice vis-à-vis de toutes les souches fongiques, avec des degrés de sensibilité variables allant de 15 à 24,5 mm. Les souches les plus sensibles ont enregistré les plus petites valeurs des CMI et pour 50 % d'inhibition (IC₅₀).

Ainsi, ces résultats indiquent que les composés isolés de *P. lentiscus* et *C.laciniata* peuvent être des molécules phytopharmaceutiques d'intérêt. D'autres propriétés biologiques devraient être étudiées pour évaluer son potentiel pharmacologique et pour comprendre le mécanisme d'action de ses composés.

Les résultats de cette étude fournissent une vue d'ensemble du potentiel antimicrobien des extraits de *P. lentiscus* et *C.lacinita*. Par conséquent, il est recommandé de poursuivre des études sur ces extraits, avec les perspectives suivantes :

1. Réaliser des tests complémentaires pour évaluer les autres activités biologiques de ces plantes,
2. Purifier et identifier les composés présentant une activité antimicrobienne à partir de ces deux plantes, tout en déterminant leur mode d'action. Il serait également important de tester leur toxicité *in vivo* afin de développer des traitements naturels des maladies infectieuses mieux tolérés,
3. Tester d'autres souches microbiennes avec d'autres méthodes d'extraction et d'autres solvants,
4. Tester l'effet antimicrobien des extraits de ces deux plantes *in vivo*,
5. Déterminer d'autres paramètres antibactériens tels que les concentrations minimales bactéricides.

Références bibliographiques

A

- Abdallah, R. B., Frikha, D., Maalej, S., & Sassi, (2016). *Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre espèces algales marines in vitro evaluation of the antibacterial and antifungal activities of marine algae*. J.I. M. Sfax, N°31
- Aissat, A. K., Chaher-Bazizi, N., Richard, T., Kilani-Atmani, D., Pedrot, E., Renouf, E., Atmani, D., & Valls Fonayet, J. (2022). Analysis of individual anthocyanins, flavanols, flavonols and other polyphenols in *Pistacia lentiscus* L. fruits during ripening. *Journal of Food Composition and Analysis*, 106, 104286.
- Alam, S., Rashid, M. A., Sarker, M. M. R., Emon, N. U., Arman, M., Mohamed, I. N. & Haque, M. R. (2021). Antidiarrheal, antimicrobial and antioxidant potentials of methanol extract of *Colocasia gigantea* Hook. f. leaves : Evidenced from in vivo and in vitro studies along with computer-aided approaches. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1), 1-12.
- AL-Saghir, M. G., & Porter, D. M. (2012). Taxonomic revision of the genus *Pistacia* L. (Anacardiaceae). *American Journal of Plant Sciences*, 3(1), 12.
- Álvarez-Martínez, F. J., Barrajon-Catalán, E., Encinar, J. A., Rodríguez-Díaz, J. C., & Micol, V. (2020). Antimicrobial Capacity of Plant Polyphenols against Gram-positive Bacteria : A Comprehensive Review. *Current Medicinal Chemistry*, 27(15), 2576-2606.
- Amel, Z., Nabila, B.-B., Nacéra, G., Fethi, T., & Fawzia, A.-B. (2016). Assessment of phytochemical composition and antioxidant properties of extracts from the leaf, stem, fruit and root of *Pistacia lentiscus* L. *Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res*, 8, 627-633.
- Amhamdi, H., Aouinti, F., Wathélet, J. P., & Elbachiri, A. (2009). Chemical Composition of the Essential Oil of *Pistacia lentiscus* L. from Eastern Morocco. *Records of Natural Product*.
- Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of ethnopharmacology*, 99(3), 325-348.
- Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., & Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112(2), 303-309.
- Bachiri, L., Daoudi, A., Labazi, N., & and Laila Nassiri, J. I. (2015). Étude floristique du val d'Ifrane «Bassin versant du Oued Tizguit». *Journal of Animal & Plant Sciences*, 26(1), 3977-4006.
- Baba-Aissa (1999). Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, p:1-218.
- Bammou, M., Daoudi, A., Slimani, I., Najem, M., Bouiamrine, E. H., Ibijbijen, J., & Nassiri, L. (2015). Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.» : Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of applied biosciences*, 86, 7966-7975.

- Bampouli, A., Kyriakopoulou, K., Papaefstathiou, G., Louli, V., Krokida, M., & Magoulas, K. (2014). Comparison of different extraction methods of *Pistacia lentiscus* var. chia leaves : Yield, antioxidant activity and essential oil chemical composition. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 1(3), 81-91.
- Barbouchi, M., Elamrani, K., & El Idrissi, M. (2020). A comparative study on phytochemical screening, quantification of phenolic contents and antioxidant properties of different solvent Extracts from various parts of *Pistacia lentiscus* L. *Journal of King Saud University-Science*, 32(1), 302-306.
- Brian J. Werth. , PharmD, University of Washington School of Pharmacy. Revue/Révision complète juin 2022
- Bashige, V. C., Bakari, A. S., Okusa, P. N., Kalonda, E. M., & Lumbu, J. B. S. (2020). Criblage phytochimique et activité antimicrobienne de six rhizomes comestibles utilisés en médecine traditionnelle à Lubumbashi (RDC). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14(4), 1367-1380.
- Belabdelli, F., Bekhti, N., Piras, A., Benhafsa, F. M., Ilham, M., Adil, S., & Anes, L. (2022). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activity of *Crataegus monogyna* leaves' extracts. *Natural Product Research*, 36(12), 3234-3239.
- Beldi, M., Merzougui, H., & Lazli, A. (2021). Etude ethnobotanique du Pistachier lentisque *Pistacia lentiscus* L. dans la wilaya d'El Tarf (Nord-est algérien)—Ethnobotanical study of *Pistacia lentiscus* L. in El Tarf region (Northeastern Algeria). *Ethnobotany Research and Applications*, 21.
- Belhachat, F., & Larbes, C. (2017). Global maximum power point tracking based on ANFIS approach for PV array configurations under partial shading conditions. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 77, 875-889.
- Ben Khedir, S., Mzid, M., Bardaa, S., Moalla, D., Sahnoun, Z., & Rebai, T. (2016). In Vivo Evaluation of the Anti-Inflammatory Effect of *Pistacia lentiscus* Fruit Oil and Its Effects on Oxidative Stress. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, 1-12.
- Benabderrahmane, W., Lores, M., Benaissa, O., Lamas, J. P., de Miguel, T., Amrani, A., Benayache, F., & Benayache, S. (2021). Polyphenolic content and bioactivities of *Crataegus oxyacantha* L. (Rosaceae). *Natural product research*, 35(4), 627-632.
- Benmalek, Y., Yahia, O. A., Belkebir, A., & Fardeau, M.-L. (2013). Anti-microbial and antioxidant activities of *Illicium verum*, *Crataegus oxyacantha* ssp *monogyna* and *Allium cepa* red and white varieties. *Bioengineered*, 4(4), 244-248.
- Benyoussef, E.-H., Charchari, S., Nacer-Bey, N., Yahiaoui, N., Chakou, A., & Bellatreche, M. (2005). The Essential Oil of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 17(6), 642-644.

- Bhourri, W., Derbel, S., Skandrani, I., Boubaker, J., Bouhlel, I., Sghaier, M. B., Kilani, S., Mariotte, A. M., Dijoux-Franca, M. G., Ghedira, K., & Chekir-Ghedira, L. (2010). Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Toxicology in Vitro*, 24(2), 509-515.
- Botsaris, G., Orphanides, A., Yiannakou, E., Gekas, V., & Goulas, V. (2015). Antioxidant and antimicrobial effects of *Pistacia lentiscus* L. extracts in pork sausages. *Food technology and biotechnology*, 53(4), 472-478.
- Boudieb, K., Kaki, S. A. S.-A., & Amellal-Chibane, H. (2019). Traditional uses, phytochemical study and morphological characterization of *Pistacia lentiscus* L. fruits from three areas of northern Algeria. *Journal of Applied Biosciences*, 135(1), 13788.
- Bouyahya, A., Abrini, J., Dakka, N., & Bakri, Y. (2019). Essential oils of *Origanum compactum* increase membrane permeability, disturb cell membrane integrity, and suppress quorum-sensing phenotype in bacteria. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 9(5), 301-311.
- Bouزيد, W., Yahia, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. *Lebanese Science Journal*, 12(1), 59-69.
- Brian J. Werth. , PharmD, University of Washington School of Pharmacy (2022). REVUE GENERALE DES BACTERIES.Revue/Révision complète .
- Chabasse D, Bouchra J-P, De Gentile L, Brun S, Cimon B, Penn P. 2002. Les Moisissures d'Intérêt Médical. Cahier de formation N° 25, Bioforma : Paris ; 160.
- Caliskan, O. (2015). Mediterranean Hawthorn Fruit (*Crataegus*) Species and Potential Usage. In *The Mediterranean Diet*.Elsevier (p. 621-628).
- Calvo, J., Ufimov, R. A., & Aedo, C. (2015). *Proposal to conserve the name Crataegus laciniata (Rosaceae) with a conserved type*.
- Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A., & Akpulat, H. A. (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *Millefolium* Afan.(Asteraceae). *Journal of ethnopharmacology*, 87(2-3), 215-220.
- Carle, S. (2009). La résistance aux antibiotiques : Un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*, 42(2), 6-21.
- Catalano, L, Huston, S B Amini, S C Kalhan(1999). Longitudinal changes in glucose metabolism during pregnancy in obese women with normal glucose tolerance and gestational diabetes mellitus.Am J Obstet Gynecol. ;180(4):903-16
- Chira, K., Suh, J.-H., Saucier, C., & Teissèdre, P.-L. (2008). Les polyphénols du raisin.

Phytothérapie, 6(2), 75-82.

Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totté, J., Pieters, L., & Vlietinck, A. J. (2002). Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of ethnopharmacology*, 79(2), 213-220.

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.

Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343-356.

Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174-181.

Dahmoune, F., Spigno, G., Moussi, K., Remini, H., Cherbal, A., & Madani, K. (2014). Pistacia lentiscus leaves as a source of phenolic compounds : Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction. *Industrial Crops and Products*, 61, 31-40.

Debbabi, H., Nemri, K., & Riahi, H. (2017). *Antimicrobial Effects of Pistacia lentiscus L. Foliar Extracts on fresh turkey breast cutlets*. 40.

De Billerbeck, V.-G. (2007). Essential oils and antibiotic-resistant bacteria. *Phytotherapie*, 5, 249-253.

Diatta, B. D., Niass, O., Gueye, M., Houël, E., & Boetsch, G. (2022). Diversité Et Activité Antimicrobienne Des Plantes Impliquées Dans Le Traitement Des Affections Dermatologiques Chez Les Peul Et Les Wolof Du Ferlo Nord (Sénégal). *Journal, ESJ*, 18(8), 73.

Djebari, S., Wrona, M., Boudria, A., Salafranca, J., Nerin, C., Bedjaoui, K., & Madani, K. (2021). Study of bioactive volatile compounds from different parts of Pistacia lentiscus L. extracts and their antioxidant and antibacterial activities for new active packaging application. *Food Control*, 120, 107514.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Maamri, S., Djireb, F., & Stocker, P. (2006). Phenolic extracts from various Algerian plants as strong inhibitors of porcine liver carboxylesterase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 21(6), 719-726.

Duval, R. E., Grare, M., & Demoré, B. (2019). Fight Against Antimicrobial Resistance : We Always Need New Antibacterials but for Right Bacteria. *Molecules*, 24(17), 3152.

- El Gharras, H. (2009). Polyphenols : Food sources, properties and applications - a review: **Nutraceutical polyphenols**. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(12), 2512-2518.
- Elloumi, W., Maalej, A., Ortiz, S., Michel, S., Chamkha, M., Boutefnouchet, S., & Sayadi, S. (2022). Pistacia lentiscus L. Distilled Leaves as a Potential Cosmeceutical Ingredient : Phytochemical Characterization, Transdermal Diffusion, and Anti-Elastase and Anti-Tyrosinase Activities. *Molecules*, 27(3), 855.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs, and their biological activities. *Comptes rendus biologiques*, 331(5), 372-379.
- Fertout-Mouri, N., Latreche, A., Mehdadi, Z., & Bengherraz, Z. (2016). Activité antibactérienne de quatre extraits de Teucrium polium L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). Antibacterial activity of four extracts of Teucrium polium L. of Tessala mount (western Algeria). *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège*.
- Gundogdu, M., Ozrenk, K., Ercisli, S., Kan, T., Kodad, O., & Hegedus, A. (2014). Organic acids, sugars, vitamin C content and some pomological characteristics of eleven hawthorn species (Crataegus spp.) from Turkey. *Biological Research*, 47(1), 1-5.
- Hanus, M., Lafon, J., & Mathieu, M. (2004). Double-blind, randomised, placebo-controlled study to evaluate the efficacy and safety of a fixed combination containing two plant extracts (Crataegus oxyacantha and Eschscholtzia californica) and magnesium in mild-to-moderate anxiety disorders. *Current medical research and opinion*, 20(1), 63-71.
- Hemma, R., Belhadj, S., Ouahchia, C., & Saidi, F. (2018). Antioxidant activity of Pistacia lentiscus methanolic extracts. *Revue agrobiologia*, 8(1), 845-852.
- Kaloustian, J., Chevalier, J., Mikail, C., Martino, M., Abou, L., & Vergnes, M.-F. (2008). Étude de six huiles essentielles : Composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*, 6(3), 160-164.
- Kostić, D., Velicković, J., Mitić, S., Mitić, M., & Randelović, S. (2012). Phenolic Content, and Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Crataegus Oxyacantha* L (*Rosaceae*) Fruit Extract from Southeast Serbia. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11(1), 117-124.
- Kumar, D., Arya, V., Bhat, Z. A., Khan, N. A., & Prasad, D. N. (2012). The genus Crataegus : Chemical and pharmacological perspectives. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22, 1187-1200.
- Lamia Benguedouar(2022). Guide de bonnes pratiques sur l'huile de fruit du lentisque : du terrain au laboratoire. l'AIFM Association Internationale des Forêts Méditerranéennes ISBN: ISBN: 978-2-494188-01-3

Li, F., Yuan, Q., & Rashid, F. (2009). Isolation, purification and immunobiological activity of a new water-soluble bee pollen polysaccharide from *Crataegus pinnatifida* Bge. *Carbohydrate polymers*, 78(1), 80-88.

Ljubuncic, P., Azaizeh, H., Cogan, U., & Bomzon, A. (2006). The effects of a decoction prepared from the leaves and unripe fruits of *Crataegus aronia* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 3(1).

Madrau, M. A., Piscopo, A., Sanguinetti, A. M., Del Caro, A., Poiana, M., Romeo, F. V., & Piga, A. (2009). Effect of drying temperature on polyphenolic content and antioxidant activity of apricots. *European food research and technology*, 228, 441-448.

Marilena Idžojtić (2019). *Pistacia – Quillaja. Dendrology: Cones, Flowers, Fruits and Seeds* (pp.495-555).

Martin, S., & Andriantsitohaina, R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 51(6), 304-315.

Martinelli, F., Perrone, A., Yousefi, S., Papini, A., Castiglione, S., Guarino, F., Cicatelli, A., Aelaei, M., Arad, N., Gholami, M., & Salami, S. (2021). Botanical, Phytochemical, Anti-Microbial and Pharmaceutical Characteristics of Hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.), Rosaceae. *Molecules*, 26(23), 7266.

Mecherara-Idjeri, S., Hassani, A., Castola, V., & Casanova, J. (2008). Composition and Chemical Variability of the Essential Oil from *Pistacia lentiscus* L. Growing Wild in Algeria Part I : Leaf Oil. *Journal of Essential Oil Research*, 20(1), 32-38.

Mehenni, C., Atmani-Kilani, D., Dumarçay, S., Perrin, D., Gérardin, P., & Atmani, D. (2016). Hepatoprotective and antidiabetic effects of *Pistacia lentiscus* leaf and fruit extracts. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(3), 653-669.

Mezni, F., Aouadhi, C., Khouja, M. L., Khaldi, A., & Maaroufi, A. (2015). *In vitro* antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* L. edible oil and phenolic extract. *Natural Product Research*, 29(6), 565-570.

Milia, E., Bullitta, S. M., Mastandrea, G., Szotáková, B., Schoubben, A., Langhansová, L., Quartu, M., Bortone, A., & Eick, S. (2021). Leaves and Fruits Preparations of *Pistacia lentiscus* L. : A Review on the Ethnopharmacological Uses and Implications in Inflammation and Infection. *Antibiotics*, 10(4), 425.

Moldovan, C., Frumuzachi, O., Babotă, M., Menghini, L., Cesa, S., Gavan, A., Sisea, C. R., Tanase, C., Dias, M. I., & Pereira, C. (2021). Development of an Optimized Drying Process for the Recovery of Bioactive Compounds from the Autumn Fruits of *Berberis vulgaris* L. and

Crataegus monogyna Jacq. *Antioxidants*, 10(10), 1579.

Moudache, M., Silva, F., Nerín, C., & Zaidi, F. (2021). Olive cake and leaf extracts as valuable sources of antioxidant and antimicrobial compounds : A comparative study. *Waste and Biomass Valorization*, 12(3), 1431-1445.

Muylaert, A., & Mainil, J. (2013). Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur « contagiosité ». *Annales de Médecine Vétérinaire*, 156, 109.

Nacira, A., Atika, B., Chahira, A., & Houria, B. (2019). *ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE DE L'HUILE ESSENTIELLE DES FRUITS DU PISTACHIER LENTISQUE (PISTACIA LENTISCUS L.)* Revue Agrobiologia9(2): 1669-1676.

Papuc, C., Goran, G. V., Predescu, C. N., Nicorescu, V., & Stefan, G. (2017). Plant Polyphenols as Antioxidant and Antibacterial Agents for Shelf-Life Extension of Meat and Meat Products : Classification, Structures, Sources, and Action Mechanisms: Polyphenols extending meat shelf-life.... *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(6), 1243-1268.

Ponce, A. G., Roura, S. I., del Valle, C. E., & Moreira, M. R. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts : In vitro and in vivo studies. *Postharvest biology and technology*, 49(2), 294-300.

Prabhu, S., Molath, A., Choksi, H., Kumar, S., & Mehra, R. (2021). Classifications of polyphenols and their potential application in human health and diseases. *Int. J. Physiol. Nutr. Phys. Educ*, 6(1), 293-301.

Prescott, J. F. (2013). Beta-lactam Antibiotics : Penam Penicillins. In S. Giguère, J. F. Prescott, & P. M. Dowling (Éds.), *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine* (1^{re} éd., p. 133-152).

Rababa'h, A. M., Al Yacoub, O. N., El-Elimat, T., Rabab'ah, M., Altarabsheh, S., Deo, S., Al-Azayzih, A., Zayed, A., Alazzam, S., & Alzoubi, K. H. (2020). The effect of hawthorn flower and leaf extract (Crataegus Spp.) on cardiac hemostasis and oxidative parameters in Sprague Dawley rats. *Heliyon*, 6(8), e04617.

Rasouli, H., Farzaei, M. H., & Khodarahmi, R. (2017). Polyphenols and their benefits : A review. *International Journal of Food Properties*, 20(sup2), 1700-1741.

Ribéreau-Gayon, J. and Peynaud, E. (1968) Les composés phénoliques des végétaux, Traité d'oenologie. Edition Dunod, Paris.

Ref'at, A. A., Takruri, H. R., & Al-Sayyed, H. (2008). Tannin contents of selected plants used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 4(3), 265-274.

Remila, S., Atmani-Kilani, D., Delemasure, S., Connat, J.-L., Azib, L., Richard, T., & Atmani, D. (2015). Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. *European Journal of Integrative Medicine*, 7(3), 274-286.

Rhouma, A., Ben Daoud, H., Ghanmi, S., Ben Salah, H., Romdhane, M., & Demak, M. (2009). Antimicrobial activities of leaf extracts of *Pistacia* and *Schinus* species against some plant pathogenic fungi and bacteria. *Journal of Plant Pathology*, 339-345.

Rigelsky, J. M., & Sweet, B. V. (2002). Hawthorn : Pharmacology and therapeutic uses. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 59(5), 417-422.

Schröder, D., Weiser, M., & Klein, P. (2003). Efficacy of a homeopathic *Crataegus* preparation compared with usual therapy for mild (NYHA II) cardiac insufficiency : Results of an observational cohort study. *European Journal of Heart Failure*, 5(3), 319-326.

Selim, S., Almuhayawi, M. S., Alharbi, M. T., Al Jaouni, S. K., Alharthi, A., Abdel-Wahab, B. A., Ibrahim, M. A. R., Alsuhaibani, A. M., Warrad, M., & Rashed, K. (2022). Insights into the Antimicrobial, Antioxidant, Anti-SARS-CoV-2 and Cytotoxic Activities of *Pistacia lentiscus* Bark and Phytochemical Profile; In Silico and In Vitro Study. *Antioxidants*, 11(5), 930.

Soulaidopoulos, S., Tsiogka, A., Chrysohoou, C., Lazarou, E., Aznaouridis, K., Doundoulakis, I., Tyrovola, D., Tousoulis, D., Tsioufis, K., Vlachopoulos, C., & Lazaros, G. (2022). Overview of Chios Mastic Gum (*Pistacia lentiscus*) Effects on Human Health. *Nutrients*, 14(3), 590.

Tadić, V. M., Dobrić, S., Marković, G. M., Đorđević, S. M., Arsić, I. A., Menković, N. R., & Stević, T. (2008). Anti-inflammatory, gastroprotective, free-radical-scavenging, and antimicrobial activities of hawthorn berries ethanol extract. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(17), 7700-7709.

Tony Hart and Paul Shears, Atlas de poche de microbiologie, 1er édition, MEDECINE SCIENCES- Flammarion, Paris, (1997).

Trabelsi, H., Cherif, O. A., Sakouhi, F., Villeneuve, P., Renaud, J., Barouh, N., Boukhchina, S., & Mayer, P. (2012). Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. *Food Chemistry*, 131(2), 434-440.

Verma, S. K., Jain, V., Verma, D., & Khamesra, R. (2007). *Crataegus oxyacantha*-A cardioprotective herb. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*, 1(1), 65-71.

Vikrant, A. K., Jha, R. S., & Kumar, A. (2012). Comparison of underwater laser communication system with underwater acoustic sensor network. *International Journal of Scientific and Engineering Research*.

Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M.-C., & Ayachi, A. (2011). Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*, 9(4), 209-218.

Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D., & Korich, M. N. O. (2001). *Classification et mode d'action des antibiotiques*. Médecine du Maghreb n°91.

Yala, J.-F., Ntsameso-Mve-Mba, V., Issembe, Y. A., Lepengue, N. A., & Souza, A. (2016). Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*Eryngium foetidum* récolté dans la ville de Franceville. *Journal of Applied Biosciences*, 103, 9886-9893.

Yanar, M., Ercisli, S., Yilmaz, K. U., Sahiner, H., Taskin, T., Zengin, Y., Akgul, I., & Celik, F. (2011). Morphological and chemical diversity among hawthorn (*Crataegus* spp.) genotypes from Turkey. *Scientific Research and Essays*, 6(1), 35-38.

Yemmen, M., Landolsi, A., Hamida, J. B., Mégraud, F., & Ayadi, M. T. (2017). Antioxidant activities, anticancer activity and polyphenolics profile, of leaf, fruit and stem extracts of *Pistacia lentiscus* from Tunisia. *Cellular and molecular biology*, 63(9), 87-95.

Zitouni, A., Chekroun-Bechlaghem, N., Ghembaza, N., & Belyagoubi-Benhammou, N. (2022). *Lentisk fruits (Pistacia lentiscus L.) as sources of phytochemicals with potential health benefits : A review*.

Annexes

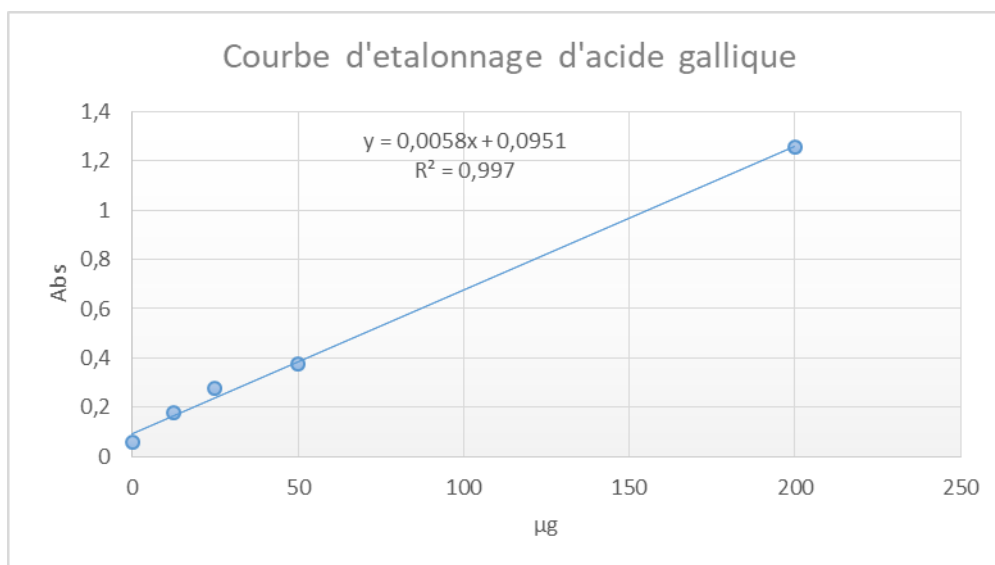


Figure1 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique

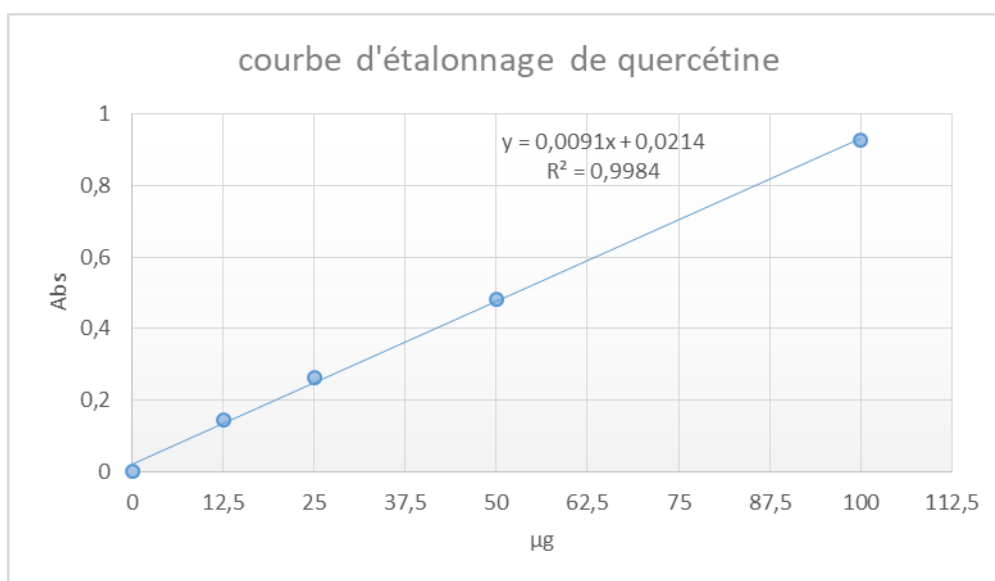


Figure2 : courbe d'étalonnage de la quercétine

Préparation des milieux de cultures

Les milieux de cultures utilisés dans l'évaluation de l'activité antimicrobienne sont préparés de la façon suivante :

- Gélose nutritive : mettre 28g de la poudre Nutrient Agar dans 1L de l'eau distillé.
- Gélose Muller-Hinton : 38g de la poudre Mueller Hinton Agar dans 1L de l'eau distillé.
- Gélose Sabouroud : 65g de la poudre Sabouroud Dextrose dans 1L de l'eau distillé.
- Bouillon Muller-Hinton : 23g de la poudre Mueller Hinton Broth dans 1L de l'eau distillé.



Figure 3 : les poudres utilisées pour la préparation des milieux de cultures (**Original**)

- Mélanger chaque poudre de milieu de culture dans l'eau distillé dans un erlenmeyer sous une plaque chauffante avec agitation jusqu'à que la poudre se dissout complètement et avoir une solution bien homogénéisée.
- Verser les solutions dans des flacons en verre.
- On met la stérilisation et la surfusion de milieu de culture (Muller Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les champignons) à l'aide d'autoclave pendant 15 min à 121°C (**Harrar, . 2012**).



Figure 4 : les étapes de préparation des milieux de cultures utilisés (Original)

Préparation des extraits :

Les différents extraits préparés précédemment ont été dilués dans le DMSO en raison de 80mg/ml pour chaque extrait.



Figure 5 : Dilution des extraits secs dans le DMSO (Original)

Produits chimiques et réactifs

Le tableau suivant représente les produits chimiques utilisés :

Tableau VII : Différents produits chimiques et leurs utilisations et appareillages.

Appareillage	Produits chimiques
Balance de précision(RADWAG),	Méthanol(BiOCHEM Chimopharma) ;
Bain marie (memmert),	Ethanol(Honeywell)
Vortex (neuation),	Folin Ciocalteu ,
Ecouvillon stérile,	Carbonate de sodium (BiOCHEM
Etuve(Ecocell),	Chemopharma).
Autoclave (nuve),	Acide gallique (SIGMA-ALDRICH-
Rotavapeur (Heidolph),	China).

Disques en papier stériles microplaque(VELP), Sonicateur (Raypa), Soxhlet(barnstead Electrothermal) Spectrophotomètre Lyophilisateur Plaque chauffante	Quercétine (ALDRICH Chemistry) Diméthyle sulfoxyde (DMSO), (Biochiem chemopharma). Hexane (Sigma-aldich) Tetracycline de 30µg (REF : 9043). Un antifongique (flucanazole). Sabouraud gélose (Liofichem srl- ITALY). Gélose nutritive (HIMEDIA Mueller Hinton bouillon Mueller Hinton gélose
---	--

Résumé

Résumé :

La présente étude a été menée pour évaluer l'activité antimicrobienne extraits des fruits et feuilles de *Crataegus laciniata* et les fruits de *Pistacia lentiscus*, testés *in vitro* qualitativement et quantitativement pour évaluer leur activité antimicrobienne vis-à-vis sept souches bactériennes et cinq souches fongiques par la méthode des disques (DI) et celle de micro-dilutions sur milieu liquide (CMI). Les résultats de l'activité antibactérienne montrent que les plus hauts niveaux d'activités marqués ont été enregistrés par l'extrait éthanolique des feuilles de *C. laciniata* et l'extrait méthanolique des fruits de *P. lentiscus* contre un large spectre de bactéries Gram (+) et Gram (-), par rapport l'extrait de fruits de *C. laciniata* qui a montré des activités légèrement moins importantes à absentes ($p < 0,0001$). Les résultats de l'activité antifongique ont montré que les extraits des deux plantes sont dotés d'une activité modérément à légèrement inhibitrice *vis-à-vis* toutes les souches fongiques. Les résultats de la présente étude ont révélé que ces deux plantes semblent avoir un potentiel immense en tant que source de composés antibactériens et antifongiques, ils pourraient être utilisés dans le traitement des maladies causées par ces organismes.

Mots clés : *Crataegus laciniata*, *Pistacia lentiscus*, activité antimicrobienne, DI, CMI, souches bactériennes, souches fongiques.

Abstract:

The present study was carried out to evaluate the antimicrobial activity of extracts of *Crataegus laciniata* fruits and leaves and *Pistacia lentiscus* fruits, tested *in vitro* qualitatively and quantitatively to assess their antimicrobial activity against seven bacterial and five fungal strains by the disc method (DI) and the liquid micro-dilution method (MIC). The results for antibacterial activity show that the highest levels of labelled activity were recorded by the ethanolic extract of *C. laciniata* leaves and the methanolic extract of *P. lentiscus* fruits against a broad spectrum of Gram (+) and Gram (-) bacteria, compared with the *C. laciniata* fruit extract which showed slightly lower to absent activity ($p < 0.0001$). Antifungal activity results showed that extracts from both plants were moderately to slightly inhibitory against all fungal strains. The results of the present study revealed that these two plants appear to have immense potential as a source of antibacterial and antifungal compounds, for use in the treatment of diseases caused by these organisms.

Key words: *Crataegus laciniata*, *Pistacia lentiscus*, antimicrobial activity, ID, MIC, bacterial strains, fungal strains.

ملخص

أجريت هذه الدراسة لتقييم النشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات ثمار وأوراق الزعرور البري وثمار نبتة الضرور حيث تم اختبارها في المختبر من حيث النوعية والكمية ضد سبع سلالات بكتيرية وخمس سلالات فطرية بطريقة الأقراص والتخفيفات في وسط سائل. أظهرت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا النشاط الملحوظ بواسطة المستخلص الإيثانولي لأوراقو المستخلص الميثانولي لثمار الضرور مقارنة بالمستخلص الإيثانولي لثمار الزعرور الذي أظهر نتائج أقل نشاطا إلى غاية. أظهرت نتائج النشاط المضاد للفطريات أن مستخلصات النباتين تتمتع بنشاط مثبط معتدل إلى طفيف ضد جميع السلالات الفطرية. كشفت نتائج الدراسة الحالية أن هذين النباتين يبدو أنهما يتمتعان بإمكانيات هائلة كمصدر للمركبات المضادة للبكتيريا والفطريات التي يمكن استخدامها في علاج الأمراض التي تسببها هذه الكائنات.

الكلمات المفتاحية:

، سلالات بكتيرية ، سلالات MIC ، ID ، نشاط مضاد للميكروبات ، *Pistacia lentiscus* ، *Crataegus laciniata* فطرية