

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master 2

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

N° d'ordre :

N° de série :

Thème

Evaluation de l'activité antibactérienne de deux extraits de la plante *Centaurea dimorpha*

Présenté par : BENLAHRACHE Roumeissa

Le 30/06/2022

BOUKERZAZA Sami Boudjema

Jury d'évaluation :

Encadreur : Dr BELLIL Inès (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : Dr BECHKRI Sakina (MCA- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : Dr BENCHIHEUB Meriem (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2021 – 2022

Remerciements

En premier lieu et avant tout, nous remercions notre bon Dieu Allah le tout puissant, pour sa grande bonté et surtout sa gratification de notre bonne santé, du courage et de la volonté afin de réaliser et finir ce modeste travail dans les meilleures conditions.

Nous adressons nos sincères remerciements à Madame Ines BELLIL maître de conférences (Classe A) à la faculté SNV, Université Frères Mentouri – Constantine 1, d'avoir accepté de nous encadrer, de nous avoir proposé ce travail et de n'avoir jamais lésiné à nous prodiguer conseils et assistances pour une meilleure conception et surtout l'achèvement de ce mémoire.

Nous vous en sommes très reconnaissants Madame Ines BELLIL et en espérant être à la hauteur de votre confiance.

Nous remercions les membres de jury d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.

Nous tenons aussi à présenter notre gratitude pour l'ensemble de nos enseignants qui nous ont transmis leur savoir et leur expérience durant tout notre cursus universitaire et permis ainsi d'atteindre le niveau scientifique nécessaire pour la réalisation de ce travail.

Merci à tous

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie de modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme, mon précieux offre du Bon Dieu Allah, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher papa Mustapha.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable maman Soraya.

A mes adorables frères Walid et Anis qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout le long des mes études. Que Dieu Allah les protège et leurs offre la santé et le bonheur.

A ma grand-mère jijou qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille. Que Dieu Allah lui donne une longue et joyeuse vie pleine de bonne santé.

Ma chère tante karima, pour le goût à l'effort qu'elle a suscité en moi, de par sa rigueur.

A mes meilleurs amis qui je les trouve toujours derrière nous surtout dans les périodes les plus difficiles (ikhlas, aya, malak, chiraz, rayen, zaki,). Je vous aime tellement.

Sans oublier mon binôme SAMI Pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout le long de ce projet.

Dédicace

Avec l'aide de Dieu, Tout Puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je Dédie

A mes très chers parents Abdelmalak et Samira qui m'ont soutenu et Encouragé Durant toute
la période de mes études

A mes chers frères et sœurs : Mohamed Bilel, Akram, Dounia, Chahinez

A mes meilleurs amis : Adel, Housseem

A tous mes amis son exception

A mon binôme Romeissa et toutes les amies.

A tous mes enseignants depuis le primaire jusqu'à l'université

A tous les gens de ma promotion enseignants et étudiants.

A tous ceux qui tiennent une place dans mon cœur, avec lesquels je partage les mots
tendresse, amour et amitié.

Table des matières

<i>Introduction</i>	10
<i>Chapitre I : Synthèse bibliographique</i>	3
1. Présentation de la plante étudiée	4
1.1. La Famille des Astéracées	4
1.1.1. Généralités	4
1.1.2. Caractères botaniques de la famille	4
1.1.3. Classification des astéracées	5
1.1.4. Utilisation des astéracées en médecine traditionnelle	6
1.2. Le genre <i>Centaurea</i>	6
1.2.1. Caractéristique botanique	7
1.2.2. Composition chimique du genre <i>Centaurea</i>	7
1.2.3. Propriétés pharmacologiques du genre <i>Centaurea</i>	8
1.3. L'espèce <i>Centaurea dimorpha</i>	10
1.3.1. Description botanique de la plante	10
1.3.2. Place dans la systématique	10
1.3.3. Synonyme de la plante <i>Centaurea dimorpha</i>	11
1.3.4. Utilisation de la plante.....	11
2. Métabolites secondaires	12
2.1. Définition	12
2.2. Classification	12
2.3. Les composés phénoliques	13
2.3.1. Les acides phénoliques simples	13
2.3.2. Les Flavonoïdes	13
2.3.3. Les tannins	14
2.3.4. Les anthocyanes.....	15
2.3.5. Les coumarines	15
2.3.6. Les Lignines.....	16
2.4. Les Saponosides	17
2.5. Les Terpènes	17

2.6. Les Alcaloïdes	18
3. Activité antibactérienne	19
3.1. Généralités	19
3.2. Les bactéries	19
3.3. Les antibiotiques	20
3.3.1. Mode d'action des antibiotiques	20
3.3.2. Mode d'action des antibiotiques des plantes contre les bactéries	21
3.4. La nature de l'activité antibactérienne	21
3.5. Les différentes méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne	22
3.5.1. La méthode par diffusion	22
3.5.2. Méthode de dilution	22
<i>CHAPITRE II : Matériel et Méthodes</i>	23
1. Préparation du matériel végétal	24
1.1 Séchage et broyage	24
1.2. Extraction des métabolites secondaires	24
2. Etude de l'activité antibactérienne	24
2.1. Les souches bactériennes testées	25
2.1.1. Bactéries Gram (+)	25
2.1.2. Bactéries Gram (-)	26
2.2. Méthode de diffusion des disques	29
2.3. Mode opératoire	30
<i>Chapitre III : Résultats et discussion</i>	34
1. Activité antibactérienne des extraits concentrés et dilués (<i>Centaurea dimorpha</i>)	35
2. Activité antibactérienne de l'extrait Acétate- d'éthyle (<i>Centaurea dimorpha</i>)	36
3. Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol (<i>Centaurea dimorpha</i>)	38
<i>Conclusion générale et perspectives</i>	42
<i>Références Bibliographiques</i>	45
Résumé	56

Liste des figures

Figure 1 : Types des fleurs des plantes d'Astéraceae.....	6
Figure 2 : Photographie représente l'espèce de genre <i>Centaurea dimorpha</i> .	10
Figure 3 : Les différentes classes des composés phénoliques.	13
Figure 4 : Structure de base des anthocyanes.....	15
Figure 5 : Structure de base des coumarines (Harkati, 2011).	16
Figure 6 : Les huit groupes structuraux de lignines (Sullivan, 2011).....	17
Figure 7 : Structure des saponosides.....	17
Figure 8 : Structure de la paroi bactérienne.	20
Figure 9 : <i>Staphylococcus aureus</i> .	25
Figure 10 : <i>Escherichia coli</i> .	27
Figure 11 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	27
Figure 12 : <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	28
Figure 13 : <i>Salmonella</i> .	29
Figure 14 : Préparation de milieu de culture.....	31
Figure 15 : Ensemencement.	32
Figure 16 : Dépôt des disques.	32
Figure 17 : Détermination de la zone d'inhibition par la méthode de diffusion des disques (Zaiki, 1988). ...	33
Figure 18 : Activité antibactérienne de de l'extrait Acétate- d'éthyle (<i>Centaurea dimorpha</i>).....	37
Figure 19 : Activité antibactérienne de de l'extrait N-butanol (<i>Centaurea dimorpha</i>).....	39

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition chimique de quelques espèces du genre <i>Centaurea</i>	8
Tableau 2 : Effets thérapeutiques des <i>Centaurea</i>	9
Tableau 3 : Quelques composés flavoniques isolés des espèces du genre <i>Centaurea</i>	14
Tableau 4 : Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol (<i>Centaurea dimorpha</i>) mesurée en mm.	35
Tableau 5 : Activité antibactérienne de l'extrait acétate d'éthyle (<i>Centaurea dimorpha</i>) mesurée en mm.	35

Liste des abréviations

CMI : concentration minimale inhibitrice

DMSO : diméthylsulfoxyde

Gélose M.H : gélose Mueller-Hinton

IU : infections urinaires

NaCl : Chlorure de sodium

PH : potentiel hydrogène

SM : solution mère

USI : unités de soins intensifs

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

Introduction

Depuis l'Antiquité, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins basiques : la nourriture, le logement, l'habillement, ainsi que ses besoins médicaux.

Aujourd'hui, l'utilisation des plantes médicinales dans le traitement des pathologies est devenue l'un des principaux moyens d'accès aux soins (**Nasri, 2016**). L'efficacité de ces derniers est due aux produits synthétisés par le métabolisme secondaire naturel qui se fait au niveau des cellules et des tissus de ces plantes (**Ababsa, 2009**).

Deux groupes de métabolites ont été distingués, primaires et secondaires (**Hartmann, 2007**). Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ces composés sont classés en quatre principaux groupes : les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques. Quant aux métabolites secondaires, ce sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures.

Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante. Les produits du métabolisme secondaire qui sont émis en très faible quantité, sont d'une grande variété structurale (plus de 200000 structures définies). Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, ils ont un intérêt multiple, ils sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Ils sont largement utilisés en thérapie et constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour leurs propriétés anti oxydantes, antifongiques, anti-inflammatoires et/ou mutagènes (**Epifano et al., 2007**).

Les ressources végétales spontanées constituent jusqu'à ce jour une source d'intérêt primordial pour l'homme et ses besoins. Elles représentent aussi un phytomédicament appréciable par la population de certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement. En Afrique, la médecine traditionnelle contribue à la satisfaction des besoins en matière de santé de plus de 80% de la population. Ces ressources comptent environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 possèdent des propriétés médicinales (**Bouallala et al., 2014**).

La richesse verte et vierge de notre pays l'Algérie, avec sa grande diversité, a poussé les chercheurs algériens à les étudier et les analyser qualitativement et quantitativement, pour explorer la grande flore algérienne. Les plantes du genre *Centaurea* ont été le but de plusieurs études phytochimiques, qui ont abouti à la séparation de différents produits, comme : les hydrocarbures non saturés (**Bohlmann et al., 1988**) (**Aclinou et al., 1982**), les graisses

(Viguera *et al.*, 1996), et parmi les produits du métabolisme secondaire de ce genre qui ont été séparés on trouve : les Flavonoïdes (Riberan gayon,1968) et les sesquiterpènes (gonzalez *et al.*, 1971) (Skaltsa *et al.*, 2000

Le choix de l'espèce est basé sur des critères chimiques et biologiques ; sur le plan chimique, le genre *Centaurea* est riche en composés Flavonoïques, et une diversité en Lactones sesquiterpènes. Sur le plan biologique ; ce genre est connu par ses propriétés médicales et pharmaceutiques pour lesquelles, il est utilisé pour faire guérir différentes maladies (KH. M. Alimov, 1973).

De ce fait, l'objectif de notre étude est de mettre en évidence l'activité antibactérienne des extraits de plantes appartenant à la famille des *Asteraceae* et au genre *Centaurea* dans la perspective de développer de nouveaux antibiotiques naturels qui sont sans effets néfastes sur la santé humaine par rapport à leurs homologues synthétiques.

Notre travail à caractère phytochimique est constitué de deux parties. La première partie est une revue bibliographique qui se rapporte aux notions générales sur les *Asteraceae* et le genre *Centaurea* ainsi que les métabolites secondaires et l'activité antibactérienne. La deuxième partie expérimentale est consacrée à l'étude de l'effet antibactérien des extraits n-butanol et acétate d'éthyle de la plante *Centaurea dimorpha*. Enfin, une conclusion qui nécessite de dégager les perspectives nécessaires pour mieux se plonger dans ce travail est donnée.

Chapitre I :
Synthèse
bibliographique

Depuis fort longtemps, les ressources naturelles constituent la source principale de remède pour soigner différentes maladies et infections, et demeure jusqu'à présent la source principale pour l'obtention des nouvelles molécules actives dans le domaine pharmaceutique.

En effet, de nombreux travaux notoires ont pu démontrer l'activité biologique et les modes d'action thérapeutiques des métabolites extraits à partir des plantes. (**Schawenbrgc P. et Paris F., 1977 ; Bezanger-Beauquesne L., Pinkas, M., Torck, M. 1996**).

1. Présentation de la plante étudiée

1.1. La Famille des Astéracées

1.1.1. Généralités

Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur (**Charles Dorniet al, 2017**). La famille Asteraceae est la plus vaste du groupe des dicotylédones. Plusieurs plantes de cette famille sont cultivées pour leur valeur alimentaire (le tournesol, le topinambour, la laitue, la chicorée, la camomille, etc.) ou comme plantes décoratives (les dahlias, les asters, les rudbeckies, les gaillardes, etc.). Dans cette famille on y retrouve un grand nombre d'espèces très communes dans les champs et les villes. Elles possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales et anti-inflammatoires (**Matsudaet et al, 2002**).

La famille des Astéracées est la plus étendue du monde végétal, avec environ 25000 espèces réparties en 1300 genres, dispersées sur toute la Terre (**Bremer et Anderberg Arne, 1994**). Les genres les plus importants du point de vue du nombre d'espèces sont : *Senecio* (1500 espèces), *Vernonia* (1000 espèces), *Cousinia* (600 espèces) et *Centaurea* (600 espèces). D'après Quezel et Santa, en Algérie, il en existe 109 genres et 408 espèces. Ce qui représente environ 8 à 10 % de toutes les plantes à fleurs (**Quezel et Santa, 1963**).

1.1.2. Caractères botaniques de la famille

Concernant la morphologie générale des Astéracées, ces dernières ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure en forme de coupe ou de collerette est appelé un involucre (**Barkely et al, 2006**).

➤ **Appareil végétatif**

- **Les racines** : sont généralement pivotantes et parfois fibreuses.
- **Les tiges** : sont généralement droites, mais tombent quelque fois au fait de s'élever. Quelques espèces ont des tiges souterraines sous forme des rhizomes, ceux-ci peuvent être charnus ou boisée selon les espèces.
- **Les feuilles** : sont alternes, quelque fois opposées, simples, pennatinervées ou palmatinervés, sessiles découpées, laciniées, et parfois elles peuvent être succulentes.

➤ **Appareil producteur**

- **Les fleurs ou les fleurons** : sont groupées en capitule, comprennent un réceptacle plan ou plus ou moins bombé sur lequel sont insérés de la base au sommet, en ordre spiral : d'abord des bractées stériles vertes (parfois écailleuses, à crochets ou épineuses formant un involucre). Ensuite des petites bractées fertiles non vertes ou paillettes, axillant chacune une fleur. L'ensemble forme une « fleur composée », d'où l'ancien nom de la famille. Les capitules élémentaires sont généralement à leurs tours diversement groupés en grappe, cyme, ou encore en corymbe.
- **Les fruits** : sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée Pappus qui favorise la dispersion des graines par le vent.
- **Les graines** : Elles sont exalbuminées.

1.1.3. Classification des astéracées

Suivants le type de fleur composant le capitule, on a les inflorescences suivantes :

Tubuliflores : composées uniquement de fleurs actinomorphes, tubuleuses (*Centaurea*) ; dont la corolle est en forme de tube droit ou courbe et terminée, en général, par 5 dents ou lobes plus ou moins prononcés, égaux ou inégaux.

Liguliflores : composées uniquement de fleurs zygomorphes, ligulées à cinq dents (*Lactuca*), dont la corolle est déjetée en majeure partie, sur le côté en une lame aplatie qui se termine par 3 ou 5 dents.

Labiatiflores : composées uniquement de fleurs zygomorphes bilabiées (*Mutisia*).

Radiées : composé par des fleurs zygomorphes ligulées à trois dents à la périphérie entourée des fleurs (*Senecio*) (**Spichiger et al, 2004**). Quelques types des fleurs des plantes d'Astéracées représentent par (**Fig.01**)



(*Centaurea*)

(*Senecio*)

(*Mutisia*)

(*Laitue*)

Figure 1 : Types des fleurs des plantes d'Astéraceae.

1.1.4. Utilisation des astéracées en médecine traditionnelle

Les plantes Astareceae sont largement utilisées en médecine populaire pour guérir un bon nombre de maladies (Bellakhdar, J., 1997). A ce jour, certain nombre d'espèces sont utilisées en médecine traditionnelle. On citera :

- *Centaurea maroccana* Ball et *C. calcitrapa* L : Les sommités fleuries, en décoction, sont employées contre les palpitations.
- *Centaurea chamaerhaponticum* Bail : Les racines, fraîches ou sèches, en décoction, sont utilisées dans le traitement des maladies du foie de l'estomac et des intestins.
- *Centaurea pungens* Pomel : La plante entière, réduite en poudre, est utilisée par voie orale pour combattre les refroidissements.
- *Centaurea montana* L : Cette plante est utilisée contre les dyspepsies. Employée en collyre ou compresse, elle soigne les affections des yeux aussi, elle est connue comme diurétique (Quezel, P., Santa, S., 1963).

1.2. Le genre *Centaurea*

Le genre *Centaurea* appartenant à la famille des *Astéracées*, est répandu aussi bien sur le territoire algérien qu'en Europe méridionale, dans le bassin méditerranéen à l'ouest de l'Asie et sur le continent américain (Quezel P et al.,1963 ; Trease G et al.,1983).

Les centaurees sont des plantes à résine ou à essence sans latex, elles se multiplient par touffes ou par semis, généralement au printemps. Elles se rencontrent sur différents types d'habitats tels que, les déserts et les semi-déserts, les pentes raides, les hautes montagnes, les terres arables, les zones à inondations périodiques, les zones sèches et partiellement exposées au soleil (Hellwig, 2004).

Le genre *Centaurea* comprend plus de 500 espèces, dont 45 se développent spontanément en Algérie, dont 7 sont localisées dans le désert du Sahara (**Labedet al., 2019**). Les investigations phytochimiques réalisées sur ce genre de plantes montrent que les centaurees sont très riches en métabolites secondaires : notamment les lactones sesquiterpéniques (**Fortuna et al., 2001**), les flavonoïdes (**Flamini, 2000**), les alcaloïdes et les stéroïdes (**Ahmed et al., 1970**).

1.2.1. Caractéristique botanique

Les plantes du genre *Centaurea* sont des herbacées annuelles, vivaces et arbrisseaux. Possédant des feuilles à épines faibles et peu piquantes. Les fleurs sont toutes tubulées, les externes souvent plus grandes stériles et étalées. Les aigrettes des fleurs centrales à soi ou dents courtes. Les bractées involucreales terminées par une formation différenciée qui porte une épine pectinée (*Asterales- J. et E., 2014*).

1.2.2. Composition chimique du genre *Centaurea*

Le genre *Centaurea* est connu pour produire des lactones sesquiterpéniques du groupe des germacranolides et des guignolades, du type du solsticiale et de la Repine (**Bellakhder., 1997**).

Les flavonoïdes ont été signalés dans de nombreuses espèces *Centaurea* et près de 80 taxons ont été étudiés pour leur contenu en flavonoïdes, isolés à partir des feuilles, des parties aériennes et parfois des racines de nombreuses espèces de *Centaurea*, et identifiés comme des flavones, des flavonols, 6-deoxyflavones, et leurs O-et C-glycosides (**Mishio et al., 2006**). Le tableau suivant représente la composition chimique de quelques espèces du genre *Centaurea* (**tableau 1**).

Tableau 1 : Composition chimique de quelques espèces du genre *Centaurea*.

Nom commun	Nom scientifique	Composition chimique	Références
<i>Nagour</i>	<i>Centaurea calcitrapa L.</i>	Lactones sesquiterpeniques comme la costunolide et la zaluzanine germacranolides, eudesmanolides et guaianolides.	(Bentamène et al., 2005)
	<i>Centaurea cyanus L.</i>	Substance amère, l'acide calcitrapique, un glucoside ; la cnicine	(Bellakhder, 1997)
	<i>Centaurea montana L.</i>	Principe amère : la cnicine ou centaurine, les fleurs renferment un glucoside, la cyanidine.	(Schauenberg et Paris ,2006)
<i>Centaurée des montagnes</i>	<i>Centaurea acaulis L.</i>	Substance amère, centaurine, quelques traces d'hétérosides, de la cichorine, des tanins, des cyanines sensibles à la lumière et du potassium. 10, 5% de protéines par rapport au poids sec, et deux lactones sesquitérpeniques.	(Bellakhder, 1997)

1.2.3. Propriétés pharmacologiques du genre *Centaurea*

Depuis l'Antiquité de nombreuses espèces du genre *Centaurea* sont utilisées en médecine traditionnelle pour soigner et pour traiter différentes maladies. Les *Centaurea* ont plusieurs effets pharmacologiques tels que : anticancéreux, antiinflammatoire, anti-affection urogénitale, anti-nociceptif, antipyrétique, anti-artérioscléreux, antinéoplasique et anti-infection microbienne. Elles sont aussi utilisées contre les douleurs rhumatismales, les

problèmes cardiovasculaires, les maux de tête, les symptômes gastrointestinaux, les parasitaires et comme soulageant de la fièvre, ce sont aussi des remèdes stimulant et cicatrisant des plaies (Labeled *et al.*, 2019 ; Belkacem *et al.*, 2014 ;Baharfar *et al.*, 2009 ; Kilic, 2013 ; Koca *et al.*, 2009 ; Leonardi *et al.*, 2011). Elles présentent une activité élevée dans les systèmes vivants, avec un fort intérêt pharmacologique ce qui explique leurs utilisations à long terme dans la médecine traditionnelle.

Le tableau ci-dessous présente quelques effets thérapeutiques déjà étudiés du genre *Centaurea*.

Tableau 2 : Effets thérapeutiques des *Centaurea*.

Espèces	Propriétés thérapeutiques	Références
<i>C. Amaena et C. Aksoyi</i>	Antioxydants, antibactériens	(Albayrak <i>et al.</i> , 2017)
<i>Centaurea albonitens</i>	Agent anticancéreux potentiel et un activateur de la sensibilité chimiothérapeutique.	(Bahmani <i>et al.</i> , 2018)
<i>Centaurea pungens</i>	L'activité antimicrobienne	(Albayrak <i>et al.</i> , 2017)
<i>Centaurea maroccana</i>	Protecteur contre l'hépatotoxicité	(Schauenberg, 2006)
<i>C. Drabifolia et C. Lycopifolia</i>	Antioxydants, anti microbienne, anti alzheimer, anti diabétique	(Zengin <i>et al.</i> , 2018)
<i>Autres</i>	Activités antimicrobienne, antivirale, antifongique, cytotoxique, anticancéreuse, Effet analgésique, diurétique et combat le refroidissement.	(Toribio <i>et al.</i> , 2004) (Berrin <i>et al.</i> , 2007) (Skaltsa <i>et al.</i> , 2000) (Medjroubi <i>et al.</i> , 2005) (Shoeb <i>et al.</i> , 2007) (Djeddi <i>et al.</i> , 2008).

1.3. L'espèce *Centaurea dimorpha*

1.3.1. Description botanique de la plante

Plante désertique, épine centrale des bractées moyennes ne dépassent pas 15mm de longueur, accompagnée par 4-6 épine basilaire, épines plus foncées que le corps de la bractée plante à aspect de *C. sphaerophala*, tiges pubescentes, ailées à ailes faiblement épineuses, de 20-30cm, souvent couchées et naissant alors sous un capital central su sessile dans une rosette de feuilles. Akènes de 4mm sur 2, tachetés à aizrette plus courte ou subégale est à hile très gros lieux sablonneux (Fig.02) (Quezelet al., 1963).



Figure 2 : Photographie représente l'espèce de genre *Centaurea dimorpha*.

- **Habitat :** Dépressions rocailleuses, hamada et lits d'oueds à fond rocailleux.
- **Répartition :** Sahara septentrional.
- **Période de végétation :** Floraison en avril – mai.
- **Nom arabe :** (Belala) **Quezel-Santa (1963), Lebrun (1998).**

1.3.2. Place dans la systématique

- **Règne :** Plantae
- **Embranchement :** Angiospermes
- **Sous-Embranchement :** Spermaphytes
- **Classe :** Dicotylédones
- **Ordre :** Asterales

- **Famille** : Composées
- **Tribu** : Cynarées
- **Genre** : *Centaurea*
- **Espèce** : *Centaurea dimorpha*

1.3.3. Synonyme de la plante *Centaurea dimorpha*

- *Centaurea eriocephala* Boiss.
- *Centaurea polyacantha* Coss. Non Willd.

1.3.4. Utilisation de la plante

- Elle est utilisée pour le tannage (plante entière écrasée et étalée sur la peau).
- Pharmacopée : Les sommités fleuries et des feuilles par décoction sont utilisées comme désinfectant.
- Intérêt pastoral : Peu broutée par les dromadaires **Ozenda (1991)**.

2. Métabolites secondaires

2.1. Définition

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (**Boudjouref, 2011**). Ces métabolites sont généralement caractérisés par leurs faibles concentrations dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total) (**Newman et Cragg, 2012**). Ces derniers n'exercent donc pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante. Leur absence n'entraîne pas une mort immédiate mais peut cependant limiter la survie, la fécondité ou l'apparence d'un organisme (**Guignard, 1996**).

Les métabolites secondaires sont biosynthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Ils ont essentiellement pour rôle d'accroître la compétitivité de l'organisme qui les biosynthétise en lui conférant un avantage sur d'autres organismes (**Coffi et al., 2012**).

Les plantes produisent plus de 200.000 métabolites secondaires. Les plus grands groupes sont les alcaloïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes et les composés phénoliques. Ils représentent une immense valeur économique, en particulier pour l'industrie pharmaceutique et cosmétique (**Crozier et al., 2006**).

2.2. Classification

Les métabolites secondaires dépassant actuellement 100 000 substances identifiées, ils appartiennent à trois grandes familles :

- Les composés aromatiques ou polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, banthocyanidines, tanins) et les quinones.
- Les terpénoïdes et leurs dérivés.
- Les alcaloïdes (**Merghem, 2009**).

Les CP peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient d'abord, par la complexité du squelette de base ensuite, par les degrés de modification de ce squelette (degrés d'oxydation, d'hydrolation, de méthylation...) et enfin, par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules : glucides, lipides, protéines, autres

métabolites secondaires pouvant être ou non des CP (Fig.03) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

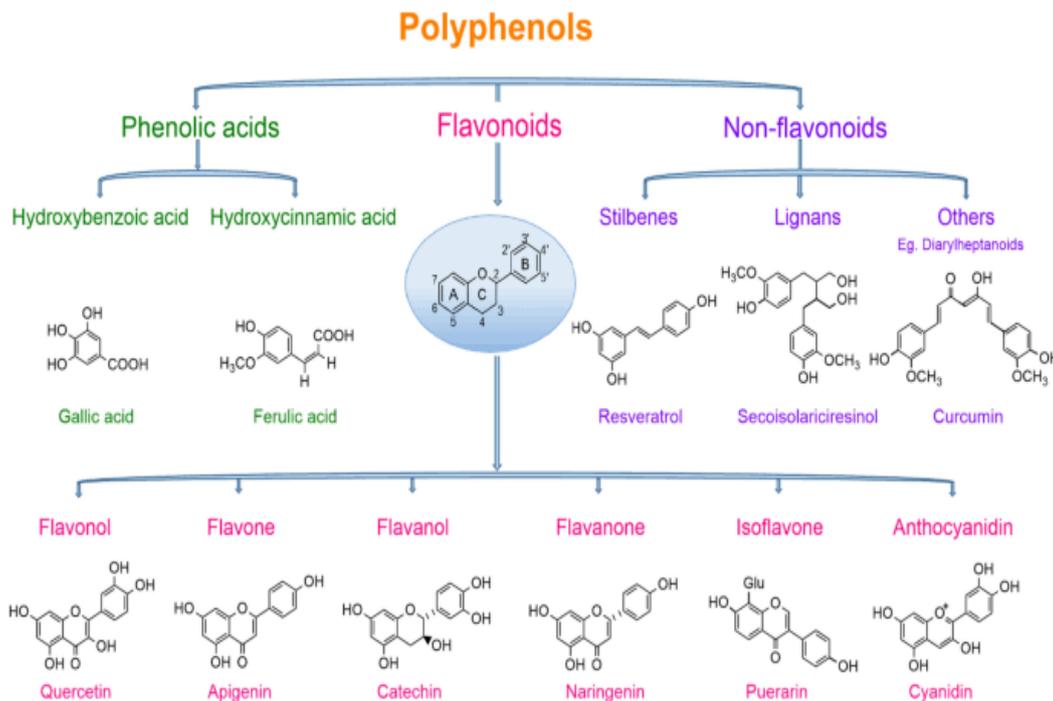


Figure 3 : Les différentes classes des composés phénoliques.

2.3. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des molécules organiques de différentes structures chimiques et rôles physiologiques trouvés essentiellement chez les végétaux. Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et sont présents dans toutes les parties de la plante (Bruneton, 1999).

2.3.1. Les acides phénoliques simples

Les acides phénoliques, ou acides phénols ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature (Haslam, 1994). Ils se divisent en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque (les acides hydroxycinnamiques) et les dérivés de l'acide cinnamique (les acides hydroxybenzoïques) (Pandey et Rizvi, 2009).

2.3.2. Les Flavonoïdes

Le nom flavonoïde provient du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange (Karaali *et al.*, 2004 ; Malešev et Kuntić, 2007). Cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde (de flavus, jaune en latin) désigne une très large gamme

de composés naturels appartenant à la classe des polyphénols. Près de 6500 de flavonoïdes sont repartis en 12 classes connues. (Nijveldt *et al.*, 2001).

Les flavonoïdes sont des substances naturelles issues des plantes. Ce sont des pigments responsables de la coloration des végétaux qui sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultra-violet (UV).

Les espèces du genre *Centaurea* sont riches en flavonoïdes, plus de 160 flavonoïdes ont été isolés de 74 espèces du genre *Centaurea* (Tableau 03).

Tableau 3 : Quelques composés flavoniques isolés des espèces du genre *Centaurea*.

Composé	Plante	Type de composé	Références
cyanidin 3-O-(6-O succinylglucoside)-5-O-glucoside	<i>C. Cyamus</i>	flavones	(Kosaku et al.,2005)
centaurocyanin, apigenin 7-O glucuronide-4'-O-(6-Omalonylglucoside)			
Apigenin	<i>C. Orphanidea</i>	flavones	(Gousiadou et al.,2003)
Cirsimaritin			
Luteolin		flavonol	
3-Methoxykaempferol			
Montanoside	<i>C. Montana</i>	flavone	(Mohammad et al.,2006)
algerianin	<i>C. Africana</i>	Flavonols	(Ramdane et al.,2009)
4'-methylgossypetin			

2.3.3. Les tannins

Tanins (ou tanins) sont des composées d'origine végétale qui appartiennent à la famille des polyphénol (Berthod *et al.*, 1999) solubles dans l'eau (Akiyama *et al.*, 2001), selon (Cowan, 1999), leurs poids moléculaires s'étendent de 500 à 3000 Da. Les tanins présentent aussi des propriétés antiseptiques, antibiotiques, astringentes, anti-inflammatoires, anti diarrhéiques, hémostatiques et vasoconstrictrices (Ali-dellile, 2013).

D'après (Tondi *et al.*, 2013) les tannins jouent également un rôle dans la protection des plantes contre la lumière UV et les radicaux libres, la défense contre les agents pathogènes (animaux, insectes, champignons et bactéries). Sur le plan structurel les tanins sont divisés en 2 catégories : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Haslam, 1994 ; Clifford et Scalbert, 2000 ; Santos-Buelga et Scalbert, 2000).

2.3.4. Les anthocyanes

Le terme "anthocyanes" provient du (grec anthos = fleur et kianos = bleu) (Amrani Joutei et Gloris, 1994). Les anthocyanes sont des pigments issus du métabolisme des flavonoïdes. Ils sont responsables de la couleur des feuilles et fruits auxquels ils donnent leur teinte bleu, violet et pourpre (Bruneton, 1993). Ils sont localisés dans les vacuoles de cellules de l'épiderme. Les antioxydants connus comme anthocyanes jouent un important rôle dans l'élimination des radicaux libres de l'organisme (Fig.04) (Jackman et Smith, 1996).

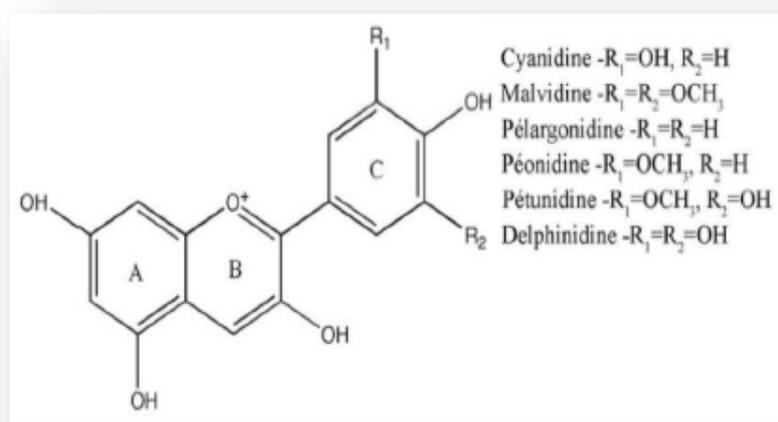


Figure 4 : Structure de base des anthocyanes.

2.3.5. Les coumarines

Les coumarines sont le plus souvent englobées dans l'étude des flavonoïdes. La coumarine (1,2-benzopyrone) est un composé d'origine naturelle, qui peut être trouvé dans une large gamme de plantes notamment dans les racines (Constanze *et al.*, 2015).

Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché (Fig.9). A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : Légumineuse, Rutacées, Apiécées et

Thymeleacées. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (Deina et al, 2003 et Booth et al, 2004). Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et peuvent capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et pyroxyles (Igor, 2002).

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi selon l'espèce. Dans la cellule végétale elles sont principalement présentes sous forme glycosylée (Hofmann, 2003). Cette glycosylation est une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques de ces molécules. Elles sont considérées comme des phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. Les coumarines peuvent également se trouver dans le règne animal (les glandes à sécrétion odoriférante du castor) et chez certains microorganismes (Fig.05) (Hofmann, 2003).

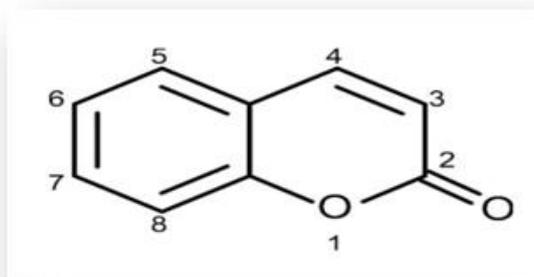


Figure 5 : Structure de base des coumarines (Harkati, 2011).

2.3.6. Les Lignines

Les lignines sont des substances naturelles végétales constituées principalement par deux unités de phenylpropane. On les trouve dans les graines de céréales, les fruits et les végétaux. Les études phytochimiques effectuées sur les espèces du genre *Centaurea* ont montré la présence de ces substances dans de nombreuses espèces.

Les lignines sont réparties en huit groupes structuraux (Fig06), classés selon le mode d'incorporation du (ou des) atome (s) d'oxygène dans le squelette carboné et selon le type de cyclisation (Umezawa, 2003).

Les lignines exhibent plusieurs activités biologiques telles que : antiviral, anticancéreux, antimicrobien et antioxydant (Mcrae et Towers, 1984 ; Cos et al, 2008 ; Pan et al, 2008).

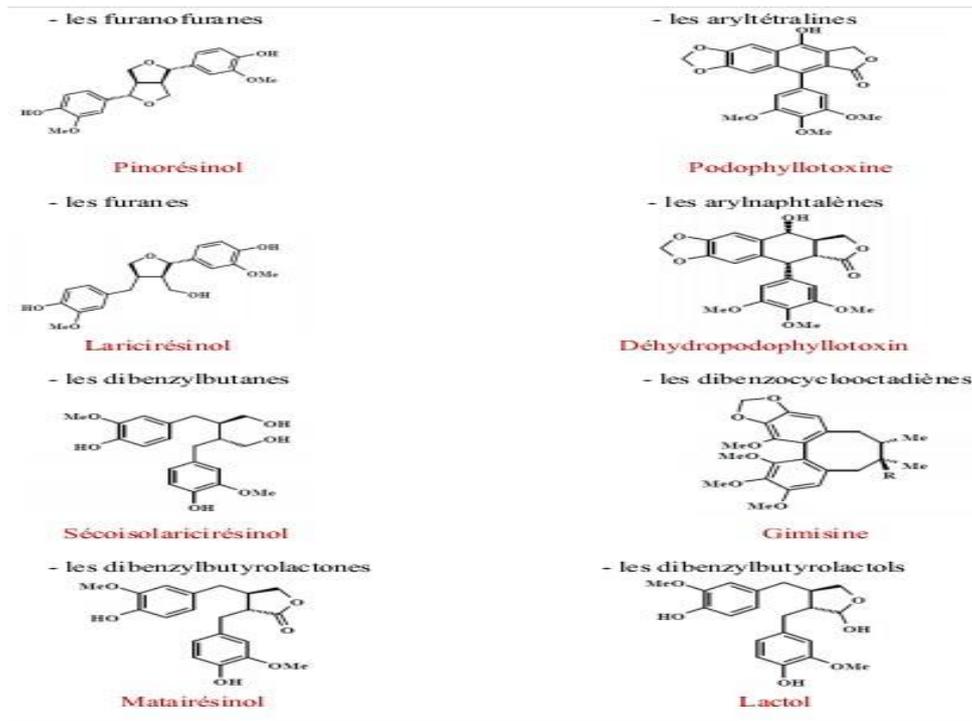


Figure 6 : Les huit groupes structuraux de lignines (Sullivan, 2011).

2.4. Les Saponosides

Le terme saponosides est dérivé de mot savon, sont des terpènes glycolyses comme ils peuvent aussi se trouver sous forme aglycones, ils ont un goût amer et acre (Hopkins, 2003). Ils existent sous deux formes, les stéroïdes et les terpénoïdes (Fig 07) (Iserin *et al*, 2001).

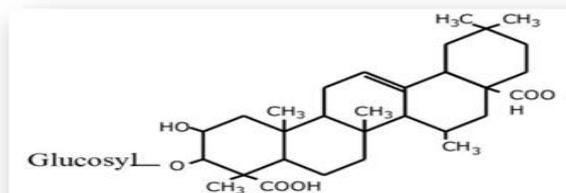


Figure 7 : Structure des saponosides.

2.5. Les Terpènes

Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale (Malecky, 2005). Synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux (Benaissa, 2011). L'exploitation de ces

composés s'effectuait sous forme d'huiles extraites de plantes (huiles essentielles) par le moyen de la distillation (**Malecky, 2005**).

De nombreux terpenoïdes ont la particularité de dégager de fortes odeurs comme le menthol et le limonène qui permettent la fabrication d'huiles essentielles. Ils sont utilisés comme antiseptiques et dans certains domaines comme la cosmétique (parfum). Elles sont utilisées aussi pour traiter les maladies de la respiration (**Valnet, 2003**).

2.6. Les Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés complexes, à caractère basique (**Lamnaouer, 2002**), provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique. Depuis l'identification du premier alcaloïde en 1806, plus de dix mille alcaloïdes sont isolés des plantes (**Boutaghane, 2013**).

À l'état naturel, on les retrouve sous forme de sels (tartrates et malates) ou combinés avec les tanins. Après extraction, ils sont détectés par des réactions générales de précipitation fondées sur leur capacité de se combiner avec des métaux (**Merghem, 2009**). La caractérisation de la présence d'alcaloïde peut se faire par précipitation à l'aide de plusieurs Réactifs (**Kansole, 2009**).

Les alcaloïdes sont parmi les composés les plus importants en raison de leurs propriétés pharmacologiques et médicinales. En 1803, DEROSNE a isolé le premier semi alcaloïde (*Papaver somniferum*), une drogue qui a été utilisée pour des siècles pour sa propriété analgésique et narcotique. En 1805, SERTURNER a caractérisé cet alcaloïde et l'a nommé morphine (**Walton et Brown, 1999**).

Le terme d'alcaloïde est dû au pharmacien MEISSMER (1792-1853), pour désigner les substances naturelles réagissant comme des bases (**Salle, 1991**). D'après (**Relouzat et Thiollet 2002**), un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin, présentant une structure complexe. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique. Ils ont une activité pharmacologique significative.

Selon (**Ngobum et al 2009**), ils sont généralement insolubles ou très peu solubles dans l'eau, par contre ils sont solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires.

3. Activité antibactérienne

3.1. Généralités

Les antibiotiques sont des substances d'origine biologique ou synthétique capables d'inhiber la multiplication des bactéries. Ce sont des médicaments d'usage courant qui constituent un arsenal thérapeutique important pour traiter les infections bactériennes. Leur évaluation se fait par le biais de méthode d'étude de trois sortes, *in-vitro*, *in-vivo* et clinique (Benabdallah, 2012).

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multi-résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une sources d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (Billing et Sherman,1998), sous forme de métabolites secondaires dont les composés phénoliques, sont toujours utilisés dans l'industrie alimentaire et cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine populaire (Cowan,1999).

3.2. Les bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes vivants unicellulaires procaryotes. Elles mesurent quelques micromètres de long (0,5 à 5 um de longueur) et peuvent présenter différentes formes : des formes sphériques (coques), des formes allongées ou en bâtonnets (bacille) et des formes plus ou moins spiralées (spirilles).

Les bactéries sont ubiquitaires et sont présentes dans tous les types de biotopes : sol, air, eau, sur les végétaux et les animaux... etc. Cependant, ces nombreuses espèces bactériennes sont pathogènes et sont responsables de maladies infectieuses comme le choléra, la syphilis et la tuberculose (Hahn, M. W. et al).

On peut classer les bactéries grâce à la coloration de gram, qui distingue deux types de bactéries :

- **Les bactéries à gram positif** : Les bactéries à gram positif apparaissent mauves sous microscope.
- **Les bactéries à gram négatif** : Les bactéries à gram négatif apparaissent roses sous microscope. (fig 08).

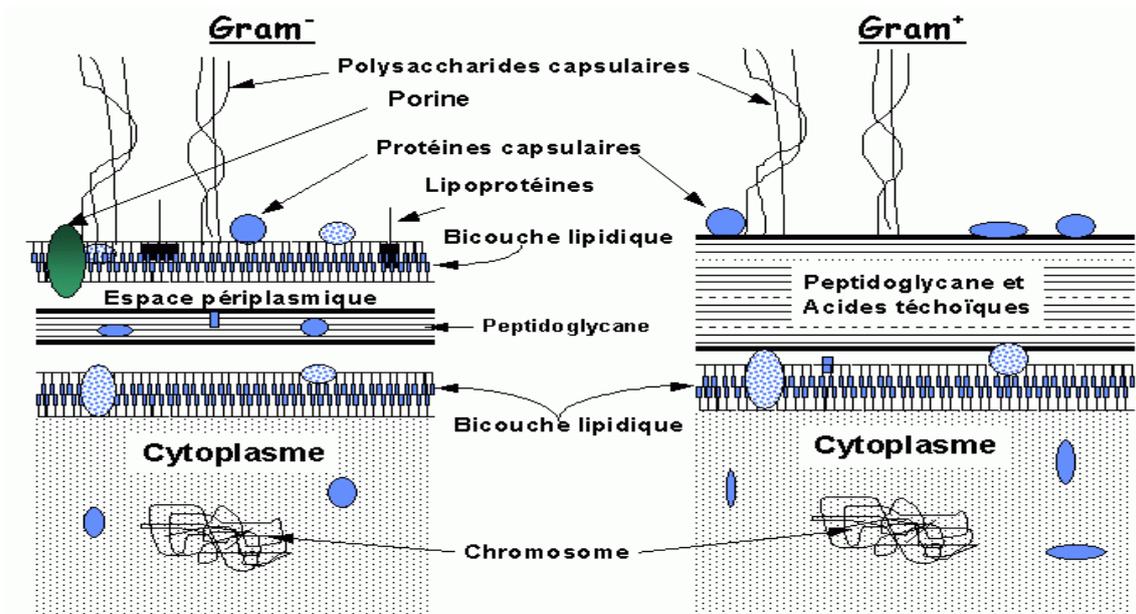


Figure 8 : Structure de la paroi bactérienne.

3.3. Les antibiotiques

Du grec anti, "contre" et bios, " la vie" les antibiotiques sont des composés chimiques ayant la propriété de tuer ou d'empêcher la prolifération des micro-organismes pathogènes. Ce sont des substances produites naturellement par certaines moisissures et bactéries (Brigitte, 2006).

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques.

Les cibles des antibiotiques sont impliquées dans les fonctions physiologiques ou métaboliques de la bactérie. Les antibiotiques peuvent inhiber la biosynthèse des acides nucléiques (ADN et ARN), mais leurs cibles principales sont la paroi cellulaire et les ribosomes bactériens (Labioud, 2016).

3.3.1. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent habituellement soit comme bactéricides (ils tuent les bactéries) essentiellement les bêta-lactamines, les aminosides, les polypeptides, soit comme bactériostatiques (ils inhibent la croissance bactérienne et détruisent les bactéries) essentiellement les tétracyclines, phénicolis, macrolides (Chetley, 2000).

Ainsi, les antibiotiques ont été classés selon leur mode d'action en (**Dupont et Drouhet, 1987 ; Leminor et Veron, 1989**):

- Antibiotiques inhibiteurs des synthèses du peptidoglycane.
- Antibiotiques actifs sur les enveloppes membranaires.
- Antibiotiques inhibiteurs des synthèses protéiques.
- Antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques.

3.3.2. Mode d'action des antibiotiques des plantes contre les bactéries

Les extraits de plantes possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches bactériennes, ils sont efficaces contre un large spectre de microorganismes pathogènes et non pathogènes mais d'une manière générale leur action se déroule en trois phases (**Dorman, 2000**) :

- **Attaque de la paroi bactérienne par l'extrait végétal**, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- **Acidification de l'intérieur de la cellule**, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- **Destruction du matériel génétique**, conduisant à la mort de la bactérie.

3.4. La nature de l'activité antibactérienne

Lorsque l'on parle d'activité antibactérienne, on distingue deux sortes d'effets :

- **Une activité létale** (bactéricide), c'est la propriété de tuer les bactéries dans des conditions définies.
- **Une inhibition de la croissance** (bactériostatique), c'est l'inhibition momentanée de la multiplication d'une population (**Hammer, 1999**).

L'activité biologique d'un extrait végétal est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques (**Dorman, 2000**).

3.5. Les différentes méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne

3.5.1. La méthode par diffusion

Plusieurs méthodes sont utilisées pour l'évaluation du pouvoir antibactérien d'extraits de plantes, parmi elles :

- **La méthode de diffusion à partir de disques imprégnés (méthode de Kirby – bauer)**

Cette méthode consiste à imprégner des disques de papier en une quantité définie d'agent antibactérien, puis à les placer sur un milieu de gélose uniformément ensemencé avec l'organisme d'essai. Un gradient de concentration des antibiotiques se forme par diffusion à partir du disque. La croissance de l'organisme d'essai est inhibée à une distance du disque qui est liée à la sensibilité de l'organisme.

- **La méthode de diffusion à partir des puits**

Le principe de cette méthode est similaire à celui de la méthode des disques : il consiste à réaliser des puits dans la gélose de 2.5 mm de profondeur, qui sont par la suite remplis d'extraits ou d'antibiotique à tester (**Carbonnelle, B. ; Collins., Lync. ; Vandepitte, J. et al**).

3.5.2. Méthode de dilution

Les techniques de dilution sont utilisées en milieu solide ou liquide. Le principe de ces méthodes consiste à mettre en contact un inoculum bactérien standardisé avec des concentrations croissantes de la substance antibactérienne testée selon une progression bien définie afin de déterminer la CMI de cette dernière (**Burnichon, N., Texier A. 2003**).

CHAPITRE II :
Matériel et
Méthodes

La partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologie Végétales, Université Frères Mentouri Constantine 1.

Les travaux actuels ont consisté à étudier l'activité antibactérienne de deux extraits de la plante *Centaurea dimorpha*. Le but est de développer de nouveaux antibiotiques naturels qui n'ont pas d'effets nocifs sur l'homme par rapport à leurs homologues synthétiques.

Cette plante médicinale a été choisie parmi tant d'autres pour son caractère médicinal, sa grande utilisation par la population et ses vertus thérapeutiques intéressantes.

1. Préparation du matériel végétal

1.1 Séchage et broyage

La matière végétale a été récoltée durant le mois de mai 2022 des environs de la ville de Constantine, nous n'avons pris en considération que les parties aériennes de la plante. Une fois les plantes récoltées, leurs parties aériennes (feuilles) ont été séchées dans un endroit sec et bien ventilé, à l'abri de la lumière, du soleil et de l'humidité pendant 15 jours.

Le matériel végétal a été ensuite broyé à l'aide d'un broyeur mécanique. Après broyage la poudre obtenue a été soumise à une extraction afin de récupérer les différentes classes de composés chimiques contenus dans la partie aérienne de la plante pour des tests phytochimiques et biologiques.

1.2. Extraction des métabolites secondaires

Les feuilles et les fleurs des plantes (100 g de matériel végétal sec) utilisées ont été macérées à froid avec du méthanol à 80% dans un erlenmeyer. Le mélange a été mis sous agitation continue pendant 24h. Après les 24 heures de macération, on a procédé à une filtration en utilisant le coton. Le filtrat a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatoire afin d'obtenir un extrait sec.

2. Etude de l'activité antibactérienne

Dans les boîtes de pétri contenant le milieu de culture Mueller Hinton refroidies, nous avons inoculé les boîtes avec six souches bactériennes, 6 boîtes pour le premier extrait N-butanolique, et 6 boîtes pour le deuxième extrait d'acétate d'éthyle, de façon à recouvrir toute la surface de la gélose. Après 20 minutes, nous avons déposé 04 disques stériles, dans chaque

boîte sur lesquels nous avons appliqué 10µl d'extrait à tester et à différentes concentrations. Les boîtes ont été placées à 4°C pendant 1h puis à l'incubation à 37 °C pendant 24h.

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition qui a été obtenue par les différents extraits autour des disques avec une règle.

2.1. Les souches bactériennes testées

Le choix des microorganismes a été porté sur cinq souches fréquentes en pathologie humaine, nous avons sélectionné deux groupes de bactéries : les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif.

2.1.1. Bactéries Gram (+)

- *Staphylococcus aureus*

C'est un coccus à Gram positif de 0,5 à 1 µm de diamètre, non sporulé, ubiquitaire présente dans tous les milieux naturels (air, poussière, sol, eau, égouts, vêtements) mais également chez les animaux et chez les hommes (Clave, 2013). Ce sont des coques immobiles, isolés ou groupés en diplocoques ou, le plus souvent, en amas, diamètre moyen 0,8 à 1µm (Le Loir et Gantier, 2009). La présence de *S. aureus* dans les aliments pose un risque pour la santé humaine, car certaines souches peuvent produire des entérotoxines, dont l'ingestion entraîne une intoxication. Les entérotoxines agissent sur les nerfs de l'appareil digestif qui stimulent le centre des vomissements ; douleurs abdominales ; diarrhée ; crampes (fig 09) (Green, 2012).



Figure 9 : *Staphylococcus aureus*.

- ***Enterococcus faecalis***

E.faecalis est l'espèce du genre *Enterococcus*, immobiles en bouillon et acapsulés et à Gram +. Il fait partie de la flore digestive de l'homme et des animaux. Il peut, par contamination de voisinage, coloniser la peau, notamment la région périnéale et le vagin. Comme les entérocoques, cette espèce peut se rencontrer dans l'environnement : (eaux usées, eau douce, sol), et contaminer les aliments.

E.faecalis est principalement responsable d'infections urinaires le plus souvent secondaires après explorations urologiques, d'endocardites évoluant sur un mode subaigu, sur valves natives ou sur prothèses, et survenant après explorations digestives ou urologiques, d'infections intra abdominales (biliaires,...) de suppurations diverses. Le caractère polymicrobien des surinfections à Entérocoques est fréquent (entérobactéries et anaérobies). (Archambaud ,2007).

2.1.2. Bactéries Gram (-)

- ***Escherichia coli***

Escherichia coli (appelée également *E.coli*) est un bacille à coloration de Gram négative, mobile, aérobic qui appartient à la famille des *Entérobactéries*. Cette bactérie présente la caractéristique unique d'être à la fois un germe commensal de la flore intestinale présent chez tous les individus à des taux de 10^6 à 10^9 ufc/g de selles et le premier germe pathogène responsable d'infection communautaire. Cette bactérie est utile parce qu'elle favorise la production de certaines vitamines et dégrade certains aliments qui seraient autrement impossible à digérer. Certaines souches peuvent être pathogènes et à l'origine de gastroentérites, infection urinaires, méningites ou septicémies. Les souches non pathogènes constituent la flore bactérienne dominante des intestins de leur hôte (Fig.10) (Zeyons, 2008).

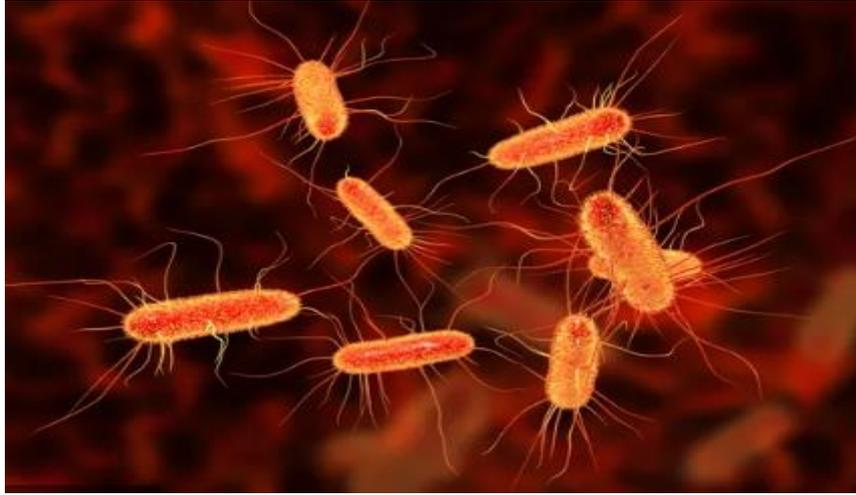


Figure 10 : *Escherichia coli*.

- ***Pseudomonas aeruginosa***

Les espèces *P.aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries fines sont de 1,5 à 3 μ m de long et 0,5 à 0,8 μ m de large. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche, ce type de bactéries possède un aspect de vol moucheron. *P.aeruginosa* ne forme ni des spores ni sphéropastes. Elles sont responsables de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3^{ème} rang après *E.coli* et *S.aureus*, mais le 1^{er} rang pour les infections pulmonaires basses et le 3^{ème} rang pour les infections urinaires (Fig.11) (Richard et Kiredjian, 1995).

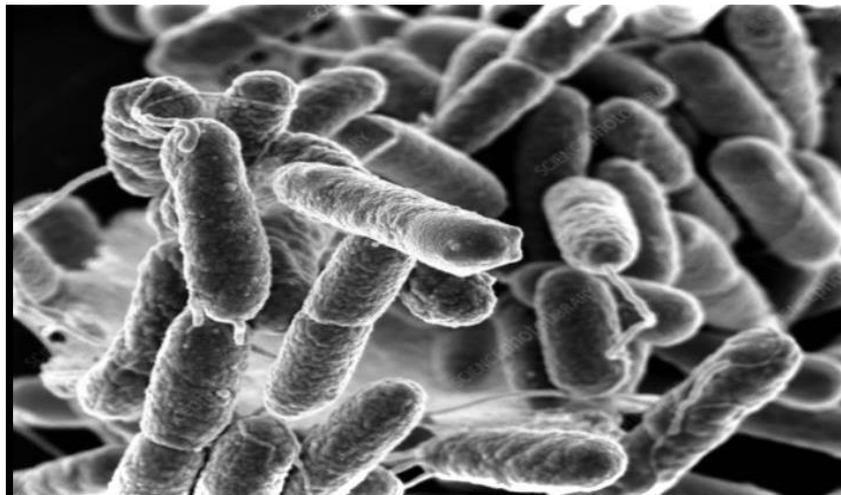


Figure 11 : *Pseudomonas aeruginosa*.

- ***Klebsiella pneumoniae***

Klebsiella pneumoniae est un pathogène opportuniste fréquemment impliqué dans des infections sévères notamment des infections urinaires (IU), des pneumonies et des bactériémies (Berrazeg, M., et al, 2013). Elle est responsable de plus de 10% des infections nosocomiales (Hennequin,C,et al, 2007). Elle est impliquée surtout dans les unités de soins intensifs (USI) (Boukadida J., et al, 2002).

Les *Klebsiella* sont des bactéries très répandues dans la nature (l'eau, le sol, les végétaux, la flore fécale des animaux), sur la peau, les muqueuses et surtout les voies respiratoires supérieures de l'homme provoquant ainsi des pneumonies mortelles c'est pourquoi Friedlander les a appelés pneumobacilles (Leon Le Minor,et al, 1989).

Les bactéries appartenant à l'espèce *Klebsiella pneumoniae* sont des bacilles à Gram négatif, immobiles, diplobacilles généralement capsulées, non sporulées, anaérobies facultatives (Fig12) (El Fertas-Aissani R., el al, 2012).



Figure 12 : *Klebsiella pneumoniae*.

- ***Salmonella***

Les salmonelles font partie de la famille des entérobactéries, bacilles à Gram négatif. La détermination des nombreux sérotypes est antigénique. Chaque sérotype possède une mosaïque d'antigènes : somatique O, capsulaire Vi, flagellaire H. L'identification précise de chaque sérotype s'effectue par séro-agglutination en présence de divers antisérums mono-spécifiques O et H. *S. enteritidis* a une formule antigénique proche de *S. typhi*, *S. typhimurium* a une formule proche de *S. paratyphi B*. Or, ces deux salmonelles non typhiques sont celles qui sont le plus souvent isolées actuellement chez les sujets infectés par le VIH.

Les salmonelloses recouvrent deux principaux types d'infections : d'une part, la fièvre typhoïde et les fièvres paratyphoïdes et d'autre part les salmonelloses non typhiques (ou non typhoïdiques) (Fig 13) (Aubry P., et al., 2021).



Figure 13 : *Salmonella*.

2.2. Méthode de diffusion des disques

La méthode de diffusion des disques est généralement employée comme une analyse préliminaire pour étudier l'activité antibactérienne ensuite viennent des méthodes plus détaillées. Dans cette méthode, les paramètres tels que le volume placé sur les disques de papier, l'épaisseur de la couche de gélose et si un dissolvant est employé varient considérablement entre les études (Manou et al., 1998; Burt, 2004). L'activité antibactérienne de nos extraits est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition (mm) autour des disques contenant l'extrait à tester contre les germes pathogènes après 24 h heures d'incubation à une température convenable de 37°C. Les valeurs indiquées sont les moyennes des trois mesures de chaque concentration.

❖ Principe

Le principe de cette méthode se résume en un disque de papier imprégné de l'extrait à différentes concentrations, déposé directement sur la gélose, uniformémentensemencée avec le germe à tester. La croissance du germe est inhibée à une distance du disque par rapport à sa sensibilité à l'extrait diffusé. La limite de la zone d'inhibition est détectée à l'oeil nu et s'accorde à l'endroit où la croissance bactérienne commence (Massiaen, C.M., et al.,1981). L'interprétation de la zone d'inhibition se fait à l'aide d'une règle en fonction des diamètres

donnés dans un tableau, ainsi les germes sont classés en « sensibles », « intermédiaires » ou « résistants » (**Biondi,D., et al., 1993**).

Cette méthode est reconnue comme fiable et reproductible, en plus de ça, elle constitue surtout une étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs (**Dima, 2016**). Elle permet également de mettre en évidence l'effet antimicrobien des composées phénoliques et de déduire la résistance et la sensibilité des souches microbiennes (**Amara et al., 2017**).

2.3. Mode opératoire

- **Revivification des souches**

Dans le milieu gélose nutritive pendant 24h

- **Préparation des disques**

On utilise dans cette méthode, le papier filtre découpé sous forme de disques circulaires environ de 6 mm de diamètre, afin d'obtenir une zone d'inhibition facile à mesurer.

- **Stérilisation du matériel**

Les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes ont été stérilisés en premier à sec dans un four pasteur, les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) et la gélose nutritive ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

- **Préparation de milieu de culture**

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu : Muller-Hinton. Dans un bain marie, il faut faire bouillir la gélose jusqu'à dissolution totale. Puis une stérilisation à l'autoclave est nécessaire avant utilisation. Enfin couler le milieu dans les boites de pétri et laisser refroidir (fig 14).

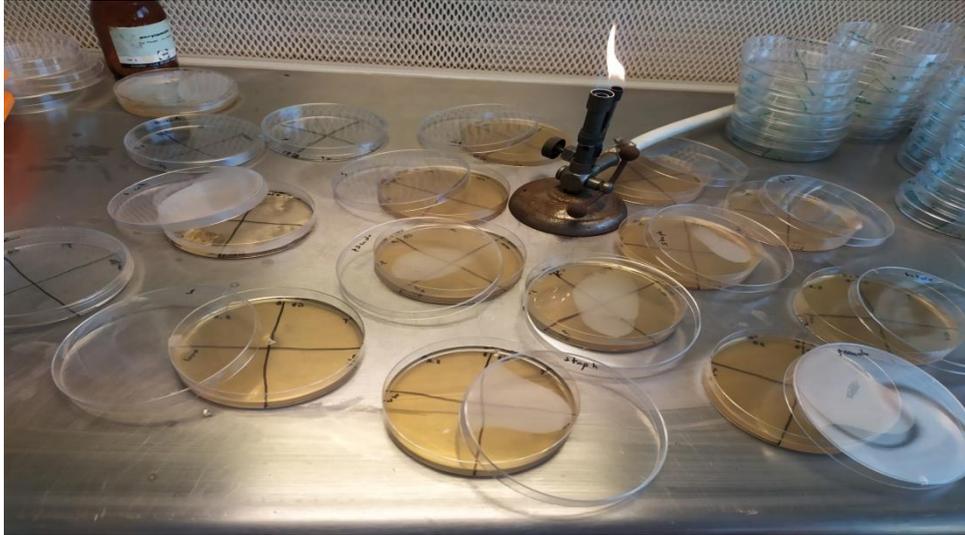


Figure 14 : Préparation de milieu de culture.

Pour les solvants nous avons utilisé :

- L'eau physiologique stérile : NaCl (9g/L), pour préparer et diluer les suspensions bactériennes
- DMSO : pour solubiliser l'extrait de (n-butanol et acétate d'éthyle)
- L'eau distillée stérile.

- **Préparation des dilutions des extraits de la plante**

Les extraits de la plante obtenus ont été dissouts dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) et ont été filtrés en utilisant des micro-filtres de 0,22 μm , pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives, sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 100 mg/ml.

- **Préparation d'inoculum**

Les souches bactériennes ont été mises en culture dans les bouillons nutritifs et incubées à 37 °C pendant 24h, leur densité doit être équivalente à 0.5Mc Ferland. L'inoculum peut être donc ajusté, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

- **Ensemencement et dépôt des disques**

Les suspensions bactériennes ont été étalées à la surface de la gélose M.H à l'aide des écouvillons. Les disques imprégnés des extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. De même les disques imprégnés de DMSO (témoin négatif) ont été déposés. Les boîtes de pétri sont

incubées pendant 24 heures à 37°C, l'expérience est répétée deux fois pour chaque extrait et pour chaque espèce bactérienne (fig 15) et (fig 16).



Figure 15 : Ensemencement.



Figure 16 : Dépôt des disques.

- **Lecture**

La lecture des résultats s'est faite 24 heures après l'incubation, par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque (fig.17) à l'aide d'une règle en (mm). Le diamètre détermine l'efficacité de la matière active.

Après mesure de la zone d'inhibition, les souches sont classées en :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre moins de 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre plus de 20 mm. **(Ponce *et al.*, 2003).**

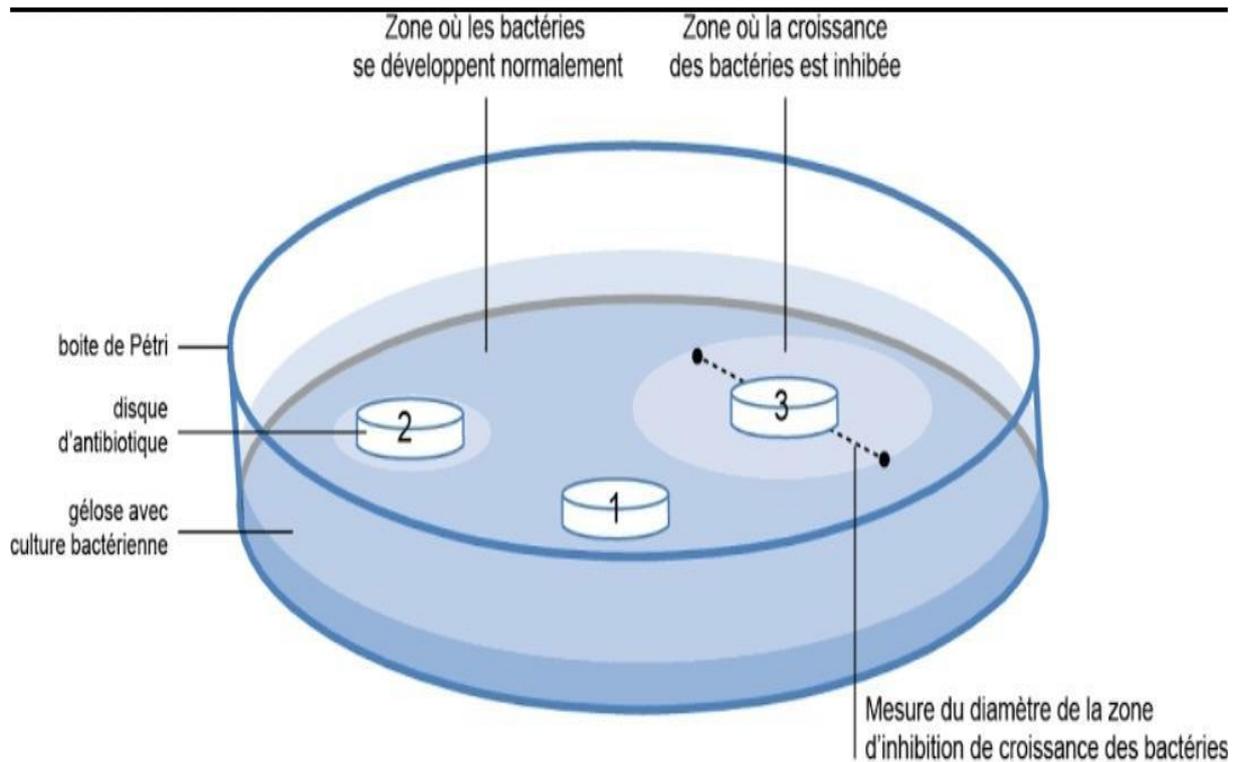


Figure 17 : Détermination de la zone d'inhibition par la méthode de diffusion des disques (Zaiki, 1988).

Chapitre III :
Résultats et
discussion

1. Activité antibactérienne des extraits concentrés et dilués (*Centaurea dimorpha*)

Concernant les extraits concentrés et dilués, des zones d'inhibition sont observées. Les résultats notés sont les moyennes des ensembles des diamètres du même essaie.

Les diamètres des zones d'inhibition (mm) obtenus sont représentés dans les tableaux suivants :

Tableau 4 : Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol (*Centaurea dimorpha*) mesurée en mm.

N-but	<i>Escherichia. Coli</i>	<i>Staphylocoques aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>
SM	7	8	8	8	10	7.5
½	6.5	7	7	7	8	7
¼	6.5	7	7	6.5	7	6.5

Tableau 5 : Activité antibactérienne de l'extrait acétate d'éthyle (*Centaurea dimorpha*) mesurée en mm.

acétate	<i>Escherichia. Coli</i>	<i>Staphylocoques aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>
SM	10	7	8	8	8	7
½	8	6.5	7.5	7	7	6.5
¼	7	6.5	7	7	6.5	6

Concernant les extraits concentrés, des zones d'inhibition sont observées indiquant que tous les extraits concentrés ont une activité antibactérienne.

Les diamètres d'inhibition obtenus se trouvent entre 6,0 à 10 mm, les extraits sont actifs à différents degrés sur l'ensemble des bactéries testées.

La plus grande zone d'inhibition est celle de l'extrait N-butanol envers la souche bactérienne *Enterococcus* avec un diamètre de 10 mm et aussi pour l'extrait acétate d'éthyle envers la souche bactérienne *Escherichia Coli* avec un diamètre de 10 mm.

La plus petite zone d'inhibition est celle de l'extrait acétate d'éthyle vis-à-vis de la souche *Klebsielle pneumonia* avec 6.0 mm de diamètre.

2. Activité antibactérienne de l'extrait Acétate- d'éthyle (*Centaurea dimorpha*)

L'activité antibactérienne de l'extrait *Acétate- d'éthyle* de l'espèce *Centaurea dimorpha* est représentée dans la figure suivante :

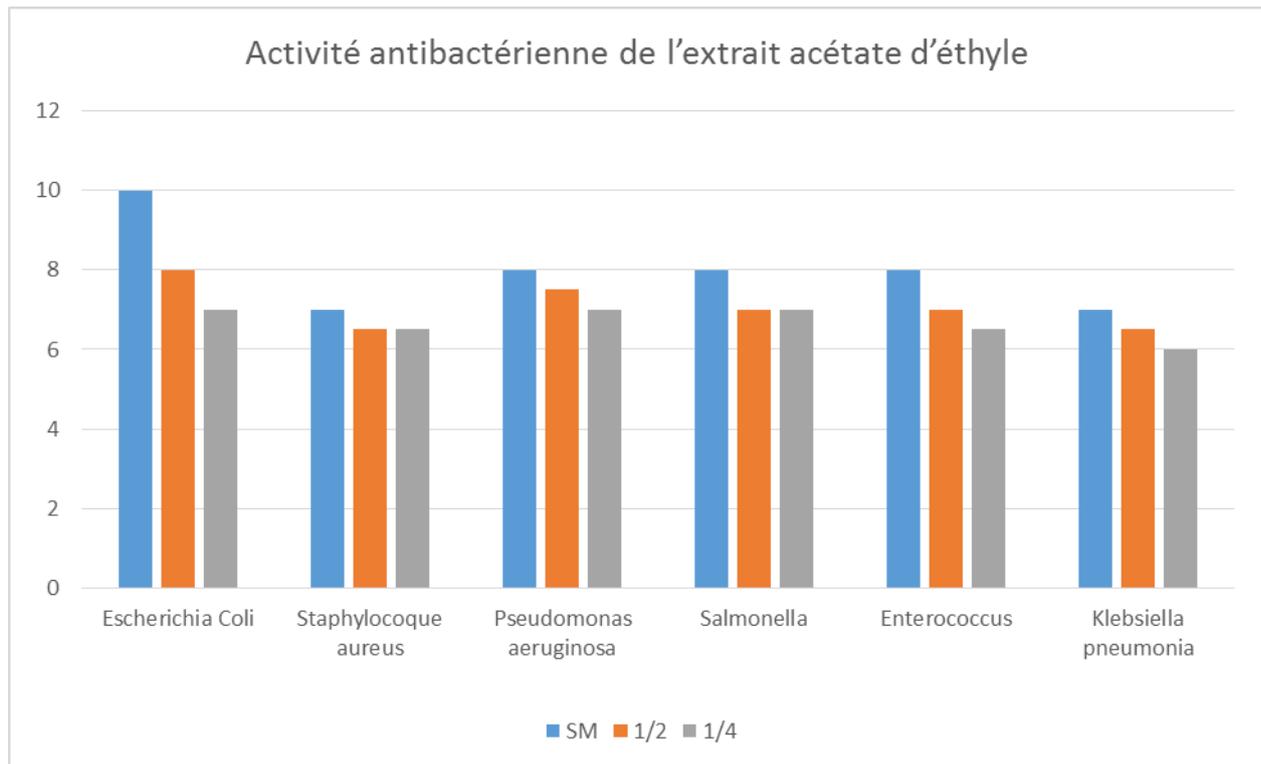


Figure 18 : Activité antibactérienne de de l'extrait Acétate- d'éthyle (*Centaurea dimorpha*).

Les résultats concernant les extraits non concentrés ou dilués (1/2, 1/4,) montrent que ces derniers n'ont aucun effet envers les souches testées *E-Coli* , *Staph* , *Klebsiella* , *Pseudo* , *Salmonella* et *Enterococcus*.

On observe un effet antibactérien envers toutes les souches avec la concentration initiale (SM) de l'extrait (≥ 8 mm) sauf chez les souches *Staph* et *Klebsiella* qui montrent une résistance car le diamètre est inférieur à 8 mm. Egalement un effet antibactérien est positif avec la dilution 1/2 contre la souche *E-Coli*.

Diamètre des zones d'inhibition (mm) de l'extrait Acétate d'éthyle (Centaurea dimorpha)

Selon les résultats obtenus, les souches bactériennes testées sont apparues de résistantes à sensibles vis-à-vis de l'extrait Acétate d'éthyle. Cela montre clairement que cet extrait exerce une activité antibactérienne sur une seule souche parmi les six souches qu'on a étudié ; *Escherichia Coli* présentant une zone d'inhibition de 10 mm indique quel est sensible, *Enterococcus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella* avec une zone d'inhibition de 8 mm,

Staphylococcus aureus et *Klebsiella pneumonia* avec une zone d'inhibition de 7 mm se sont montrées résistantes au même extrait.

Cela peut être expliqué par le fait que l'activité antibactérienne de l'extrait de la plante *Centaurea dimorpha* est due aux différents agents chimiques présents dans cet extrait y compris les flavonoïdes, les tannins et les tri terpènes principalement les saponosides. D'autres chercheurs ont montré que l'activité antibactérienne est due à la nature des bactéries de Gram- ou Gram+ qui est liée à la différenciation dans la structure membranaire de ces bactéries et aussi au mode d'extraction et la concentration du principe actif.

L'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brut étudié traduit l'action bactériostatique. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. Comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait à une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 8 mm (Marjorie,1999).

3. Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol (*Centaurea dimorpha*)

L'activité antibactérienne de l'extrait *N-butanol* de l'espèce *Centaurea dimorpha* est représentée dans la figure suivante :

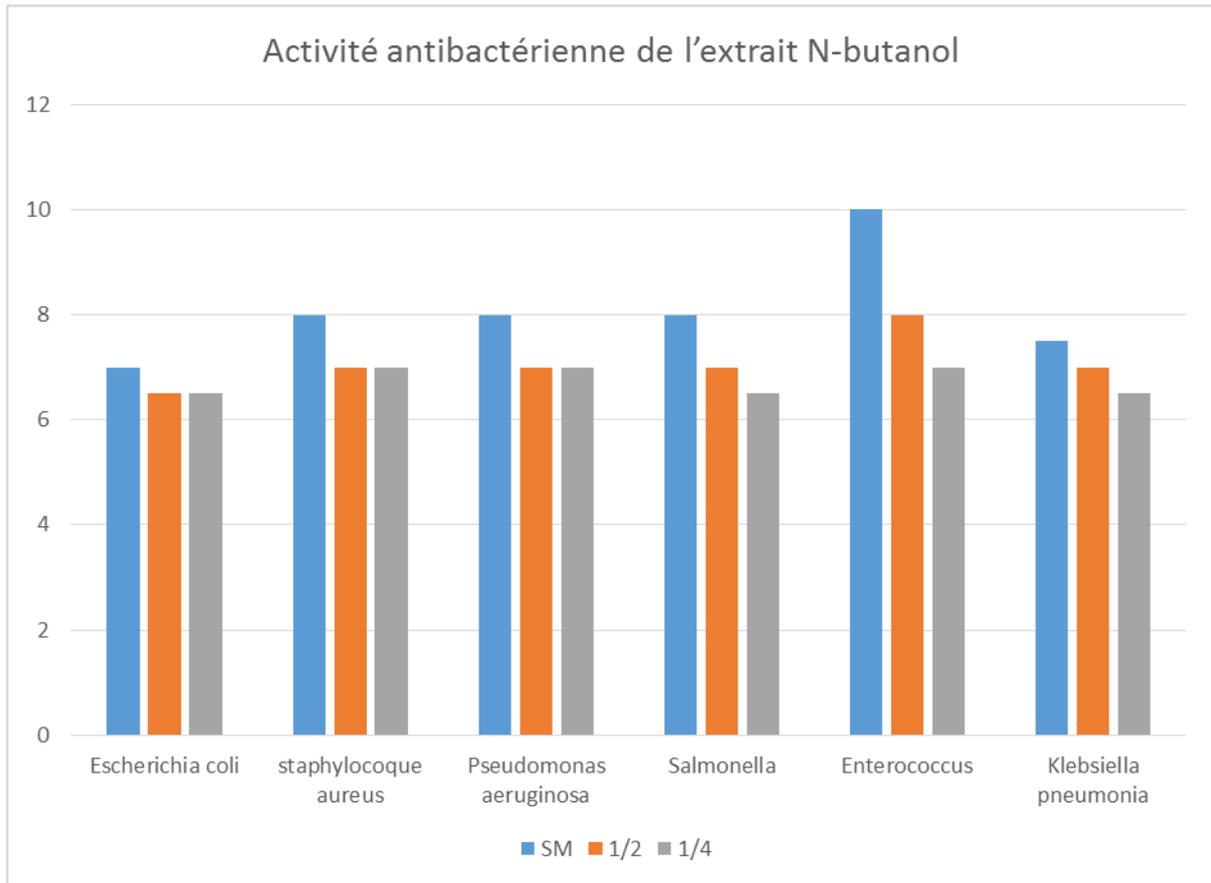


Figure 19 : Activité antibactérienne de de l'extrait N-butanol (*Centaurea dimorpha*).

Les résultats concernant les extraits non concentrés ou dilués (1/2 , 1/4) montrent que ces derniers n'ont aucun effet antibactérien envers les souches testées.

On observe un meilleur effet antibactérien envers la souche *Enterococcus* avec la concentration initiale (SM) de l'extrait qui présente l'effet maximal d'inhibition.

Les autres dilutions du même extrait pour les mêmes souches ne possèdent pas une activité car le diamètre est inférieur à 8 mm ; seuil à partir duquel on peut parler d'une activité antibactérienne ; sauf chez la souche *Enterococcus* qui montre une activité avec la concentration 1/2 (figure12).

Diamètre des zones d'inhibition (mm) de l'extrait N-butanol (Centaurea dimorpha)

Selon les résultats obtenus, les souches bactériennes testées sont apparues de résistante à sensibles vis-à-vis de l'extrait butanolique de l'espèce *Centaurea dimorpha*. Cela montre clairement que cet extrait exerce une activité antibactérienne sur une seule souche parmi les

six souches qu'on a étudié ; avec un diamètre d'inhibition vis-à-vis de la bactérie Gram (+) : *Enterococcus*, avec une zone d'inhibition pour la concentration initiale (SM) de 10 mm. En revanche, aucune activité n'a été montrée contre *Esherichia coli*.

Les souches *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas Auginosa*, *Salmonella*, *Klebsiella Pneumonia* ont montré résistance contre l'extrait n-butanol, avec un diamètre d'inhibition de 8 mm , 8 mm, 8mm , 7.5 mm respectivement.

Selon les résultats précédents, on peut déduire que l'extrait n-butanol présente une activité antibactérienne comme celle de l'acétate d'éthyle, surtout pour la bactérie *Enterococcus* avec l'extrait n-butanol.

L'hypersensibilité de la bactérie *Enterococcus* vis-à-vis de l'extrait butanolique est probablement due à la sensibilité des bactéries Gram+ aux changements environnementaux externes tels que la température, le pH et les extraits naturels, due à l'absence de la membrane externe (**Balentine et al., 2006**). Alors que, *Esherichia coli* a montré une résistance contre l'extrait butanolique .

D'autres chercheurs, **Benyagoub et al., 2016** ont montré que l'activité antibactérienne est due à la nature des bactéries Gram (+) ou Gram (-), qui est liée à la différenciation dans la structure membranaire de ces bactéries et aussi au mode d'extraction et la concentration du principe actif.

L'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brut étudié traduit l'action bactériostatique. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. Comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait a une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 12 mm (**Sagdiç, 2003**).

En prenant en compte les résultats obtenus auparavant, on trouve que les extraits (acétate d'éthyle, n-butanol) de la plante, présentent plus au moins, la même capacité (ou activité) antibactérienne vis-à-vis des souches bactériennes :, *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas Auginosa*, *Salmonella*, *Klebsiella Pneumonia*.

La différence, apparait dans l'action efficace de l'extrait acétate d'éthyle de la plante *Centaurea dimorpha* contre la bactérie *Esherichia coli*, contrairement à l'extrait n-butanol qui montre une activité antibactérienne contre la souche *Enterococcus*.

*Conclusion
générale et
perspectives*

L'Algérie a un héritage végétal important en raison de sa richesse et de sa biodiversité dans les régions côtières, les montagnes, les hauteurs, les steppes et les oasis sahariennes. Cette richesse floristique est considérable et comporte des milliers des substances naturelles qui offrent des potentialités considérables comme : des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, en pharmacie en cosmétologie, en agriculture. Ce nouvel intérêt est dû en partie au fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et en revanche, les effets secondaires des médicaments préoccupent les consommateurs qui se tournent vers des soins moins agressifs pour le corps.

À la fin de ce travail visant à étudier les activités antibactériennes des deux extraits préparés à partir de la macération de la plante médicinale algérienne, appartenant à la famille des *Asteraceae* et au genre *Centaurea*, parmi les familles les plus importantes de la flore Algérienne et les plus utilisées en médecine traditionnelle, il semble que cette plante *Centaurea dimorpha* a des vertus qui peuvent justifier leur usage en médecine traditionnelle.

L'activité antibactérienne de l'extrait N-butanol et acétate d'éthyle est évaluée par la méthode des disques contre six souches de Gram + et Gram - qui sont les suivantes *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas Auginosa*, *Salmonella*, *Klebsiella Pneumonia* , *Escherichia coli* , *Enterococcus* . Les résultats ont indiqué que les extraits N-butanol et acétate d'éthyle ont un effet bactériostatique sur toutes les souches testées à des degrés différents ; cette action est traduite par l'apparition des zones d'inhibition autour du disque imprégné.

La meilleure capacité de l'activité antibactérienne a été observée sur l'extrait n-butanol contre la souche *Enterococcus* et dans l'action efficace de l'extrait acétate d'éthyle contre la bactérie *Esherichia col* . Cela peut être expliqué essentiellement par la nature des composés qu'il contient comme ; les flavonoides, les tanines, les triterpènes les saponosides ainsi que d'autres composées de nature phénolique, qui sont classifiés comme composés antibiotiques très actifs.

En général, nous pouvons conclure que cette plante est riche en métabolites secondaires qui donnent une valeur thérapeutique et médicinale importante, mais cette étude reste préliminaire et pas indicative sur le mécanisme réel par lequel agit cette plante, et elle ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement actives.

Les résultats de la présente étude donnent un aperçu général sur le potentiel antibactérien des extraits de cette plante. Donc des études sur ces extraits méritent d'être poursuivies et les perspectives qui en résultent sont de :

- Poursuivre les études sur les activités biologiques des espèces du genre *Centaurea* afin d'améliorer des antibiotiques à partir des extraits de ces plantes.
- Etudier d'autres activités de ce genre (anti-inflammatoire, anticancéreuse) afin de confirmer ou d'infirmer l'activité biologique attribuée à cette espèce.
- Déterminer le mode d'action de ces substances. Il serait aussi très utile de tester leur toxicité *in vivo* dans le but de mettre en place des traitements naturels de maladies infectieuses mieux tolérés.

Références
Bibliographiques

A

A.G.Gonzalez, J.M.Ortega, J.Bermjo et J.l.breton. anales.Soc.Esp.Fis.Quin, 1971, 67, P1243

ABABSA Zine el abidine.Caracterisation pharmacotoxicologique et etudephytochimique de Centaureadimorpha. Memoire pour obtenir le diplome de magister.Constantine : Université mentouriconstantine, 2009,11 p.

Aclinou,P. , A. Boukerb, J. Bouquant et G. massiot, plantes des aures, constituants des racines de centaurea, plantes med et phytothérapie,1982, p303.

Ahmed, Z. F., Hammoud, F. M., Rizk, A. M. And Ismail, S. L, 1970, Planta Med., 18, 227 231.

Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, O., and Iwatsuki, K. (2001). Antibacterial action of several tannins against Staphylococcus aureus. Journal of Antimicrobial Chemotherapyjac. 48 (4): 487-491

Ali-dellile, L. (2013). Les plantes médicinales d'Algérie. Berti Edition Alger. 6-11.

Allal, A. (2016). Etude phytochimique et activités antioxydantes de quelques extraits d'une plante de la région de Tlemcen : Psoraleabituminosal. Mémoire de master. Chimie. Tlemcen, Université Abou BekrBelkaid. Algérie. Page: 16.

Amara, N., Boughérara, Y. (2017). Activité antibactérienne de l'huile essentielle du Cyprés vert (Cupressus Sempervirens L.). Algerian Journal of Natural Products. 5(2): 455-462.

AmraniJoutei, K., et Yves Glories. (1994). “Étude En Conditions Modèles de l'extractibilité Des analysis of inoculativefreezing in an insect.Cryo. Lett. 13: 355-362.

AmraniJoutei, K., et Yves Glories. (1994). “Étude En Conditions Modèles de l'extractibilité Des Composés Phénoliques Des Pellicules et Des Pépins de Raisins Rouges.” OENO One 28 (4): 303.

Antibois-responsable, KlebsiellaPneumoniae (BACILLE DE FRIEDLANDER), 2021.
Dispo sur : <https://www.antibio-responsable.fr/bacteries/klebsiella/>

Archambaud, M., Clave, D. (2007) . Fiche technique: Enterococcus faecalis. le 5 juin 2007 <<https://www.ctcb.com/documentation/Fiches/techniques/Enterococcus/faecali>. [le 22 mai 2022].

B

Baharfar, R., Khalilzadeh, M., Gheibi, S., Jazayeri, O., Azimi, R., et T. M. (2009). «Antioxidant and antibacterial activities of the methanolic extract of Centaurea zuvandica Sosn. » Iranian Journal of Organic Chemistry, pp. 172-177.

Belkacem, S., Belbache, H., Boubekril, C., Mosset, P., Rached Mosbah, O., Marchioni, E., Benayache, S., et Benayache, F. (2014). «Biological and Chemical Sciences Chemical Constituents from Centaurea parviflora Desf. » Research Journal of Pharmaceutical. pp. 0975-8585.

Bellakhdar J. 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires - Saint -Etienne, Edit. Ibis Press, 764 pp.

Berrazeg, M., S. M. Diene, M. Drissi, M. Kempf, H. Richet, L. Landraud, and J. M. Rolain. 2013. Biotyping of multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae clinical isolates from France and Algeria using MALDI-TOF MS. PLoS. One. 8:e61428.

Berthod, A., Billardello, B., and Geoffroy, S. (1999). Polyphenols in countercurrent chromatography. An example of large scale separational analysis. EDP sciences, Wiley-VCH. 27, 750-75.

Biondi, D., Cianci, P., Geraci, C., Ruberto, G., & Piattelli, M. (1993). Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. Flavour and fragrance journal, 8(6), 331-337.

Bohlmann, F., S. Postulka et J. Ruhke. 1988, 91, p1462.

Bouallala .M. Chahma., 2014 : Equation d'estimation de la phytomasse aérienne des plantes spontanées pérennes broutées par le dromadaire au Sahara Nord-Occidental Algérien Revus des BioRessources Vol 5 n°1 juin 2014, 29-36.

Boudjellalkhamssa thèse de magister (2008). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* L.10-30p.

Boukadida J., Salem N., Hannachi N., Monastiri K., Snoussi N. 2002. Exploration génotypique d'une bouffée épidémique nosocomiale néonatale à *Klebsiella pneumoniae* productrice de bêta lactamase à spectre étendu. *Arch Pédiatr* 2002 ; 9 :463-8.

Brigitte., S, biologie microbiologie., 2006 : Résumé de cours, exercices corrigés et commentés, ed Ellipses, France., Pp 272-276.

Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie Plantes médicinales, technique et documentation, p.266- 275- 2 ème édition. Lavoisier. Paris.

Bruneton, J., 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Techniques et Documentation. Lavoisier. Paris. 1120p.

Burnichon, N., Texier A. (2003). L'antibiogramme : la détermination de la sensibilité aux antibiotiques. DES bactériologie

Burt, S., Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. [en ligne]. (2004), vol. 94, p.223-253. Disponible sur : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160504001680>

C

Carbannelle, B. (1988). Bactériologie médicale, techniques usuelles. Paris, 330.

CHETLEY .A, Médicaments à problèmes, édition ReMed, Paris., 2000 : Pp405 in thèse de doctorat UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU.

Clave, D. (2013). Fiche technique: *Staphylococcus aureus*. Laboratoire de Bactériologie Hygiène, CHU de Toulouse - Institut Fédératif de Biologie, Centre Toulousain pour le

Contrôle de qualité en Biologie clinique. Fiche technique bactériologique 131 : 1-4.

Clifford, M., and Scalbert, A. (2000). Ellagitannins-nature, occurrence and dietaryburden. *Sci. Food Agric.* 80: 1118-1125.

Coffi, R., Philippe, E. T., ZannouBoukari, Et Glitho, I. (2012). Efficacité Des Composés Métabolites Secondaires Extraits Des Folioles Du Palmier A Huile.

Collins., Lync. (1976). *Microbiological methods.* 4th edition, 234-247.

Cowan, (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinicalmicrobioloyreviews.* 12(4) : 564- 570.

Crestini, C., Lange, H. (2015). A novel and efficient immobilized tannase coated by the layer-by-layer technique in the hydrolysis of gallotannins and ellagitannins. *Microchemical Journal*, volume 123, pp: 139– 147.

Crozier, A., Clifford, M.N. and Ashihara, H. (2006) *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet.* Blackwell Pub., Oxford, Ames, Iowa, xii, 372 p.

D

Dorman, H. J. D. (2000). Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oil. *Journal of Applied Microbiology.* 88-308-316.

E

El Fertas-Aissani R., Messai Y., Alouache S., Bakour R. 2012. Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiellapneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. PATBIO-3048; No. of Pages 8.

ElhassanBenyagoub, Amina Boulanouar, MeriemSouid Ahmed, NouriaNebbou&Ahmed Bouloufa. (2016). Essai d'évaluation de l'activité antibactérienne de la gommearabique d'Acacia tortilis (Forssk) contre quelques souches bactériennes pathogènes, *Bulletinde la Société Royale des Sciences de Liège.* 85: 237-252.

Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L., Curini, M. 2007. Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*, 68 : 939-953.

F

FIGARO Santé, Salmonellose, qu'est-ce que c'est ?, 2014, Dispo sur :<https://sante.lefigaro.fr/sante/maladie/salmonellose/quest-ce-que-cest>

Flamini, G., Bulleri, C., Bulleri, C., Morelli, I. And Manunta, A. 2000, A New Flavonoid Glycoside From *CentaureaHorrida*, *J. Nat. Prod.*, 63, 622-663

Fortuna, A. M., Riscalá, E. C., Catalan, C. A. N., Gedris, T. E. And Herz, W. 2001, Sesquiterpene Lactones From *CentaureaTweediei*, *Biochemical Systematics And Ecology*,29, 967-971.

G

Green, K. (2012). Mise à jour sur le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline. *Toronto Invasive BacterialDiseasesNetwork*. Volume 4 (3): 1-4.

Guignard, J. L. (1996). *Biochimie Végétale*. Ed. Masson, Paris. France. 274 P.

H

H. Skaltsa, D. Lazari, C, Panagouleas, E. Georgiadou, B. garcia et M. S. Sokovic, *Phytochemistry*, 2000,55(8), p 908.

Hahn, M. W., Lunsdorf, H., Wu. Q., Schauer, M., Hofle, M. G., Boenigk, J., Stadtler, P., 2003.

Isolation of novel ultramicrobacteria classified as antibacteria from five freshwater abitats in Europe and Asia. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 1442-1451.

Hammer, K. A. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of AppliedMicrobiology*, 86-985-990.

Hartmann, T., 2007. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*. p68, 2831–2846.

Haslam, E. (1994). Natural polyphenols (vegetable tannins):GallicAcidmetabolism. *Nat. Prod.* p11, 41-66.

Hellwig, F. H. (2004). Centaureinae (Asteraceae) in the Mediterranean history of ecogeographical radiation. *Plant Syst. Evol.* 246: 137-162.

HennequinC.,Forestier C. 2007.Influence of capsule and extended-spectrum beta-lactamases encoding plasmids upon Klebsiellapneumoniae adhesion. *Research in Microbiology* 158(2007) 339-347

Hopkins, W. G. (2003). *Physiologie végétale*. 2éme édition américaine, de Boeck et Lancier S.A, Paris : 514.

J

J. M Viguera,j.sanchez et i.sanchez grassas yaceites,1996,15, p181

Jackman and Smith. (1996). Anthocyanins and betalains, in *Natural food colorants*.2nd ed., eds., G.A.F. Hhendry and J.D. Houghton, Glasgow, UK: blackie Academic and Professional, pp. 244-309.

Jr, J. W. E., Balentine, D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., et Folts, J. (2005) «Flavonoids and Heart Health, » *The Journal of Nutrition*, p. 719.

K

Karaali, A., Boyacioălu, D., Gönez, G., et & Ö. B. (2004) «Flavonoids in fruit and vegetables: their impact on food quality, » nutrition and health–STREP or CA European commision’s the 6th framework programme for research.

KH. M. Alimov, Questions of pharmacy and pharmacology, Tashkent, 1973, 1, p 94.

Kilic, O. (2013). «Essential oil compounds of three Centaurea L. taxa from Turkey and their chemotaxonomy, » *J Med Plants Res*, vol. 7(19), pp. 1344-1350.

Koca, U., Süntar, T. P., Keles, H., Yesilada, E., et Akkol, E. K. (2009). «In vivo anti-inflammatory and wound healing activities of *Centaureaiberica*Trev. » ex Spreng. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 126(3), pp. 551-556.

L

Labeled, F., Masullo, M., Mirra, V., Nazzaro, F., Benayache, F., Benayache, S., et Piacente, S. S. (2019). «Amino acid-sesquiterpene lactone conjugates from the aerial parts of *Centaureapungens* and evaluation of their antimicrobial activity, » *Fitoterapia*, pp. 51- 55.

Le Loir, Y., et Gautier, M. (2010). *Staphylococcus aureus*. Édition Tec & Doc. Edition Médical internationales. 300 p.

LEBRUN J.P., (1998): Catalogue des plantes vasculaires de la Mauritanie et du Sahara Occidental. Mémoires de botanique systématique Boissiera vol 55. Éd. Conservatoire et jardin botanique de Genève. 321 p.

Leminor L., et Veron M., 1998 : Bactériologie médiale. *Flamm. Méd. Sci*, 273-294.

Leon Le Minor, Michel Veron, *Bactériologie Médicale* 2ème Edition Paris, 1989, 396-795p.

Leonardi, M., Ivaldi, G., Santoro, L., Lazzari, R., Ferrari, A., Morra, A., Caldarella, P., Burgoa, L., Bassi F., et Sangalli, C. (2011). «Long-term side effects and cosmetic outcome in a pool of breast cancer patients treated with intraoperative radiotherapy with electrons as sole treatment, » *Tumori*, vol. 98 (3), p. 324–330.

M

Macheix, J. J., Christian, JA., Allemand, J. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Collection biologique, press polytechniques et universitaires, Romandes pp.1-192.

Malešev, D., et Kuntić, V. (2007) «Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions,» *Journal of the serbian chemical society*, vol. 72 (10), pp. 921-939.

Manou I., Bouillard L., Devleeschouwer M.-J. and Barel A.-O. Evaluation of the preservative properties of *Thymus vulgaris* essential oil in topically applied formulations under a challenge test. [en ligne]. (1998), vol. 84, n°3 p. 368-376. Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9721641>

Marjorie, M. C. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev.* 12 (4):564-582.

Massiaen, C.M., Cassini, R., 1981. Taxonomy of *Fusarium*. In "Fusarium; Disease, Biology and Taxonomy". Pennsylvania State University Park, 427-445.

Mishio, T., Houma, T., Iwashina, T., 2006. Yellow flavonoids in *Centaurea ruthenica* as flower pigments. *Biochemical Systematics and Ecology.* 34, 180-184.

N

Nasri, I. (2016). Etude phytochimique et activités biologiques de : *diplotaxis* sp. Application à l'étude des cellules souches coliques pathologiques. Thèse de doctorat.

Newman, D. J., Cragg, G. M. (2012). Natural Products As Sources Of New Drugs Over The 30 Years From 1981 To 2010. *J. Nat. Prod.* Vol. (75): 311-335.

Nijveldt, R.J., Nood, E.V., Hoorn, D., Boelens, P., Norren, K., and Leeuwen, P. (2001). Flavonoids, a review of probable mechanisms of action and potential application. *American Society for Clinical Nutrition.* 74: 418-425.

O

ORCHIDEES EN NORD SFO-Section Nord. Fleur de Djerba, *Centaurea dimorpha*, 2020, Dispo sur : <https://www.orchid-nord.com/Flore-Djerba/Centaurea%20dimorpha/Centaurea-dimorpha.html>

OZENDA P (1991): Flore de sahara (3 édition mise à jour et augmentée) Paris , Editions du CNRS, 662p. + cartes

P

Pandey, K. B et Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health

and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Vol. 2(5): 270 – 278.

Pierre Aubry, Bernard-Alex Gaüzère . *Médecine Tropicale* [en ligne]. 15/06/2021, p 01, Disponible sur : < www.medecinetropicale.com > . [Consulté le 24 mai 2022]

Ponce, A. G., FRITZ, R., DELVALLE, C. & Roura, S. I. (2003). Antimicrobiol Activity Of Essential Oils On The Native Microflora Of Organic Swiss Chard.

Q

Quezel, P. et Santa, S, 1963, *Nouvelle Flore D'Algérie Et Des Régions Désertiques Méridionales*, Tome II, CNRS, Paris

R

R. Riberan gayon-les composés phénoliques des végétaux dunod, paris, 1968

Richard, C. et Kiredjian, M. (1995). Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à gram négatif aérobies strict : Pseudomonas, Alcaligenes, Flavobacterium, Acinetobacter, Brucella, Bordetella. Ed. Institut Pasteur, Paris, 42-43 p

Rojas, R. R., Charlet, L. D., Leopold, R. A. (1992). A differential scanning calorimetric method. *Am. J. Clin. Pathol*, 45, 493.

S

Santos-Buelga, C., and Scalbert, A. (2000). Proanthocyanidins and tannin-like compounds nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of Sci. Food Agric*. 80: 1094-1117.

Sarni-manchado, P., & Cheynier, V. (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*, 1ère édition. TEC et DOC, Paris: 1.

Sarni-Manchado, P., et Cheynier, V. (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*. Ed. Tec & Doc, Paris, p. 2-10.

T

Top Santé. *Escherichia Coli*, Qu'est-ce que la bactérie Escherichia coli ?, 2017, Dispo sur : <https://www.topsante.com/themes/escherichia-coli>

Tondi, G., Schnabel, T., Wieland, S., and Petutschnigg, A. (2013). Surface properties of tannin treated wood during natural and artificial weathering. *Int. Wood Prod. J.* 4, 150–157.

Trease, G. F. And Evans, W. C, 1983, *Pharmacognosy*, 225, 514, Bailliére, Tindall, London, Philadelphia, Toronto, Mexico City, Rio De Janero, Tokyo, Hong Kong

V

Vandepitte, J., Engbaek, E., Plot, P., Heuk, CC. (1994). *Bactériologie Clinique : techniques de base pour le laboratoire O.M.S.* Genève, 62-64.

Z

Zaika, L.L. (1988). Spices and Herbs: their antimicrobial activity and its determination. *Journal of Food Safety*, 9: 97-117

Zeyons, O. (2008). Études des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement .thèse doctorat, université de Paris VI - Pierre et Marie Curie, 71.

Résumé

Centaurea sont des plantes endémiques appartenant à la famille des Astéracées, localisée au niveau de toute l'Algérie, leur richesse en métabolites secondaires nous a conduit à procéder à leur extraction. à partir de feuilles par le méthanol ; puis l'extrait méthanolique est fractionné en utilisant des solvants à polarité croissante.

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits : N-butanol et Acétate d'éthyle de l'espèce *Centaurea dimorpha*, utilisant la méthode de diffusion à partir des disques imprégnés avec différentes concentrations de l'extrait sur six souches à Gram- à Gram+ (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella*).

Les résultats montrent que l'extrait Acétate d'éthyle exerce une activité antibactérienne sur une seule souche parmi les six souches étudiées à savoir *Escherichia Coli* présentant une zone d'inhibition de 10 mm qui est donc sensible. Alors que l'extrait n-butanol exerce aussi une activité antibactérienne sur une seule souche *Enterococcus*, avec une zone d'inhibition pour la concentration initiale (SM) de 10 mm.

L'activité antibactérienne est principalement attribuée à l'abondance de métabolites secondaires dans ces plantes. Ces résultats pourraient justifier l'utilisation de cette plante pour le traitement de certaines maladies d'origine bactérienne, et ses métabolites secondaires pourraient être utilisés à des fins thérapeutiques, notamment antibactériennes.

Mots clés : activité antibactérienne, métabolites secondaires, *Centaurea dimorpha*

Abstract

Centaurea are endemic plants belonging to the Asteraceae family, localized at the level of all Algeria, their richness in secondary metabolites led us to proceed to their extraction from leaves by methanol; then the methanolic extract is fractionated by using solvents with increasing polarity

The objective of this study is the evaluation of the antibacterial activity of the extracts: N-butanol and Ethyl acetate of *Centaurea dimorpha* species, using the diffusion method from the disks impregnated with different concentrations of the extract on six Gram- to Gram+ strains (Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Salmonella) .

The results show that the ethyl acetate extract exerts an antibacterial activity on only one strain among the six strains studied, namely Escherichia coli with a 10 mm zone of inhibition which is therefore sensitive. While the n-butanol extract also exerts antibacterial activity on a single Enterococcus strain, with a zone of inhibition for the initial concentration (SM) of 10 mm.

The antibacterial activity is mainly attributed to the abundance of secondary metabolites in these plants. These results could justify the use of this plant for the treatment of some diseases of bacterial origin, and its secondary metabolites could be used for therapeutic purposes, especially antibacterial.

Key words : antibacterial activity, secondary metabolites, *Centaurea dimorpha*

ملخص

Centaurea هي نباتات مستوطنة تنتمي إلى عائلة Asteraceae ، وتقع في جميع أنحاء الجزائر ، وقد دفعنا ثرائها في المستقبلات الثانوية إلى المضي قدماً في استخراجها. من أوراق الميثانول. ثم يتم تجزئة المستخلص الميثانولي باستخدام مذيبات ذات قطبية متزايدة.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلصات: N-بيوتانول وخلات الإيثيل من فصيلة *Centaurea dimorpha* ، باستخدام طريقة الانتشار من أقراص مشربة بتركيزات مختلفة من المستخلص. سلالات (*Staphylococcus aureus* ، *Enterococcus faecalis* ، *Escherichia coli* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Klebsiella pneumoniae* ، *Salmonella*).

أظهرت النتائج أن مستخلص أسيتات الإيثيل يمارس نشاطاً مضاداً للبكتيريا على سلالة واحدة من بين السلالات الست المدروسة ، وهي *Escherichia Coli* مع منطقة تثبيط تبلغ 10 مم وهي بالتالي حساسة. بينما يمارس مستخلص n-بيوتانول أيضاً نشاطاً مضاداً للبكتيريا ضد سلالة واحدة من المكورات المعوية ، مع منطقة تثبيط للتركيز الأولي (SM) يبلغ 10 مم.

يُعزى النشاط المضاد للبكتيريا بشكل أساسي إلى وفرة المستقبلات الثانوية في هذه النباتات. يمكن أن تبرر هذه النتائج استخدام هذا النبات لعلاج أمراض معينة من أصل بكتيري ، ويمكن استخدام نواتج الأيض الثانوية للأغراض العلاجية ، ولا سيما مضادات البكتيريا.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للبكتيريا ، المركبات الثانوية، *Centaurea dimorpha*

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : BENLAHRACHE Roumeissa
BOUKERZAZA Sami Boudjema

Evaluation de l'activité antibactérienne de deux extraits de la plante *Centaurea dimorpha*

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie

Résumé

Centaurea sont des plantes endémiques appartenant à la famille des Astéracées, localisée au niveau de toute l'Algérie, leur richesse en métabolites secondaires nous a conduit à procéder à leur extraction. à partir de feuilles par le méthanol ; puis l'extrait méthanolique est fractionné en utilisant des solvants à polarité croissante.

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits : N-butanol et Acétate d'éthyle de l'espèce *Centaurea dimorpha*, utilisant la méthode de diffusion à partir des disques imprégnés avec différentes concentrations de l'extrait sur six souches à Gram- à Gram+ (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella*).

Les résultats montrent que l'extrait Acétate d'éthyle exerce une activité antibactérienne sur une seule souche parmi les six souches étudiées à savoir *Escherichia Coli* présentant une zone d'inhibition de 10 mm qui est donc sensible. Alors que l'extrait n-butanol exerce aussi une activité antibactérienne sur une seule souche *Enterococcus*, avec une zone d'inhibition pour la concentration initiale (SM) de 10 mm.

L'activité antibactérienne est principalement attribuée à l'abondance de métabolites secondaires dans ces plantes. Ces résultats pourraient justifier l'utilisation de cette plante pour le traitement de certaines maladies d'origine bactérienne, et ses métabolites secondaires pourraient être utilisés à des fins thérapeutiques, notamment antibactériennes.

Mots-clefs : activité antibactérienne, métabolites secondaires, *Centaurea dimorpha*.

Laboratoires de recherche : Laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales, Département de Biochimie et Biologie Moléculaire et Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Université Frères Mentouri Constantine 1.

Membre de jury :

Encadreur : Dr BELLIL Inès (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : Dr BECHKRI Sakina (MCA- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : Dr BENCHIHEUB Meriem (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).