



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences  
de la Terre  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques

Référence ..... / 2025

## MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

---

Présenté et soutenu par :  
MEGHAZZI BAKHOUCHE Roukia MELIOUH Rabia Manar

Le: mercredi 18 juin 2025

## Étude de l'activité antibactérienne des extraits bruts et des huiles de quatre plantes

---

### Jury :

Dr.	BOUCIF Asma	MCB	Université de Biskra	Président
Pr.	MOUSSI Abdelhamid	Pr	Université de Biskra	Rapporteur
Dr.	GUEMMAZ Fateh	MCB	Université de Biskra	Examinateur

# **Remerciements**

*Tout d'abord, nous rendons grâce à Dieu Tout-Puissant, le Créateur Généreux, pour la force, la détermination et la patience qu'Il nous a accordées tout au long de ce travail.*

*Ce mémoire a vu le jour sous la précieuse supervision du **Dr Abdelhamid Moussa**, à qui nous exprimons notre profonde reconnaissance. Nous le remercions sincèrement pour la confiance qu'il nous a accordée, pour son accompagnement bienveillant à chaque étape de cette recherche, ainsi que pour ses conseils éclairés et son soutien constant, qui ont grandement contribué à l'aboutissement de ce travail.*

*Nos remerciements vont également aux honorables membres du jury d'évaluation, pour avoir accepté d'examiner ce travail, et pour le temps, l'attention et les remarques constructives qu'ils lui ont consacrés.*

*Nous adressons également nos vifs remerciements à l'ensemble des enseignants du Département de Biologie de l'Université de Biskra, et plus particulièrement aux professeurs **Dghima Amirouche et Zeroual Samir**, pour leur soutien particulier et leur implication dans notre formation scientifique et humaine au fil des années.*

*Nous tenons aussi à saluer chaleureusement le personnel du Département des Sciences de la Nature et de la Vie et de la science de la terre, notamment l'équipe de la bibliothèque, pour leur disponibilité, leur patience et leur amabilité au quotidien.*

*Enfin, à toutes les personnes qui nous ont soutenus, de près ou de loin, par un geste, un mot ou une prière, nous adressons nos remerciements les plus sincères.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude aux membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail.*

# Dédicaces

*Avec l'aide de Dieu, le Tout-Puissant, j'ai pu mener à bien ce modeste travail que je dédie :*

**À mes très chers parents, Ghassen et Aïcha**  
pour leur amour inconditionnel, leur soutien indéfectible et leurs prières silencieuses qui m'ont portée jusqu'ici. Vous m'avez inculqué les valeurs de l'honneur, de la droiture, du travail et du dévouement. J'espère que ce mémoire sera pour vous une source de joie et de fierté, récompensant tous vos sacrifices.

**À mes chers frères et sœurs :**

**Adnane**, toujours là pour m'épauler, avec une force discrète mais précieuse.  
**Tessnime**, symbole de joie et d'énergie dans mes périodes les plus éprouvantes.  
**Lokman**, dont le sourire innocent m'a toujours apporté du réconfort et du courage.

**À mon binôme, Manar**, pour sa précieuse collaboration, sa patience et son soutien constant, dans les bons moments comme dans les plus difficiles.

**À tous mes amis**, sans exception, pour leur présence, leur écoute, leurs encouragements et les rires partagés, dans les moments de doute comme dans ceux de bonheur.

**Aux nouveaux amis du laboratoire**, pour leur bienveillance, leur entraide, et les liens sincères tissés autour d'un objectif commun.

**À ma grand-mère Roukia Meghazzi et à mon grand-père Mohamed**  
Puisse Dieu vous accorder santé, bonheur et longue vie.

Veuillez recevoir dans ce travail l'expression de toute ma gratitude et de mon affection.

**À tous mes enseignants**, de l'école primaire jusqu'à l'université, qui ont contribué à forger mon esprit avec passion, rigueur et bienveillance.

**Mes frères d'un autre père, Ahmed et Islam**

*Merci pour vos encouragements continus et votre grande amour.*

*Et enfin...*

**À moi-même**, pour ma patience, ma persévérance, mon optimisme, mes nuits blanches, mes remises en question, mes progrès, et tous les efforts fournis jusqu'à l'aboutissement de ce travail

# Dédicaces

*Grâce à Dieu Tout-Puissant, j'ai puachever cet humble travail, que je dédie avec une immense gratitude à :*

## ***À mes chers parents (Yassin et Nabila)***

*Vous m'avez inculqué les valeurs d'honneur et de dévouement. J'espère que ce travail sera pour vous une source de joie et de fierté, et l'aboutissement de tous vos sacrifices. J'espère avoir été à la hauteur de votre confiance. Je prie Dieu de vous accorder santé, bonheur et longue vie.*

## ***Mes sœurs***

*Hadil qui m'a toujours accompagnée de sa présence subtile et précieuse.*

*Lina symbole de joie et d'énergie dans mes moments les plus sombres.*

*Arike dont le sourire innocent m'a toujours apporté réconfort et courage.*

## ***À toute ma famille***

*Merci pour votre présence constante, votre amour, votre soutien et la sérénité que vous m'apportez.*

*Que Dieu vous protège et vous accorde santé et bonheur. Ce travail vous est également dédié.*

## ***À mon amie Roukia***

*Rien n'est comparable à ton soutien, à ton écoute sincère et à ta fidèle amitié.*

*Merci d'être une lumière sur ce chemin*

## ***À tous mes professeurs***

*de l'école primaire à l'université, pour avoir façonné mon esprit avec passion, précision et bienveillance.*

## ***Et enfin à moi-même,***

*pour ma patience, ma persévérance, mon optimisme, mes nuits blanches, mes remises en question et mes efforts incessants pour mener à bien cet ouvrage.*

# Table de matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction.....	1

## Etude bibliographique

### Chapitre 1 : Présentation des plantes étudiées

1.Généralités sur les plantes .....	3
2. Présentation des plantes sélectionnées .....	3
2.1. <i>Citrus reticulata</i> .....	3
2.1.1. Taxonomie et synonymie .....	3
2.1.2. Description botanique .....	3
2.1.3. Composition phytochimique.....	4
2.1.4. Utilisation.....	4
2.2. <i>Bunium incrassatum</i> .....	5
2.2.1. Taxonomie et synonymie .....	5
2.2.2. Description botanique .....	5
2.2.3. Composition phytochimique.....	5
2.2.4. Utilisation .....	6
2.3. <i>Santolina africana</i> .....	6
2.3.1. Taxonomie et synonymie .....	6
2.3.2. Description botanique .....	7
2.3.3. Composition phytochimique .....	7
2.3.4. Utilisation .....	7
2.4. <i>Carthamus carduncellus</i> .....	8
2.4.1. Taxonomie et synonymie .....	8
2.4.2. Description botanique .....	8
2.4.3. Composition phytochimique.....	9
2.4.4. Utilisation.....	9

## **Chapitre 2 : Activité antibactérienne des plantes**

1.Extraits des plantes d'intérêt .....	10
1.2. Extrait brut .....	10
1.2.1. Description .....	10
1.2.2. Composant chimique .....	10
1.3. Huile essentielle .....	11
1.3.1. Description .....	11
1.3.2. Composition chimique.....	11
1.4. Huile fixes .....	11
1.4.1. Description .....	11
1.4.2. Composition chimique.....	12
2. Activité antibactérienne.....	12
2.1. Généralité.....	12
2.2. Mécanisme d'action d'extrait brut .....	12
2.3. Mécanisme d'action des huiles essentielles.....	13
2.4. Mécanisme d'action des huiles fixes .....	13

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre 3 : Matériel et Méthodes**

1. Matériel végétal.....	14
1.1. <i>Santolina africana</i> .....	14
1.2. <i>Citrus reticulata</i> .. .	14
1.3. <i>Bunium incrassatum</i> .....	14
1.4. <i>Carthamus carduncellus</i> .....	14
2. Matériel bactérien .....	15
2.1. Caractéristiques des bactéries testées.....	15
2.1.1. Bactéries à Gram positif.....	15
2.1.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	15
2.1.2. Bactéries à Gram négative.....	15
2.1.2.1. <i>Escherichia coli</i> .....	15
2.1.2.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	15
1. Préparation des huiles et des extraits.....	16
1.1. Préparation des huiles.....	16
1.1.1. Huile de <i>Citrus reticulata</i> ...-	16
1.1.2. Huile de <i>Bunium incrassatum</i> .....	16

1.2. Préparation d'extrait.....	16
1.2.1. Extrait de <i>Santolina africana</i> .....	16
1.2.2. Extrait de <i>Carthamus carduncellus</i> .....	17
2. Rendement.....	17
2.1. Rendement de l'extraction l'extrait brut.....	17
2.2. Rendement d'huile essentiel.....	18
2.3. Rendement d'huile fixe.....	18
3. Activité antibactérienne.....	18
3.1. Méthode de diffusion des disque.....	18
3.2. Mode opératoire.....	19
3.2.1. Milieux de culture.....	19
3.2.2. Repiquage des souche bactériennes.....	19
3.2.3. Préparation des disques.....	19
3.2.4. Stérilisation du materiel.....	19
3.2.5. Préparation des dilutions.....	20
3.2.5.1. Extrait.....	20
3.2.5.2. Huile essentielle.....	20
3.2.6. Préparation d'inoculum.....	20
3.2.7. Ensemencement.....	20
3.2.8. Application des disques.....	21
3.2.9. Expression des résultats.....	21
4. Méthodologie de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	22
4.1. Huile.....	22
4.2. Extrait .....	22
5. Analyse statistique.....	23
5.1. Analyse statistique globale.....	23
5.1.1. Identification des groupes homogènes.....	23
5.2. Analyse statistique partielle.....	24

#### **Chapitre 4 : Résultats et Discussion**

1. Rendement des extraits et des huiles.....	26
2. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	26
2.1. Visualisation graphique des résultats de l'activité antibactérienne.....	27
2.1.1. Extrait de <i>Santolina africana</i> .....	28
2.1.2. Extrait de <i>Carthamus carduncellus</i> .....	28

2.1.3. Huile fixe de <i>Bunium incrassatum</i> .....	29
<b>3.Traitemet statistique</b>	
3.1. Analyse globale.....	29
3.1.1. Analyse en composantes principales (ACP) et La classification hiérarchique ascendante (CHA).....	29
3.2. Analyse partielle.....	32
3.2.1. Effet des extraits végétaux et de la concentration sur la croissance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	33
3.2.2. Effet des extraits végétaux et de la concentration sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> (souche clinique) .....	33
3.2.3. Effet des extraits végétaux et de la concentration sur la croissance de <i>Escherichia coli</i> .....	34
Conclusion.....	40
Références Bibliographiques.....	42
Annexes	
Résumés	

## Liste de tableaux

<b>Tableau 1.</b> Résultat d'analyse statistique d'ANOVA (Two-way) des extraits végétaux à des concentrations et votre combinaison sur le <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	33
<b>Tableau 2.</b> Résultat d'analyse statistique d'ANOVA (Two-way) des extraits végétaux à des concentrations et votre combinaison sur <i>Staphylococcus aureus</i> clinique.....	34
<b>Tableau 3.</b> Résultat d'analyse statistique d'ANOVA (Two-way) des extraits végétaux à des concentrations et votre combinaison sur <i>Escherichia coli</i> .....	35
<b>Tableau 4.</b> Résultat de CMI basée sur l'évolution des valeurs de DO.....	36

# Liste de figures

<b>Figure1.</b> Arbre du <i>Citrus reticulata</i> .....	4
<b>Figure2.</b> <i>Bunium incrassatum</i> (partie aérienne et tubercule) .....	5
<b>Figure3.</b> Arbre de <i>Santolina africana</i> .....	7
<b>Figure4.</b> La plante de <i>Carthamus carduncellus</i> .....	8
<b>Figure5.</b> Milieux de culture Muller-Hinton .....	19
<b>Figure6.</b> Application les disques .....	21
<b>Figure7.</b> Le rendement des extraites ( <i>Santonila africana</i> et <i>Carthamus carduncellus</i> ) et l'huile essentiel de <i>Citrus reticulata</i> et fixe de <i>bunium incrassatum</i> ).....	26
<b>Figure 8.</b> Activité antibactérienne d'extrait de <i>Santolina africana</i> .....	28
<b>Figure 9.</b> Activité antibactérienne d'extrait de <i>Carthamus carduncellus</i> .....	28
<b>Figure10.</b> Activité antibactérienne d'huile fixe de <i>Bunium incrassatum</i> .....	29
<b>Figure11.</b> Projection des produits testés (avec leurs doses) et des souches bactériennes Sur deux axes d'analyse en composantes principales (ACP).....	30
<b>Figure12.</b> Dendrogramme de la classification hiérarchique ascendante (CHA) basé sur les scores des deux premiers axes de l'ACP.....	31

## Liste des abréviations

HE : Huile essentielle

HF : Huile fixe

SM : Solution mère

DMSO : Diméthylsulfoxyde

ACP : Analyse en composantes principales

CHA : Classification ascendante hiérarchique

ANOVA : Analyse de la variance

UFC : Unité formant colonie

DO : Densité optique

ATCC : American Type Culture Collection

$\mu$ l : Microlitre

nm : Nanomètre

*Pseudomonas Arg* : *Pseudomonas areoginosa*

*E. coli* : *Escherichia coli*

*S. aureus* : *Staphylococcus aureus*

*Saur\_cl* : *Staphylococcus aureus* clinique.

Ref : référence

Meansqr : Carré moyen

Sumsqrs : Somme des carrés

df : Degrés de liberté

# **Introduction**

Depuis les temps anciens, l'homme s'est appuyé sur la nature comme source principale de soins, notamment par l'utilisation des plantes médicinales dans les médecines traditionnelles, pour traiter diverses maladies telles que les infections, les inflammations et les troubles digestifs. Avant l'apparition des médicaments modernes, il y a environ 150 ans, les plantes, ainsi que certaines sources animales et fongiques, constituaient le principal recours thérapeutique, grâce à leurs composés bioactifs connus sous le nom de métabolites secondaires, caractérisés par une grande diversité structurale et des propriétés biologiques variées (Wink, 2015).

Aujourd'hui, face à l'augmentation de la résistance bactérienne aux antibiotiques et aux effets indésirables des produits chimiques de synthèse, la recherche s'oriente vers la découverte de nouvelles substances naturelles, en particulier d'origine végétale, présentant des activités antimicrobiennes et antioxydantes (Colalto, 2018).

Cet intérêt renouvelé s'explique par la richesse chimique des plantes, qui renferment des composés actifs tels que les flavonoïdes et les terpènes, largement exploités dans divers secteurs, notamment la pharmacologie, la cosmétique et l'agroalimentaire (Harborne, 1993).

Dans le cadre de cette étude, quatre espèces végétales ont été sélectionnées pour leurs potentiels antimicrobiens. *Santolina africana* est une plante endémique du Maghreb aux vertus digestives et antidiabétiques, contenant des composés phénoliques et terpéniques à activité antibactérienne (Khammassi *et al.*, 2024). *Citrus reticulata*, ou mandarinier, est riche en huiles essentielles aromatiques comme le limonène, utilisées pour leurs propriétés antimicrobiennes (Musara *et al.*, 2020). *Bunium incrassatum*, appelé « Talghouda », possède des graines riches en flavonoïdes et acides phénoliques, connues pour leurs effets anti-inflammatoires et antibactériens (Toul *et al.*, 2022). Enfin, *Carthamus carduncellus*, plante méditerranéenne traditionnelle, présente une composition en polyphénols et flavonoïdes à activité antiseptique et antioxydante (Fatma *et al.*, 2017).

Face à la résistance croissante aux antibiotiques, les plantes médicinales peuvent-elles offrir une alternative efficace ? Leur activité antibactérienne varie-t-elle selon l'espèce, et le type d'extrait ?

Dans ce contexte, l'objectif de notre étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits bruts ainsi que des huiles essentielles et fixe de quatre plantes sélectionnées pour leur richesse en composés bioactifs et leur usage traditionnel avéré. Cette évaluation repose sur des tests *in vitro*, réalisés selon la méthode de diffusion sur disque et la détermination de la

concentration minimale inhibitrice (CMI), visant à mesurer l'effet inhibiteur de ces extraits sur différentes souches bactériennes.

Notre travail, à la fois phytochimique et expérimental, s'articule autour de deux axes principaux :

Une première partie consacrée à une revue bibliographique sur les plantes sélectionnées et activité antibactérienne des extraits végétaux, et une seconde partie expérimentale dédiée à l'analyse des résultats obtenus. Enfin, une conclusion vient synthétiser les principaux résultats et ouvrir des perspectives pour de futures recherches dans ce domaine.

# **Partie théorique**

# **Chapitre 1**

## **Présentation des plantes étudiées**

## I. Généralités sur les plantes

Les plantes constituent une pierre angulaire dans le maintien de l'équilibre écologique et la préservation de la biodiversité, en plus de leur importance en tant que ressource naturelle dans les domaines de la nutrition, de la médecine traditionnelle et de l'industrie pharmaceutique. Selon l'Organisation mondiale de la santé, environ 80 % de la population mondiale recourt à la médecine à base de plantes pour répondre à ses besoins de santé primaire. Dès lors, l'étude de la diversité végétale s'impose comme une nécessité, en raison de son rôle crucial dans le développement de nouvelles sources thérapeutiques et la sauvegarde du patrimoine naturel et culturel (WHO, 2013).

## II. Présentation des espèces sélectionnées

### 1. *Citrus reticulata*

#### 1.1. Taxonomie

- Nom scientifique : *Citrus reticulata Blanco*.
- Famille : Rutaceae.
- Nom commun : Mandarinier (Chevalier, 1947) .

#### 1.2. Description botanique

Le Mandarinier ou *Citrus reticulata Blanco* 1837 (Tela Botanica, 2025), (Figure 1), est arbre persistant pouvant atteindre 7,5 mètres, reconnaissable à son feuillage vert brillant et parfois à des épines rigides. Ses feuilles allongées et finement dentées mesurent entre 5 et 9,5 cm. Les fleurs blanches, très parfumées, apparaissent seules ou en grappes à l'aisselle des feuilles. Le fruit est rond, présente une écorce fine et renferme une pulpe sucrée. Il contient plusieurs petites graines non comestibles. La maturation du fruit prend entre 7 et 10 mois après la floraison. Le mandarinier pousse entre 600 et 1300 m d'altitude (Musara *et al.*, 2020).



**Figure 1.** Arbre du *Citrus reticulata* (Apostolides *et al.*, 2015).

### 1.3. Composition phytochimique

Le *Citrus reticulata* est riche en composés phytochimiques possédant des propriétés biologiquement actives. Cette plante contient une grande variété de métabolites secondaires, notamment des flavonoïdes, des alcaloïdes, des tanins, des saponines, des caroténoïdes, des terpènes, des limonoïdes ainsi que divers composés phénoliques. Ces constituants bioactifs sont répartis dans l'ensemble des organes de la plante, notamment les fruits, les écorces, les feuilles, les graines et les parties aériennes (Musara *et al.*, 2020).

### 1.4. Utilisations

Sur le plan alimentaire, la *Citrus reticulata* se consomme fraîche ou cuite, notamment dans les desserts tels que les gâteaux et les confiseries. Son jus, naturellement sucré, est souvent utilisé comme édulcorant. Dans les industries de la parfumerie et des cosmétiques, l'huile essentielle extraite de son écorce entre dans la composition de parfums et de soins cutanés grâce à ses propriétés parfumantes, antioxydantes et exfoliantes (Orwa *et al.*, 2009).

D'un point de vue médicinal, différentes parties de la plante, le fruit, l'écorce, les graines et même la peau verte non mûre, sont utilisées en médecine traditionnelle. Elles permettent de traiter divers troubles tels que les problèmes digestifs (comme la dyspepsie et les ballonnements), la toux avec mucosités, les vomissements, le hoquet, ainsi que des douleurs thoraciques, des affections hépatiques comme la cirrhose, des hernies, des douleurs lombaires, des inflammations mammaires et des douleurs testiculaires (Musara *et al.*, 2020).

## 2.2. *Bunium incrassatum*

### 2.2.1. Taxonomie et synonymie

*Bunium incrassatum*, communément appelé « Talghouda » (Toul *et al.*, 2022), est une plante appartenant au règne Plantae, à la division Magnoliophyta, à la classe Magnoliopsida et à l'ordre des Apiales. Elle est classée dans la famille des Apiaceae, au sein du genre *Bunium* (Salah, 2017).

Cette espèce est également connue sous plusieurs synonymes, notamment *Carum incrassatum* Boiss., *Bunium incrassatum* Lange et *Bunium pachypodium* P.W. Ball (Tela Botanica, 2025).

### 2.2.2. Description botanique

*Bunium incrassatum* (Figure 2) est l'une des plantes aromatiques et médicinales les plus importantes en Algérie (Chentouh *et al.*, 2018). Il s'agit d'une plante vivace mesurant entre 40 et 60 cm de hauteur, glabre, caractérisée par une racine épaisse, d'abord globuleuse puis de forme irrégulière. Ce tubercule de forme arrondie, doté une écorce noire et écailleuse. Les ombelles portent de longs pédoncules, tandis que les pédicelles sont courts. La plante présente également une tige robuste, des pédicelles rigides disposés en éventail, des dents calicinaires bien développées, et un fruit de taille relativement grande (Julien, 1894).



Figure 2. *Bunium incrassatum* (partie aérienne et tubercule)(Chentouh *et al.*, 2018).

### 2.2.3. Composition phytochimique

L'analyse phytochimique des graines de *Bunium incrassatum* a révélé une composition riche et variée en composés phénoliques et flavonoïdiques, reconnus pour leurs propriétés biologiques bénéfiques. Treize composés majeurs ont été identifiés, dont huit acides

phénoliques : l'acide gallique, l'acide caféïque, l'acide chlorogénique, l'acide syringique, l'acide férulique, l'acide ellagique, l'acide p-coumarique et l'acide sinapique. Cinq flavonoïdes ont également été détectés, comprenant des flavonols tels que la quercétine et le kaempférol, des flavanones comme l'hespéritine et la naringénine, ainsi qu'un flavanol, la catéchine (Toul *et al.*, 2022).

#### 2.2.4. Utilisation

*Bunium pachypodium* est une plante médicinale traditionnellement employée pour ses vertus thérapeutiques. Originaire de certaines régions d'Afrique du Nord, notamment en Algérie, elle pousse principalement dans les zones montagneuses. Ses rhizomes, souvent réduits en poudre, sont utilisés pour soulager les troubles digestifs tels que la diarrhée, grâce à leurs effets astringents et anti-inflammatoires. Elle est également reconnue pour son rôle dans le traitement des affections thyroïdiennes (Nassima *et al.*, 2022).

### 2.3. *Santolina Africana*

#### 2.3.1. Taxonomie et Synonymes

*Santolina africana* est une plante de la classe Magnoliopsida, appartenant à la famille des Asteraceae. Elle relève du genre *Santolina* et constitue l'espèce *Santolina africana* (Kew Science, s. d.) (Lmachraa *et al.*, 2014).

Les principaux synonymes de cette plante sont : *Ormenis africana*, *Ormenis pseudosantolina*, *Santolina ascensionis*, et *Santolina chamaecyparissus auct* (Lmachraa *et al.*, 2014).

#### 2.3.2. Description botanique

*Santolina africana* (jord et fourr) (Figure 3), est un arbrisseau aromatique Il se caractérise par une odeur marquée, des tiges ligneuses et des fleurs jaunes. Cette espèce est endémique du Nord de l'Afrique, plus précisément de la Tunisie, de l'Algérie et du Maroc. Elle pousse spontanément sur les montagnes et les pentes rocheuses, dans des zones sèches et difficiles d'accès. En plus de son habitat naturel, *S.africana* est parfois cultivée à des fins ornementales(Khammassi *et al.*, 2018).



**Figure 3.** Arbre de *Santolina africana* (Malti *et al.*, 2019).

#### 2.3.3. Composition phytochimique

L'étude phytochimique préliminaire des extraits méthanoliques et aqueux de *Santolina africana* a également révélé la présence de phénols, de flavonoïdes, de stérols, de polyterpènes, de tanins (catéchoïques et galliques) et de quinones. Les saponines n'ont été détectées que dans les extraits aqueux (Khammassi *et al.*, 2024).

L'huile essentielle de *Santolina africana* est riche en composés secondaires, notamment en monoterpènes (comme le  $\beta$ -pinène, le 1,8-cinéole et le myrcène) aux propriétés antimicrobiennes (Tundis et Loizzo, 2018).

#### 2.3.4. Utilisation

*Santolina africana* est une plante largement utilisée en médecine traditionnelle tunisienne pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques. Elle est reconnue pour ses effets antidiabétiques et hypoglycémiant, et est couramment employée dans le traitement des coliques, des douleurs abdominales et des troubles digestifs en tant que stomachique. Elle possède également des vertus vermifuges et anthelmintiques, permettant d'éliminer les parasites intestinaux. En outre, un remède traditionnel consiste à la mélanger avec du miel pour soulager les ulcères cardialgiques(Khammassi *et al.*, 2024).

## 2.4. *Carthamus carduncellus L., 1753*

### 2.4.1. Taxonomie et synonymes

*Carthamus carduncellus L* (1753) (Tela Botanica,2025) est une plante à fleurs et une espèce végétale appartenant au règne Plantae, à la classe Equisetopsida. Elle est classée dans l'ordre Asterales, au sein de la famille Asteraceae, et rattachée au genre *Carthamus* L.

Parmi les synonymes botaniques, on trouve : *Carduncellus monspeliensium* All,*Kentrophyllum monspeliensium* (All.) Ces, Pass. & Gibelli ,*Onobroma monspeliense* (All.) Spreng,*Carthamodes carduncellus* (L.) Kuntze, *Carduncellus vulgaris* Loudon, *Cnicus longifolius* Lam (Tela Botanica,2025).

### 2.4.2. Description botanique

*Carthamus carduncellus L*, (Figure 4), est une plante herbacée vivace à base ligneuse, pouvant être sans tige ou à tige courte ou longue. Elle présente des tiges épineuses mesurant jusqu'à 45 cm et des feuilles basales en rosette, divisées en lobes terminés par des épines jaunes. Sa fleur solitaire est surmontée d'un calice ovoïde à cylindrique, avec des bractées extérieures vertes et épineuses et des bractées intérieures en forme de cuillère. La corolle, tubulaire, mesure de 21 à 37 mm et est bleue ou violet rosé. Les fruits sont brun foncé, lisses ou striés, munis d'un duvet clair facilitant leur dispersion (Benedí et González, 2000).



Figure 4. La plante de *Carthamus carduncellus L* (Tela Botanica, 2025).

#### 2.4.3. Composition phytochimique

*Carthamus carduncellus L* constitue une source riche en composés phytochimiques bioactifs. Parmi ceux-ci, on retrouve des composés phénoliques tels que l'acide gallique et la catéchine, reconnus pour leurs propriétés antioxydantes. La plante contient également divers flavonoïdes, notamment la rutine, la naringénine et l'apigénine. En outre, des composés comme l'acide coumarique et le kaempférol ont été identifiés, et sont connus pour leurs effets anti-inflammatoires et antimicrobiens (Fatma *et al.*, 2017).

#### 2.4.4 Utilisation

Dans la médecine populaire, cette plante était traditionnellement utilisée en application locale pour traiter les plaies et les ulcères cutanés, grâce à ses propriétés antiseptiques et cicatrisantes. Elle était ainsi considérée comme une plante vulnéraire, notamment dans les pratiques médicinales de la région méditerranéenne (Benedí et González, 2000).

# **Chapitre 2**

## **Activité antibactérienne des plantes**

## 1. Extraits des plantes d'intérêt

Les extraits de plantes d'intérêt sont des substances naturelles obtenues à partir de végétaux sélectionnés pour leurs propriétés thérapeutiques, aromatiques ou biologiquement actives. Ils peuvent être extraits de différentes parties de la plante telles que les feuilles, les racines, les écorces ou les fruits, en utilisant diverses techniques comme la macération, l'infusion, la décoction ou l'extraction à l'aide de solvants aqueux ou organiques (Chemat *et al.*, 2012).

Les solvants les plus couramment employés sont l'eau, l'alcool ou des mélanges hydroalcooliques. Des paramètres tels que le type de solvant, la température et la durée d'extraction jouent un rôle déterminant dans la qualité et la composition des extraits obtenus. Une maîtrise rigoureuse de ces facteurs est indispensable pour optimiser l'extraction des composés bioactifs présents dans les plantes (Kumar *et al.*, 2011).

Ces extraits sont particulièrement prisés pour leur richesse en substances actives telles que les flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, saponines et huiles essentielles, qui présentent souvent une synergie d'action renforçant leur efficacité biologique, notamment dans des applications thérapeutiques et cosmétiques (Wink, 2015).

### 1.2. Extrait brut

#### 1.2.1. Description

Est une préparation obtenue à partir de matériel végétal en utilisant des méthodes d'extraction simples. Ce type d'extrait constitue une étape fondamentale dans l'étude des caractéristiques biochimiques des plantes, car il permet d'explorer leur potentiel biologique global. Parmi les techniques fréquemment employées pour l'obtenir figurent : la macération, la décoction et l'extraction avec des solvants comme le méthanol ou l'éthanol (Harborne, 1998).

#### 1.2.2. Composant chimique

Les extraits bruts de plantes représentent une source complexe et variée de composés bioactifs, principalement constitués de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, alcaloïdes, saponines, tanins, terpènes et composés phénoliques (Elshafie *et al.*, 2023).

Parmi eux, les flavonoïdes, qui sont des composés phénoliques de type C6-C3-C6 (comme les flavones et flavonols) (Dewick, 2009). Sont bien connus pour leurs effets antioxydants, anti-inflammatoires et antibactériens (Cowan, 1999).

Les tanins sont des polyphénols de haut poids moléculaire, subdivisés en tanins hydrolysables (issus de l'acide gallique ou ellagique) et en tanins condensés (polymères de flavan-3-ols), et exercent une activité antibactérienne notable grâce à leur interaction avec les membranes cellulaires (Harborne, 1998).

Les alcaloïdes, composés basiques contenant de l'azote dans une structure hétérocyclique, possèdent une large gamme d'activités biologiques, notamment une action antibactérienne marquée (Dewick, 2009).

Les coumarines, dérivés des benzopyrones, comprennent des molécules comme l'esculetine, l'umbelliférone et la scopolétine, qui sont documentées pour leurs propriétés antimicrobiennes (Venugopala *et al.*, 2013).

### **1.3. Huile essentielle**

#### **1.3.1. Description**

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes, composés principalement de composés volatils. Elles se distinguent par leur parfum puissant, leur capacité à se dissoudre facilement dans l'alcool et les solvants organiques. Ils sont obtenus par des méthodes physiques, telles que la distillation à la vapeur, l'hydrodistillation, l'extraction par diffusion à sec, ainsi que d'autres techniques mécaniques adaptées, sans l'utilisation de chaleur(Butnariu et Sarac, 2018).

#### **1.3.2. Composition chimique**

Les huiles essentielles (HE) présentent une composition biochimique riche, caractérisée principalement par la présence de terpénoïdes, notamment les monoterpènes (C10) et les sesquiterpènes (C15), produits majoritairement par les plantes aromatiques. Elles contiennent également divers composés fonctionnels tels que des alcools, aldéhydes, cétones, esters, phénols, éthers, acides carboxyliques et lactones. (Bakri *et al.*, 2018).

### **1.4. Huiles fixes**

#### **1.4.1. Description**

Sont des lipides naturels non volatils, principalement obtenus à partir de graines, fruits ou noyaux de plantes oléagineuses. Leur composition est dominée par des triglycérides (Gunstone, 2011).

Contrairement aux huiles essentielles, elles sont caractérisées par une grande stabilité à température ambiante et l'absence de composés volatils responsables d'arômes. L'extraction

des huiles fixes s'effectue le plus souvent par pression mécanique ou par extraction chimique(Bockisch, 1998) .

#### 1.4.2. Composition chimique

Les huiles sont majoritairement composées de triglycérides, résultant de l'association d'un glycérol à trois acides gras, dont la saturation varie (saturés, monoinsaturés, polyinsaturés) qui influençant leurs propriétés physico-chimiques. En plus de cette fraction lipidique, elles renferment des composés insaponifiables en faible quantité tels que les stérols, les tocophérols (ex. vitamine E), les pigments (chlorophylles, caroténoïdes) ainsi que des phospholipides qui dotés de fonctions biologiques importantes (Belitz *et al.*, 2009).

### 2. Activité antibactérienne

#### 2.1. Généralité

Les antibiotiques sont des substances capables d'inhiber sélectivement la croissance des bactéries (action bactériostatique) ou de les tuer (action bactéricide), à très faibles doses et sans effet toxique important pour les organismes supérieurs. Ils peuvent être naturels (produits par des moisissures ou bactéries), semi-synthétiques ou synthétiques. Chaque antibiotique possède un spectre d'action spécifique : certains sont à spectre étroit, ciblant un type précis de bactéries (Gram-positives ou Gram-négatives), tandis que d'autres à large spectre agissent sur une grande variété de microorganismes (Karima, 2015).

Le traitement des infections bactériennes repose essentiellement sur l'utilisation d'antibiotiques. Cependant, leur prescription massive et parfois inadéquate conduit à l'émergence de souches bactériennes multi-résistantes. C'est pourquoi il est crucial d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles pistes thérapeutiques, notamment à partir des plantes (Billing et Sherman, 1998). Ces plantes produisent des métabolites secondaires, parmi lesquels les composés phénoliques occupent une place importante. Ces derniers sont largement employés dans les industries alimentaire et cosmétique, ainsi que comme agents antimicrobiens dans les médecines traditionnelles (Cowan, 1999).

#### 2.2. Mécanisme d'action d'extrait brut

- Perturbation de la membrane cellulaire bactérienne (Cowan, 1999).
- Inhibition de la synthèse des protéines (Cushnie et Lamb, 2005).
- Inhibition des enzymes métaboliques (Godstime *et al.*, 2014).
- Inhibition des acides nucléiques (Cowan, 1999).

### 2.3. Mécanisme d'action d'huiles essentielles

Leur action repose sur la perturbation des membranes cellulaires bactériennes par des composés tels que le carvacrol, le thymol, le géraniol, le cinéole et l'eugénol, entraînant une augmentation de la perméabilité membranaire et des fuites d'ions et de protéines, ce qui compromet l'homéostasie cellulaire et peut mener à la destruction de la bactérie (Da Cunha *et al.*, 2018).

L'eugénol inhibe des enzymes clés du métabolisme bactérien, notamment l'ATPase, l'histidine décarboxylase, l'amylase et la protéase. Par ailleurs, le carvacrol et le thymol induisent un stress oxydatif intracellulaire via l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), causant des dommages cellulaires importants (Hyldgaard *et al.*, 2012).

### 2.4. Mécanisme d'action des huiles fixes

Les huiles fixes, riches en acides gras et en esters, présentent une activité antibactérienne notable. Cette action est principalement due aux acides gras à chaîne droite, qui perturbent la membrane bactérienne, entraînant des fuites cellulaires et la mort des cellules. Par ailleurs, certains acides gras contenus peuvent cibler des enzymes bactériennes spécifiques, telles que les ADN méthyltransférases, notamment par certains acides gras à longue chaîne. L'efficacité de l'activité dépend de la longueur de la chaîne carbonée, avec un maximum d'activité observé pour des longueurs intermédiaires (entre C10 et C14), suivie d'une diminution pour des chaînes plus longues (Lamba *et al.*, 2023).

# **Partie expérimentale**

# **Chapitre 3**

## **Matériel et Méthodes**

Notre travail de recherche a été réalisé au sein des laboratoires pédagogiques de Microbiologie et de Biochimie, ainsi qu'au laboratoire de recherche génétique, biotechnologie et valorisation des bioressources, relevant du Département des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Mohamed khider de Biskra.

## I. Matériel et Méthodes

### 1. Matériel végétal

#### 1.1. *Santolina africana*

La plante *Santolina africana* a été récoltée en avril 2024 dans la région sud de la wilaya de Mila.

Les parties aériennes de la plante sont mises à sécher à l'abri de la lumière, puis la matière végétale obtenue est broyée après dessiccation.

#### 1.2. *Citrus reticulata*

La pâte d'agrumes de *Citrus reticulata* ainsi que les résidus domestiques de grenade ont été collectés en mars 2024 dans la wilaya de Batna (Algérie), à partir des déchets agro-industriels générés par l'usine de jus N'gaous, située à N'gaous (Batna).

La pâte obtenue a été placée dans une étuve ventilée à 40 °C pendant trois jours afin de procéder au séchage. Une fois sèche, elle a été broyée en petits fragments, puis soumise au processus d'extraction.

#### 1.3. *Bunium incrassatum*

Les graines de *Bunium incrassatum*, récoltées en juin 2020 dans la région de Bordj Ghedir (wilaya de Bordj Bou Arreridj).

Les graines ont été séchées à température ambiante, à l'abri de la lumière, pendant plusieurs jours. Elles nettoyées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique propre jusqu'à obtention d'une poudre fine, utilisée par la suite pour l'extraction.

#### 1.4. *Carthamus carduncellus*

La plante *Carthamus carduncellus* a été récoltée en avril 2024 dans la région sud de la wilaya de Mila.

Les parties aériennes de la plante sont mises à sécher à l'abri de la lumière, puis la matière végétale obtenue est broyée après dessiccation.

## 2. Matériel bactérien

Pour cette étude, quatre souches bactériennes couramment rencontrées ont été sélectionnées. Trois souches de référence proviennent de la collection ATCC : *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Escherichia coli* (ATCC 25422) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27953). Une quatrième souche, clinique, de *Staphylococcus aureus* a été isolée à partir d'échantillons humains au sein du laboratoire de bactériologie de l'hôpital Hakim Saadane (Biskra).

Les bactéries ont été réparties en deux groupes principaux selon leur coloration de Gram : les bactéries à Gram positif et celles à Gram négatif.

### 2.1. Caractéristiques des bactéries testées

#### 2.1.1. Bactéries à Gram positif

##### 2.1.1.1. *Staphylococcus aureus*

Est une bactérie de type Gram positif, ayant une forme sphérique (Cocci), avec un diamètre compris entre 0,5 et 1,5 micromètre. Elle apparaît fréquemment en amas désordonnés, évoquant des grappes de raisin, en raison de sa division cellulaire selon plusieurs plans. Cette espèce bactérienne est non mobile, incapable de former des spores, et possède une paroi cellulaire épaisse typique des Gram positifs, constituée principalement de peptidoglycane (Fayisa et Tuli, 2023).

#### 2.1.2. Bactéries à Gram négative

##### 2.1.2.1. *Escherichia coli*

Est un bacille Gram négatif, mobile et aérobie, appartenant à la famille des Entérobactéries. Elle mesure généralement entre 1 et 2 micromètres de long et environ 0,4 micromètre de large. Cette bactérie se distingue par sa double nature : elle fait partie de la flore intestinale normale chez l'être humain en tant que germe commensal, tout en étant aussi le principal agent pathogène impliqué dans les infections communautaires. *E. coli* joue un rôle bénéfique en facilitant la synthèse de certaines vitamines et en contribuant à la dégradation de certains aliments qui ne pourraient être digérés autrement (Braz *et al.*, 2020).

##### 2.1.2.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Est une bactérie strictement aérobie et non fermentant, appartenant à la famille des Pseudomonadaceae et à l'ordre des Gammaproteobacteria. Elle est impliquée dans de nombreuses infections graves, en particulier chez les patients immunodéprimés. Sa capacité à coloniser des environnements humides, notamment les dispositifs médicaux, en fait un agent

fréquent des infections nosocomiales. Sur le plan thérapeutique, *P. aeruginosa* présente une multirésistance intrinsèque à diverses classes d'antibiotiques, attribuable à sa faible perméabilité membranaire, à l'activité de pompes d'efflux et à la production d'enzymes inactivantes, rendant la prise en charge clinique particulièrement complexe(Qin *et al.*, 2022).

## II. Méthodes

### 1. Préparation des huiles et des extraits

Il convient de noter que les extraits et huiles utilisés dans cette étude ont été préalablement préparés. Nous les avons obtenus grâce à la collaboration des docteurs Zeroual Samir et Deghima Amrouche, que nous remercions vivement. Leur préparation a été réalisée selon les protocoles décrits ci-dessous, en respectant les conditions expérimentales appropriées pour garantir la qualité et la reproductibilité des extraits.

#### 1.1. Préparation des huiles

##### 1.1.1. Huile de *Citrus reticulata*

L'huile essentielle de *Citrus reticulata* a été extraite par hydrodistillation selon un protocole standard à l'aide d'un appareil de type Clevenger.

Pour l'opération, 100 grammes du résidu végétal ont été immergés dans un litre d'eau distillée, placé dans un ballon en verre. L'hydrodistillation a été conduite pendant trois heures. À la fin du processus, l'huile essentielle obtenue a été soigneusement récupérée, puis transférée dans un flacon en verre opaque. Elle a ensuite été conservée à une température de 4 °C, à l'abri de la lumière, afin de préserver ses propriétés physico-chimiques.

##### 1.1.2. Huile de *Bunium incrassatum*

L'huile ont été préparé selon cette étapes d'extraction des lipides totaux. Des graine sèches de *bunium incrassatum* a été réalisée en utilisant la méthode Soxhlet. Environ 10 g de la matière sèche et finement pulvérisée ont été placés dans une cartouche de cellulose, puis soumis à un processus d'extraction dans un appareil Soxhlet. Le solvant utilisé pour l'extraction était l'éther de pétrole (point ébullition 40-60 °C). L'extraction a été effectuée à reflux pendant 3 heures, permettant ainsi une extraction complète des lipides. Après l'extraction, l'éther de pétrole a été évaporé sous un évaporateur rotatif, et le résidu lipidique a été séché à 105 °C pour éliminer toute trace de solvant.

## 1.2. Préparation d'extrait

### 1.2.1. Extrait du *Santolina africana*

Une masse de 60 grammes de la plante, préalablement séchée puis finement broyée, a été soumise à une extraction par macération. Cette opération a été réalisée à température ambiante pendant une durée de 48 heures, en utilisant comme solvant un mélange hydroalcoolique composé de 70 % d'éthanol et de 30 % d'eau distillée.

La plante broyée a été immergée dans le solvant, puis filtrée pour séparer le résidu végétal. Le filtrat a été placé dans une étuve, maintenue à une température inférieure ou égale à 40 °C, pour permettre l'évaporation complète de l'éthanol.

L'extrait obtenu a été dilué avec l'eau distillée, puis reposé pendant 24 heures avant d'être filtré. La phase aqueuse résultante a été soumise à une extraction liquide-liquide avec trois solvants organiques successifs : diethylether, le chloroforme, et enfin l'acétate d'éthyle.

Le diethylether a été ajouté à la phase aqueuse dans une ampoule à décanter. Après agitation et décantation, la phase organique a été récupérée, puis évaporée à l'étuve pour obtenir l'extrait diéthylétherique.

Le chloroforme a été ajouté à la phase aqueuse. Après agitation et décantation, la phase organique a été récupérée. Le solvant a ensuite été éliminé par évaporation à l'étuve, donnant naissance à l'extrait chloroformique. Cet extrait a été utilisé pour l'évaluation leur activité antibactérienne.

### 1.2.2. Extrait *Carthamus carduncellus*

La plante sèche pesant 60 g, a été immergée dans un mélange de solvants constitué d'éthanol à 50 % et d'acétate d'éthyle à 50 %.

Cette opération de macération à froid a été réalisée à température ambiante, dans des conditions protégées de la lumière afin de préserver l'intégrité des composés bioactifs, et ce, pendant une durée de 48 heures. Une fois la macération terminée, le mélange a été filtré pour séparer le résidu végétal du liquide. L'extrait filtré a ensuite été soumis à une concentration dans une étuve, maintenue à une température inférieure ou égale à 40 °C, afin d'assurer l'évaporation complète des solvants tout en préservant la stabilité des composés extraits.

## 2. Rendement

### 2.1. Rendement de l'extraction d'extrait brut

Le rendement d'extraction (R) correspond au pourcentage de l'extrait sec obtenu par rapport à la masse initiale de matière végétale traitée. Il est déterminé à l'aide de la formule suivante ,(Ouldyerou, 2020):

$$R (\%) = (M_e / M_v) \times 100$$

où **M<sub>e</sub>** représente la masse de l'extrait sec obtenu après évaporation du solvant,

Et **M<sub>v</sub>** la masse de la plante utilisée pour l'extraction.

### 2.2. Rendement d'huile essentiel

Le rendement en huile essentielle se mesure en pourcentage par rapport à la masse de matière végétale sèche utilisée. Ce rendement peut varier en fonction de plusieurs paramètres, notamment le degré de dessiccation de la plante, le niveau de broyage, ainsi que la durée de l'opération d'extraction (Hassine *et al.*, 2011), il est déterminé à l'aide de l'équation suivante:

$$\text{Rendement de H.E (\%)} = ((\text{masse de H.E}) / (\text{masse initiale de M.V})) * 100$$

Avec **M.V** : matière végétale

### 2.3. Rendement d'huile fixe

Le rendement d'extraction en huile (R), a été calculé à l'aide de la formule (Novidzro *et al.*, 2019):

$$R (\%) = (M_H / M_S) * 100$$

**M<sub>H</sub>**= masse de l'huile extraite.

**M<sub>S</sub>**= masse de la poudre de graine utilisée pour faire l'extraction.

## 3. Activité Antibactérienne

### 3.1. Méthode de diffusion des disques

La méthode de diffusion sur disque est une technique couramment employée en recherche antimicrobienne pour évaluer l'activité d'agents antimicrobiens. Elle consiste à placer des disques imprégnés de la substance à tester sur un milieu gélosé ensemencé avec le micro-organisme ciblé. L'agent actif diffuse alors dans l'agar et, s'il est efficace, inhibe la croissance du micro-organisme autour du disque. La zone claire formée autour de ce dernier, appelée zone d'inhibition, permet d'estimer visuellement et qualitativement l'efficacité de la substance

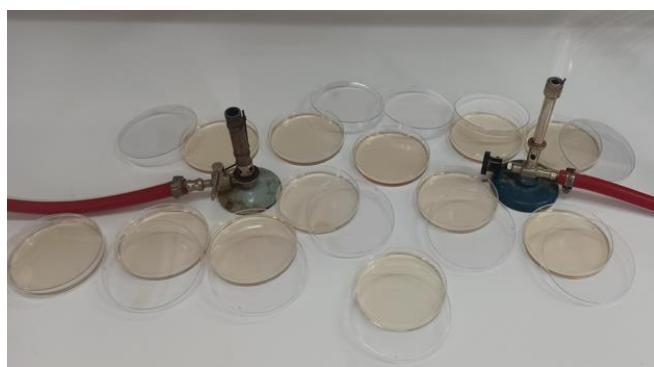
testée. Cette méthode simple, économique et informative constitue un outil fondamental pour comparer l'action de différentes molécules sur des souches microbiennes spécifiques (Hossain, 2024).

### 3.2. Mode opératoire

#### 3.2.1. Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation du test antibactérien sont les suivant :

- La gélose nutritive pour l'isolement des souches bactériennes (annexe1).
- La gélose Muller Hinton pour l'étude l'effet de l'extrait et l'huile des plantes sur les bactéries (annexe1) (figure 5).



**Figure 5.** Milieux de culture Muller-Hinton (photo original).

#### 3.2.2. Repiquage des souches bactériennes

Les souches bactériennes à tester ont été cultivées par stries d'épuisement, selon la méthode des quadrants, dans des boîtes de Petri contenant de la gélose nutritive préparée au préalable. L'ensemencement a été réalisé à l'aide d'une anse de platine, en conditions stériles. Les boîtes ont ensuite été incubées pendant 24 heures à 37 °C dans une étuve, afin d'obtenir des colonies bactériennes bien séparées.

#### 3.2.3. Préparation des disques

Dans cette méthode, des disques circulaires d'environ 6 mm de diamètre sont découpés dans du papier filtre Whatman n°1. Ces disques sont ensuite introduits dans un flacon en verre afin d'être stérilisés.

#### 3.2.4. 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, et la gélose nutritive et La gélose Muller Hinton ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

### 3.2.5. Préparation des dilutions

#### 3.2.5.1. Extrait

Les extraits de la plante ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) afin de préparer une solution mère à une concentration de 100 mg/ml. Des dilutions successives ont ensuite été réalisées pour obtenir différentes concentrations 1/2 (50 mg/ml) et 1/4 (25 mg/ml) et 1/8 (12,5 mg/ml). Pour cela, 100 µl de la solution mère ont été mélangés à 100 µl de DMSO dans un premier tube, donnant une dilution au 1/2 (50 mg/ml). Après homogénéisation, 100 µl de cette dilution ont été transférés dans un second tube contenant 100 µl de DMSO, aboutissant à une dilution au 1/4 (25 mg/ml). Enfin, 100 µl de la dilution 1/4 ont été transférés dans un troisième tube contenant également 100 µl de DMSO, afin d'obtenir une dilution finale au 1/8 (12,5 mg/ml) (Annexe 2).

#### 3.2.5.2. Huile essentielle

Une première dilution a été préparée en mélangeant 100 µl d'huile essentielle (HE) avec 100 µl de DMSO dans un tube Eppendorf, obtenant ainsi une dilution au 1/2. Après homogénéisation par vortex, 100 µl de cette solution ont été transférés dans un second tube contenant également 100 µl de DMSO, permettant d'obtenir une dilution au 1/4. Cette opération a été répétée en transférant 100 µl de la dilution 1/4 dans un troisième tube contenant 100 µl de DMSO, ce qui a permis d'atteindre une dilution finale au 1/8.

### 3.2.6. Préparation d'inoculum

Les boîtes contenant les souches actives, dont la durée de vie est de 24 heures, sont utilisées pour la préparation des suspensions bactériennes dans une solution de sérum physiologique. Stérilement, 9 ml de sérum physiologique sont répartis dans des tubes. À l'aide d'une anse stérile, des colonies bactériennes sont ensuite prélevées et mises en suspension dans ces tubes. La densité de la suspension doit présenter une opacité équivalente à celle de l'étaillon de Mac Farland n° 0,5. Si la suspension est trop trouble, on ajuste l'opacité en ajoutant du sérum physiologique stérile. À l'inverse, si elle est trop claire, on ajoute davantage de colonies bactériennes (Abudunia, 2018). Cette suspension est ajustée au standard Mc Farland 0,5 à l'aide d'un spectrophotomètre, à une densité optique DO entre 0,08 à 0,13 lue à 625 nm, ce qui correspond à une suspension contenant environ  $10^8$  UFC/ml (CA-SFM, 2013).

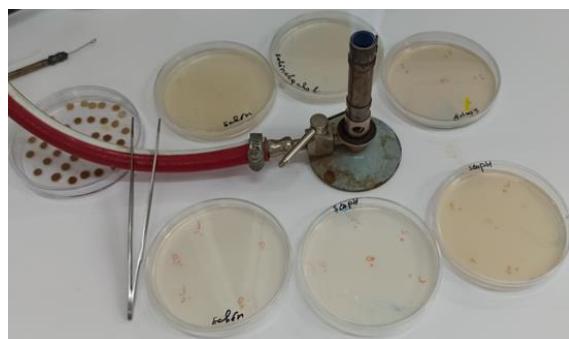
### 3.2.7. Ensemencement

Est effectué par écouvillonnage. Il consiste à tremper un écouvillon stérile dans le tube contenant la suspension bactérienne préparée puis le frotter, après l'avoir essoré à l'intérieur du

tube, sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas de façon de former des stries serrées. On doit répéter l'opération sur la même boîte à 3 reprises en la tournant à un angle de 60°, le même écouvillon doit être rechargeé pour chaque boîte de la même bactérie.

### 3.2.8. Application des disques

Chaque disque est d'abord imprégné avec 10 µL d'extrait ou d'huile à l'aide d'une micropipette, puis délicatement déposé dans la boîte de Pétri à l'aide d'une pince stérile, selon le schéma établi. Selon le schéma suivant (figure 6) :



**Figure 6.** Application les disque (photo original).

- Le premier disque reçoit la solution mère de l'extrait (100 mg/ml) ou l'huile pure.
- Les trois disques suivants sont imbibés respectivement des dilutions successives de l'extrait ou de l'huile (1/2, 1/4 et 1/8).
- Le cinquième disque est traité avec du DMSO, servant de témoin négatif.
- Le sixième disque est de streptomycine, utilisée comme témoin positif.

Toutes les boîtes ainsi préparées sont ensuite incubées pendant 24 heures à 37 °C dans l'étuve.

### 3.2.9. Expression des résultats

La lecture des résultats se fait par la mesure des zones d'inhibition après 24 heures d'incubation, qui sont représentés par une auréole ou des halos claire formée autour de chaque disque.

Selon (Konan *et al.*, 2014), les diamètres des zones d'inhibitions de l'activité antibactérienne sont classés en 4 catégories à savoir :

- Résistante ou Non sensible (-) : diamètre < 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 8 à 14 mm.

- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 20 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

#### 4. Méthodologie de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La microdilution en bouillon est l'une des méthodes les plus simples pour tester la sensibilité bactérienne aux antibiotiques. La procédure consiste à préparer des dilutions de l'agent antimicrobien au double (par exemple, 1, 2, 4, 8, 16 et 32 mg/ml) dans un milieu de culture liquide, puis à les répartir d'un volume inférieur dans une plaque de micro titration à 96 puits (microdilution).

Chaque puits est ensuiteensemencé avec un inoculum microbien préparé dans le même milieu après dilution d'une suspension microbienne standardisée.

La plaque de micro titration à 96 puits sont placés dans des conditions appropriées pour le micro-organisme à tester (généralement sans agitation) pendant l'incubation (Balouiri *et al.* 2016).

##### 4.1. Huile

Une gamme de concentration allant de 4% à 0,008% a été préparé : Dans le premier puits de chaque ligne, 8 µl d'huile, 2µl de DMSO et 190 µl de bouillon nutritif (BN) stérile ont été déposés de façon aseptique. Les puits 2 à 10 ont été remplis chacun avec 100 µl de BMH stérile.

##### 4.2. Extrait

Dans le premier puits de premier ligne, 50 µl d'une solution d'extrait à une concentration de 100 mg/ml et 150 µl de bouillon nutritif (BN) stérile, ont été déposés de façon aseptique ce qui donne une concentration initiale de 25 mg/ml. Les puits 2 à 10 ont été remplis chacun avec 100 µl de BN stérile.

Les dilutions en série ont été réalisées immédiatement à partir du puits 1, en transférant 100 µl de solution de puits en puits jusqu'au puits 10, en homogénéisant à chaque étape.

Le volume de 100 µl prélevé du puits 10 a été éliminé.

La colonne 11, contenant uniquement 200 µl de BN stérile, a servi de témoin négatif, tandis que la colonne 12, composée de 192 µl d'inoculum et de 8 µl de DMSO, a été utilisée comme témoin positif.

Afin d'éviter toute interférence entre les souches testées, les différents échantillons ont été espacés par des lignes de puits vides.

En raison de la faible miscibilité des huiles essentielles dans l'eau et donc dans le milieu de culture, celles-ci ont été préalablement émulsionnées dans le DMSO afin de favoriser le contact entre les bactéries et l'huile essentielle.

Enfin, 100 µl de l'inoculum bactérien ont été ajoutés dans chaque puits contenant la série de dilutions pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle testée.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits végétaux a été déterminée par microdilution en microplaques, en mesurant la densité optique (DO) à 600 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (Donaldson *et al.*, 2005). Chaque souche bactérienne a été exposée à une série de concentrations d'extrait (1 à 10), réparties dans les puits d'une microplaques 96 puits.

La CMI a été définie comme la plus faible concentration pour laquelle la croissance bactérienne est totalement inhibée, c'est-à-dire lorsque la DO est proche de zéro ou significativement inférieure à celle du témoin positif (bactérie sans extrait). Des témoins chaque série d'essais.

#### 4. Analyse statistique

Dans cette analyse, nous avons utilisé l'Analyse en Composantes Principales (ACP), une méthode quantitative permettant de simplifier un ensemble de variables tout en conservant l'essentiel de l'information. Par la suite, la Classification Hiérarchique Ascendante (CHA) a été appliquée afin de regrouper les données en fonction de leur similarité. Cette méthode forme un arbre hiérarchique de groupes (clusters) que l'on peut découper à différents niveaux pour identifier des regroupements significatifs (Wang *et al.*, 2020).

##### 4.1. Analyse statistique globale

Dans cette analyse utilisée L'analyse en composantes principales (ACP) est une méthode quantitative rigoureuse de simplification des variables et la Classification hiérarchique ascendante (CHA) regroupe les données en clusters hiérarchiques en fonction de leur similarité, formant un arbre que l'on peut découper pour obtenir des groupes.

###### 4.1.1. Identification des groupes homogènes

Pour évaluer l'effet inhibiteur des extraits et huiles testés à différentes doses sur plusieurs souches bactériennes, nous avons utilisé une méthode appelée **Analyse en Composantes Principales (ACP)**.

Cette technique permet de représenter de manière claire et simultanée deux ensembles de données : les souches bactériennes (placées en colonnes) et les produits testés à différentes doses (en lignes). Leur objectif principal est d'identifier des groupes de produits présentant des profils d'activité antibactérienne similaires, en se fondant sur les distances calculées à partir de l'intensité des zones d'inhibition.

Ensuite, nous avons appliqué une Classification Hiérarchique Ascendante (CHA) sur les résultats de l'ACP, en se concentrant sur les deux premiers axes principaux. En calculant les distances euclidiennes entre les produits et leurs doses, cette méthode regroupe ensemble les éléments ayant des profils d'activité antibactérienne proches. Ainsi, elle permet d'identifier des groupes (ou clusters) significatifs qui montrent comment les produits et leurs doses diffèrent dans leur efficacité contre les souches bactériennes. Elle procède par agglomération itérative de paires d'objets, générant une hiérarchie de partitions.

Les analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel **PAST (version 1.37)** (Hammer *et al.*, 2001), ainsi que du programme **Microsoft Excel™**.

#### 4.2. Analyse partielle

Dans le but de mieux comprendre l'effet antibactérien de différents extraits de plantes, nous avons mené une analyse statistique sur les souches bactériennes.

Quatre extraits végétaux ont été testés, chacun à quatre concentrations différentes. Pour garantir la fiabilité des résultats chaque combinaison extrait/concentration a été répétée trois fois de manière indépendante. L'activité antibactérienne a été mesurée en observant le diamètre des zones d'inhibition (en millimètres), déterminée à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose.

Les données recueillies ont été analysées à l'aide du logiciel PAST (PAleaeontological STatistics), en appliquant une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs avec mesures répétées :

- **Facteur A** : type d'extrait végétal (4 niveaux).
- **Facteur B** : concentration (4 niveaux).
- **Mesure dépendante** : zone d'inhibition (mm).

Ce test a permis de déterminer :

\*L'effet principal de chaque facteur (extrait et concentration).

\*L'interaction entre les deux facteurs.

\*La significativité statistique des différences observées (**Seuil de signification : p < 0,05**).

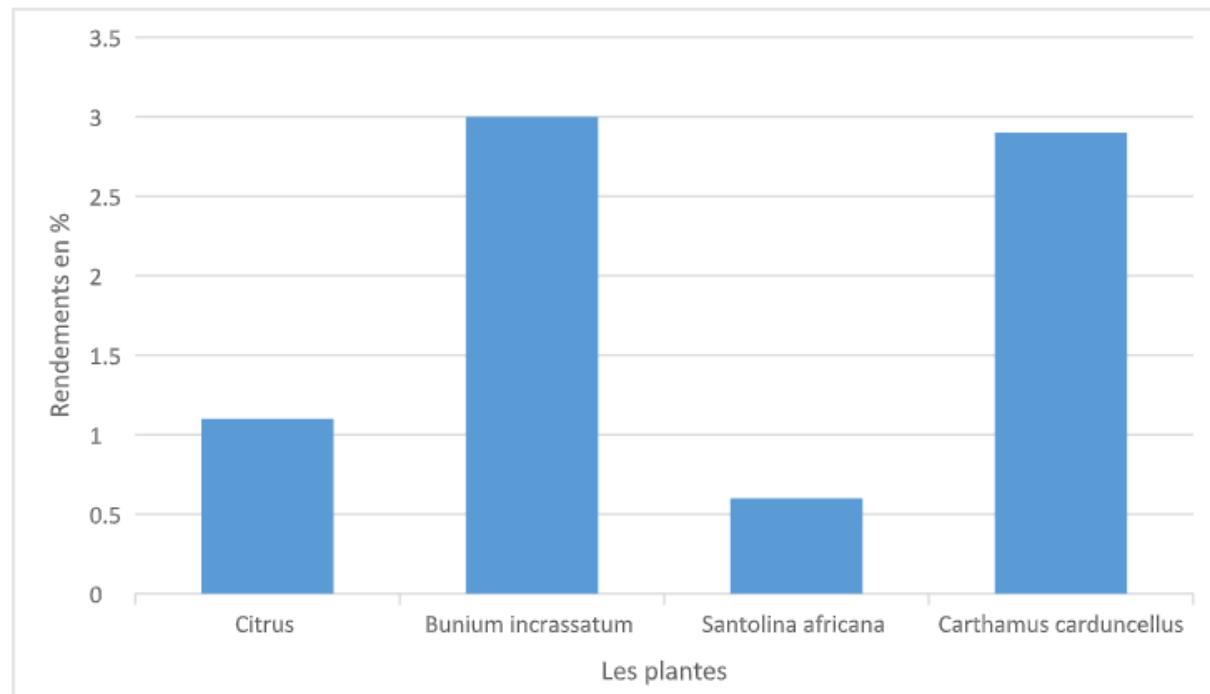
Les résultats ont d'abord été analysés séparément pour chaque souche bactérienne, puis comparés globalement pour identifier les tendances générales et les spécificités de réponse bactérienne.

# **Chapitre 4**

# **Résultats et Discussion**

## 1. Rendement des extraits et des huiles

Le rendement en huile essentielle issu des résidus de *Citrus reticulata* a été estimé à 1,1 %. En parallèle, l'extraction de l'huile fixe à partir des graines de *Bunium incrassatum* a permis d'obtenir un rendement de 3 %. Concernant les extraits des parties aériennes, *Santolina africana* a présenté un rendement de 0,66 %, tandis que celui de *Carthamus carduncellus* a atteint 2,90%.



**Figure 7.** Rendement des extraits (*Santonila africana* et *Carthamus carduncellus*) et l'huile essentiel de *Citrus reticulata* et fixe de *Bunium incrassatum*).

## 2. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'étude de l'activité antibactérienne *in vitro* a été réalisée sur quatre plantes médicinales, dans le but d'évaluer l'effet inhibiteur potentiel de leurs composés phytochimiques vis-à-vis de différentes souches bactériennes. Pour ce faire, la méthode de diffusion sur disques en milieu gélosé a été utilisée.

Cette technique qualitative permet de mesurer le diamètre des zones d'inhibition (exprimées en millimètres) autour des disques imprégnés, afin d'évaluer l'efficacité des extraits testés contre les souches bactériennes : *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (souche de référence et souche clinique).

## **2.1. Visualisation graphique des résultats de l'activité antibactérienne**

Pour comparer l'efficacité des extraits végétaux étudiés contre différentes souches bactériennes, la visualisation graphique des résultats est un outil fondamental. Les figures 8, 9 et 10 présentées illustrent l'activité antibactérienne de trois substances d'origine naturelle : L'extrait de *Santolina africana*, l'extrait de *Carthamus carduncellus* et l'huile fixe de *Bunium incrassatum*. Ces extraits ont été testés contre quatre souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* de référence et *Staphylococcus aureus* clinique.

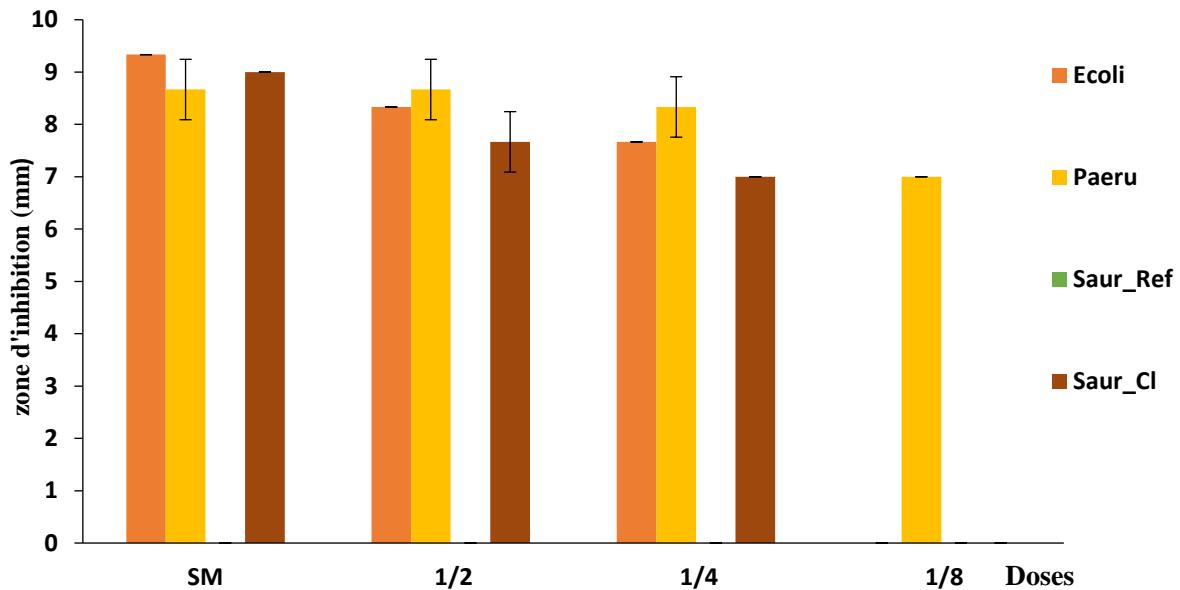
Les extraits de *Santolina africana* ont démontré une activité antibactérienne notable à l'encontre des souches à Gram négatif, en particulier *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, et ce malgré la complexité structurale de leurs parois cellulaires, généralement plus résistantes aux agents antibactériens. En revanche, une activité moins prononcée a été observée vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* clinique.

Concernant *Carthamus carduncellus*, les résultats indiquent une activité antibactérienne modérée à faible, notamment contre *Staphylococcus aureus* avec une efficacité relative sur la souche clinique ainsi que sur la souche à Gram négatif *P. aeruginosa*.

L'huile fixe extraite de *Bunium incrassatum* présente une activité antibactérienne variable selon les souches testées. Elle s'est révélée inefficace contre la souche de référence et une activité fort sur la souche clinique de *Staphylococcus aureus*, tandis qu'une activité modérée a été notée à l'encontre de la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

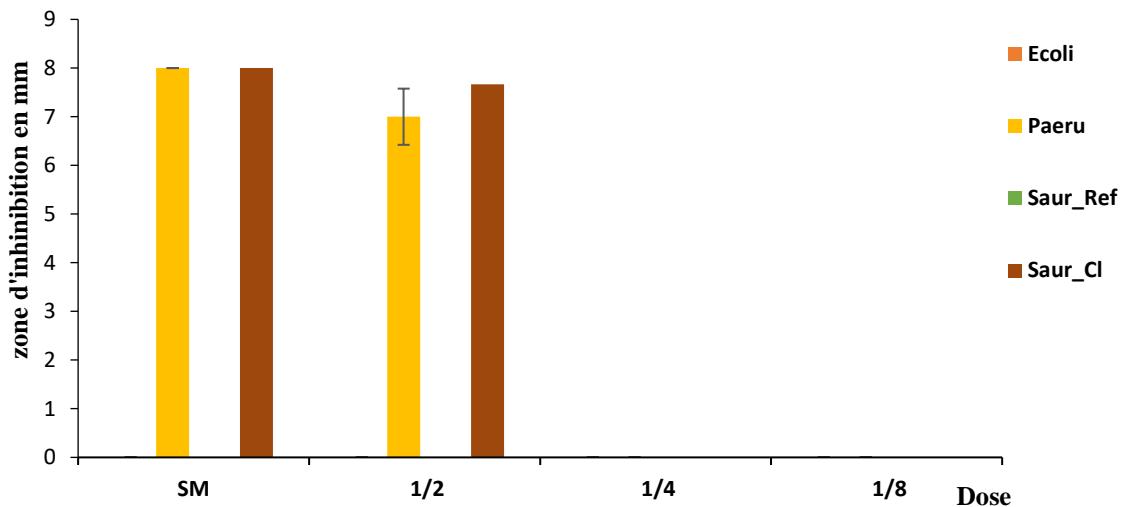
Contrairement aux autres extraits testés, l'huile essentiel de *Citrus reticulata* n'a montré aucune activité antibactérienne contre les souches testées, quel que soit le niveau de dilution utilisé.

### 2.1.1.Extrait de *Santolina africana*



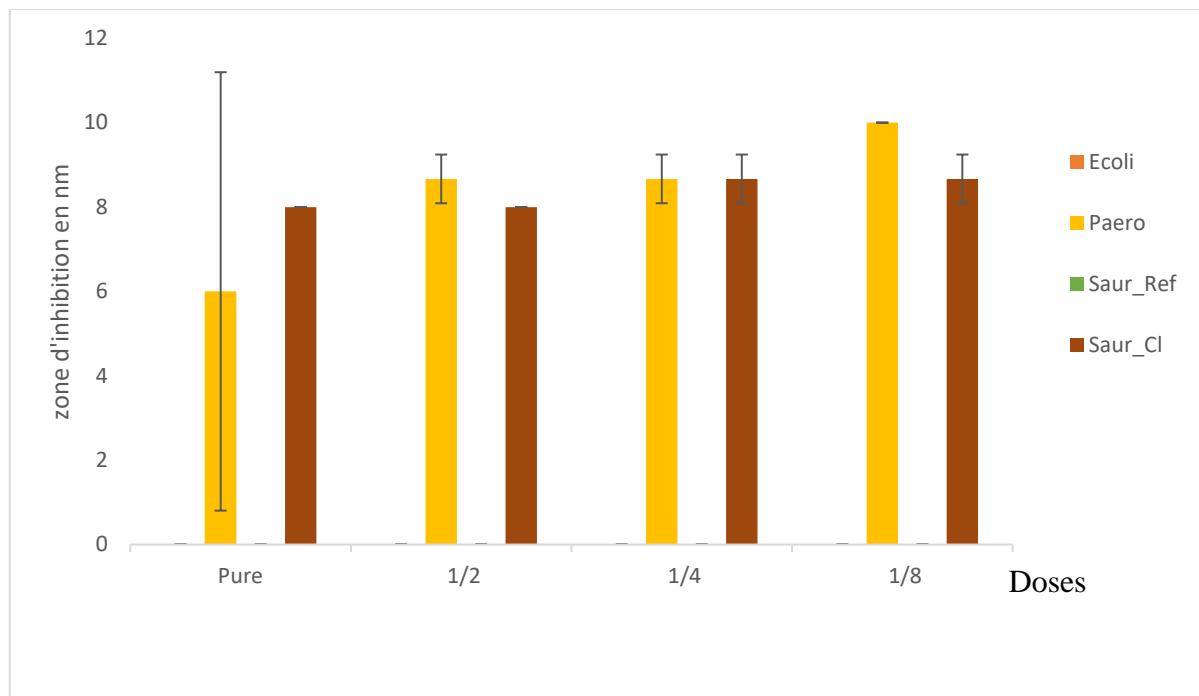
**Figure 8.** Effet des doses d'extrait de *Santolina africana* sur l'inhibition des souches bactérienne.

### 2.1.2. Extrait de *Carthamus carduncellus*



**Figure 9.** Effet des doses d'extrait de *Carthamus carduncellus* sur l'inhibition des souches bactérienne.

### 2.1.3. Huile fixe de *Bunium incrassatum*



**Figure 10.** Effet des doses d’huile fixe de *Bunium incrassatum* sur l’inhibition des souches bactérienne.

## 3.Traitement statistique

### 3.1. Analyse globale

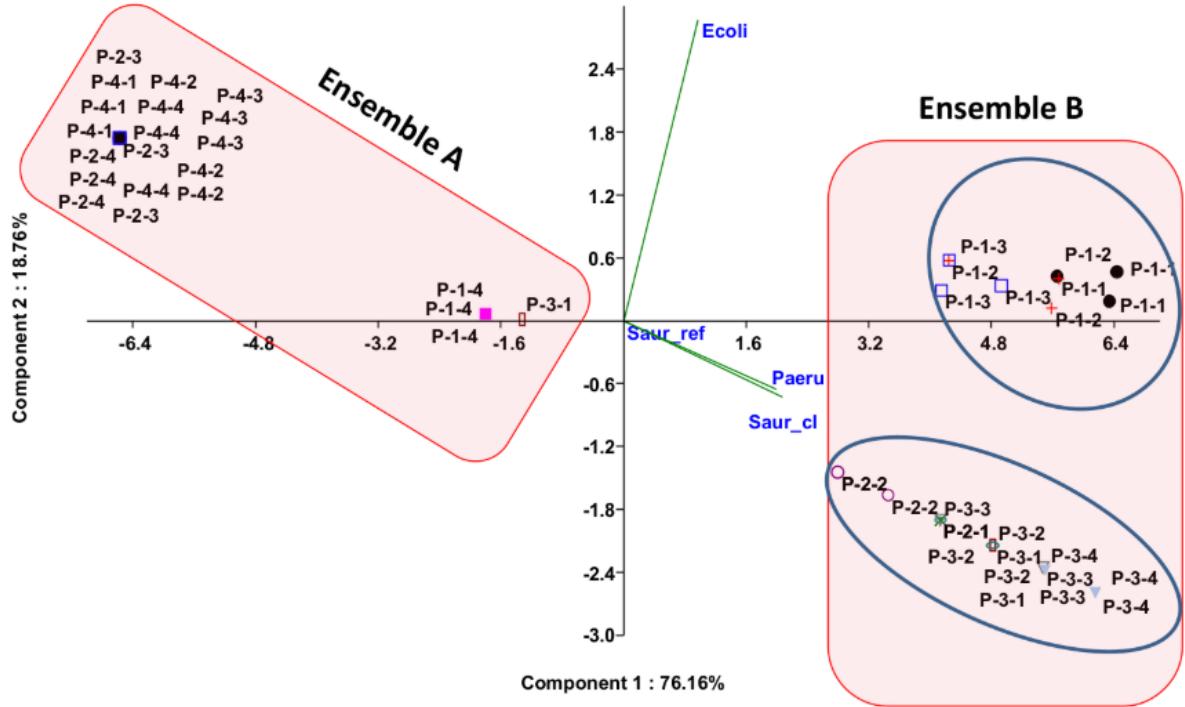
#### 3.1.1. Analyse en composantes principales (ACP) et La classification hiérarchique ascendante (CHA)

Pour mieux visualiser les liens entre les différents extraits testés (ainsi que leurs concentrations) et les souches bactériennes, nous avons utilisé l’analyse en composantes principales (ACP). Cette méthode a permis de faire ressortir des regroupements dans les données.

Les deux premiers axes principaux, F1 et F2, expliquent à eux seuls 94.92% de la variabilité totale des résultats : **F1** représente 76.16% et 18.76% pour **F2**. Bien que cette part ne couvre pas la totalité des données, elle est suffisante pour permettre une interprétation fiable et pertinente des relations entre les extraits et les bactéries.

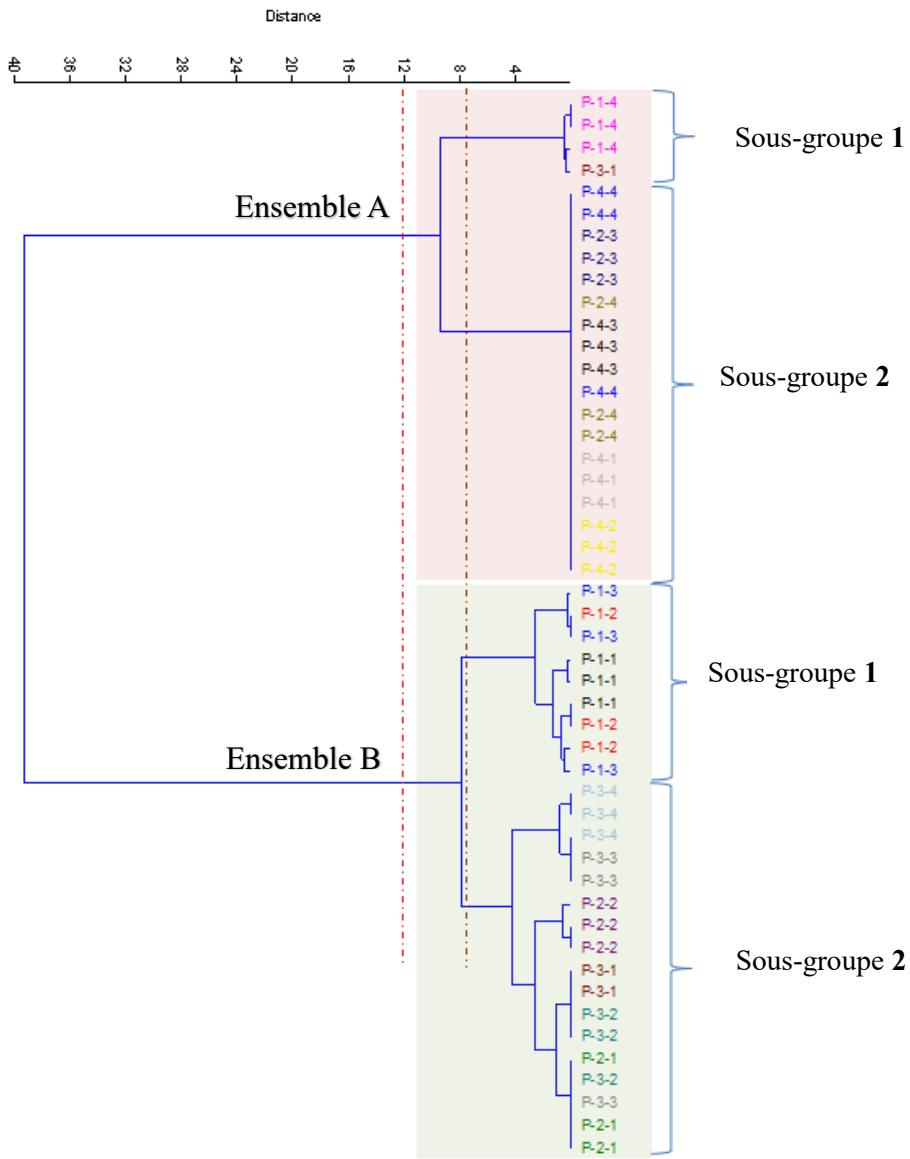
Le nuage des points (Figure 11) révèle deux ensembles distincts, notés **Ensemble A** et **Ensemble B**, clairement séparés.

La classification hiérarchique ascendante (Figure 12), basée sur les scores des deux premiers axes, confirme ces groupements. Le seuil de troncature a été fixé à une distance euclidienne de 0,4.



**Figure 11.** Projection des produits testés (avec leurs doses) et des souches bactériennes sur deux axes de l'analyse en composantes principales (ACP).

Produit 1 : Extrait *Santolina africana* ; Produit 2 : Extrait *Carthamus carduncellus* ; Produit 3 : Huile fixe *Bunium incrassatum* ; Produit 4 : Huile essentiel *Citrus reticulata* ; Dose 1 : pure selon les huiles et SM selon les extraits ; Dose 2 : dilution 1/2 ; Dose 3 : dilution 1/4 ; Dose 4 : dilution 1/8.



**Figure 12.** Dendrogramme de la classification hiérarchique ascendante (CAH) basé sur les scores des deux premiers axes de l'ACP.

La classification met en évidence la structure hiérarchique des groupements d'extraits selon leurs effets sur les souches bactériennes, avec un seuil de troncature à une distance euclidienne de 4.

### Ensemble A

Situé à gauche de la projection, se compose de deux sous-groupes, déterminés sur la base d'un seuil de distance euclidienne fixé à 8 :

Le premier regroupe les produits présentant activité sélective uniquement sur *Pseudomonas* : notamment *Santolina africana* (à dose 1/8), et à l'huile fixe de *Bunium incrassatum* (pure).

Le deuxième inclut les échantillons sans activité inhibitrice : à savoir la *Carthamus carduncellus* (doses 1/4 et 1/8) et le *Citrus reticulata* (à toutes les doses), avec les 3 répétition qui n'ont montré aucun effet sur les souches testées

## Ensemble B

L'ensemble B, situé dans la partie droite de la projection, est structuré en deux sous-groupes distincts, déterminés sur la base d'un seuil de distance euclidienne fixé à 8.

Le sous-groupe 1 est constitué des extraits de *Santolina africana* aux concentrations SM, 1/2 et 1/4, chacun testé en trois répétitions. Ces extraits se distinguent par leur activité inhibitrice spécifique à l'encontre *d'Escherichia coli*, suggérant une efficacité marquée vis-à-vis des souches à Gram négatif.

Le sous-groupe 2 regroupe, d'une part, les extraits de *Carthamus carduncellus* aux concentrations SM et 1/2 (trois répétitions), et d'autre part, ceux de *Bunium incrassatum* aux concentrations pure (avec deux répétitions), 1/2, 1/4 et 1/8 (avec trois répétitions). Ces extraits ont montré une inhibition ciblée vis-à-vis de la souche clinique de *Staphylococcus aureus* ainsi que de *Pseudomonas aeruginosa*, indiquant une activité potentielle contre à la fois les bactéries Gram positif et Gram négatif.

### 3.2. L'analyse partielle

Les données relatives au Produit *Citrus reticulata* ainsi qu'à l'effet sur *Staphylococcus aureus* de référence. Ont été exclues. L'étude s'est focalisée sur trois souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (souche clinique) et *Pseudomonas aeruginosa*.

Trois extraits végétaux (*Carthamus carduncellus*, *Santolina africana* ; *Bunium incrassatum*) ont été testés à quatre concentrations différentes (SM pour les extraits et pure pour l'huile ,1/2 ,1/4,1/8), chaque combinaison étant répétée trois fois indépendamment.

### 3.2.1. Effet des extraits végétaux et de la concentration sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*

Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 1.** Résultat d'analyse statistique d'ANOVA (Two-way) des extraits végétaux à des concentrations et votre combinaison sur le *Pseudomonas aeruginosa*

Source de variation	Somme des carrés (Sumsqrs)	Degrés de liberté (df)	Carré moyen (Meansqr)	F	P
Type d'extrait (A)	187,6	2	93,78	198,6	$1,17 \times 10^{-15}$
Concentration (B)	75,19	3	25,06	53,08	$9,63 \times 10^{-11}$
Interaction (A × B)	112,9	6	18,81	39,4	$2,54 \times 10^{-11}$
Erreur (résiduelle)	11,33	24	0,4722		
Total	387	35			

L'analyse statistique montre que le type d'extrait végétal a un effet très significatif sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* ( $p = 1,17 \times 10^{-15}$ ). Cela signifie que chaque extrait testé influence de manière différente, et très marquée, le développement de cette bactérie.

De plus, la concentration des extraits joue également un rôle important. Les résultats révèlent un effet très significatif de ce facteur ( $p = 9,63 \times 10^{-11}$ ), ce qui indique que la concentration d'extrait utilisée peut fortement moduler l'activité antibactérienne.

Enfin, l'interaction entre le type d'extrait et la concentration est aussi hautement significative ( $p = 2,54 \times 10^{-11}$ ), ce qui signifie que l'effet de la concentration varie en fonction de l'extrait végétal utilisé.

### 3.2.2. Effet des extraits végétaux et de la concentration sur la croissance de *Staphylococcus aureus* (souche clinique)

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 2.** Résultat d'analyse statistique d'ANOVA (Two-way) des extraits végétaux à des concentrations et votre combinaison sur *Staphylococcus aureus* clinique

Source de variation	Somme des carrés (Sumsqrs)	Degrés de liberté(df)	Carré moyen (Meansqr)	F	P
Type d'extrait (A)	117,2	2	58,58	421,8	$2,008 \times 10^{-19}$
Concentration (B)	164	3	54,67	393,6	$1,559 \times 10^{-20}$
Interaction (A × B)	161,5	6	26,92	193,8	$4,099 \times 10^{-19}$
Erreur (résiduelle)	3,333	24	0,1389		
Total	446	35			

Les résultats montrent un effet extrêmement significatif du type d'extrait végétal sur la croissance de *S. aureus* ( $p = 2,008 \times 10^{-19}$ ). Cela démontre que les différents extraits végétaux testés ont de l'activité antibactérienne très contrastées sur cette souche clinique.

De plus, la concentration des extraits a également un effet hautement significatif ( $p = 1,559 \times 10^{-20}$ ), ce qui indique que l'intensité de l'inhibition bactérienne est fortement influencée par la dose appliquée. Ces résultats confirment que la concentration constitue un paramètre déterminant dans l'activité antibactérienne des extraits testés.

L'analyse révèle également une interaction très significative entre le type d'extrait et la concentration ( $p = 4,099 \times 10^{-19}$ ). Cela signifie que l'effet de la concentration varie en fonction du type d'extrait utilisé.

### 3.2.3. Effet des extraits végétaux et de la concentration sur la croissance de *Escherichia coli*

Les résultats statistiques sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 3.** Résultat d'analyse statistique d'ANOVA (Two-way) des extraits végétaux à des concentrations et votre combinaison sur *Escherichia coli*

Source de variation	Somme des carrés (Sumsqrs)	Degrés de liberté (df)	Carré moyen (Meansqr)	F	P
Type d'extrait (A)	248,7	2	124,3	28,51	$4,565 \times 10^{-7}$
Concentration (B)	17,44	3	5,815	1,333	0,2869
Interaction (A × B)	214,2	6	35,7	8,187	$6,919 \times 10^{-5}$
Erreur (résiduelle)	104,7	24	4,361		
Total	585	35			

Les résultats montrent que le type d'extrait végétal a un effet hautement significatif sur la croissance de *E. coli* ( $p = 4,565 \times 10^{-7}$ ). Cela signifie que les extraits végétaux testés diffèrent considérablement dans leur capacité à inhiber ou influencer la croissance bactérienne.

En revanche, la concentration n'a pas d'effet significatif sur la croissance de *Escherichia coli* ( $p = 0,2869$ ). Cette absence de significativité suggère que, les variations de concentration des extraits n'ont pas entraîné de différences marquées dans l'inhibition de cette souche.

Cependant, l'interaction entre le type d'extrait et la concentration est significative ( $p = 6,919 \times 10^{-5}$ ), indiquant que l'effet de la concentration dépend du type d'extrait utilisé.

## 5. Interprétation des résultats de la CMI

La CMI correspond à la plus faible concentration pour laquelle une inhibition nette de la croissance bactérienne est observée, généralement indiquée par une DO proche de zéro ou largement inférieure à celle du témoin positif. Le tableau ci-dessous résume les CMI estimées pour chaque combinaison souche/extrait, accompagnées d'une justification basée sur l'évolution des valeurs de DO.

**Tableau 4.** Résultat de CMI basée sur l'évolution des valeurs de DO.

Souches	Huile/Extrait	CMI Estimé	Justification
<i>S. aureus</i> Clinique	<i>Bunium incrassatum</i>	Puit 3	DO passe de -0.073 (3), reste inférieure à témoin+ (0.454)
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Bunium incrassatum</i>	Aucun effet	DO augmente progressivement mais pas de baisse forte initiale
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Santolina Africana</i>	Puit 3	DO fortement négatifs à 3 (-3.48), puis remonte

D'après le tableau 4, il ressort que l'huile fixe de *Bunium incrassatum* présente une activité antibactérienne. En effet, les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sont uniformément de 1 % pour *Staphylococcus aureus* (souche clinique) tandis qu'aucun effet inhibiteur n'a été observé sur *Pseudomonas aeruginosa*.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) de *Santolina africana* a été déterminée à 6,25 mg/ml, correspondant à la concentration du troisième puits.

Les résultats combinés de l'analyse globale (ACP et CHA) et partielle (ANOVA à deux facteurs) permettent de mieux comprendre les effets antibactériens des extraits végétaux et la variabilité des réponses des souches bactériennes.

L'ACP suivie de la classification hiérarchique ascendante a révélé deux groupes principaux, A et B, distincts par leur efficacité inhibitrice. L'Ensemble A regroupe des produits ou doses inactifs ou faiblement actifs, surtout contre *Pseudomonas aeruginosa*, tandis que l'Ensemble B rassemble des extraits à large spectre avec une efficacité variable selon les souches et répétitions, notamment pour *Staphylococcus aureus* clinique et *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

L'analyse partielle par ANOVA a confirmé que le type d'extrait influence significativement toutes les souches ( $p < 0,001$ ), validant les regroupements de l'ACP.

La concentration des extraits a un effet significatif pour *S.aureus* clinique et *Pseudomonas aeruginosa*, mais pas pour *E. coli*, soulignant la valeur d'une analyse complémentaire.

L'interaction (extrait  $\times$  concentration) est aussi significative pour toutes les souches, reflétant la complexité des réponses, en accord avec les sous-groupes de l'Ensemble B.

Les résultats montrent que *S. aureus* (clinique) et *Pseudomonas aeruginosa* sont les souches les plus sensibles, avec une réponse liée à la concentration.

L'extrait de *Santolina africana* appartenant à l'Ensemble B, qui montre une activité antibactérienne sélective marquée, principalement contre *Pseudomonas aeruginosa*, même à faibles concentrations. En revanche, il est moins efficace contre *Escherichia coli* (effet à fortes doses) et peu actif contre *Staphylococcus aureus* clinique, indiquant une action ciblée surtout dirigée contre les bactéries à Gram négatif.

Les résultats de (Khammassi *et al.*, 2024), leur extraits méthanolique des parties aériennes et aqueux de *Santolina africana* ont montré une activité antibactérienne modérée contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Qui attribuent cette activité à la richesse en flavonoïdes, polyphénols et autres composés bioactifs.

(Chirane *et al.*, 2019) leur extract éthanolique des parties aériennes de *Santolina chamaecyparissus*, ont observé une activité comparable contre *Escherichia coli* avec en lien avec une teneur élevée en flavonoïdes et polyphénols. La variation d'activité selon les extraits souligne l'importance de la composition phytochimique dans l'efficacité antibactérienne de cette plante.

*Carthamus carduncellus* présente une activité antibactérienne sélective, appartenant à l'Ensemble B, principalement contre *Staphylococcus aureus* (clinique) et *Pseudomonas aeruginosa*, sans effet sur *Escherichia coli*.

Selon les travaux de (Belkassam *et al.*, 2020), l'extrait méthanolique des parties aériennes *Carduncellus pinnatus* qui ont observé une inhibition croissante contre *S. aureus* grâce à, activité attribuée à la richesse en composés phénoliques et flavonoïdes. Par ailleurs, (Belounis *et al.*, 2025) ont rapporté une activité antibactérienne significative de l'extrait racinaire de *Carthamus caeruleus* notable contre *Escherichia coli*, liée à sa teneur élevée en flavonoïdes et polyphénols. Enfin, (Karima *et al.*, 2013) ont montré que les extraits aqueux et organiques des feuilles et des racines de *Carthamus caeruleus*, inhibent efficacement *S.aureus* et modérément *Pseudomonas aeruginosa*, sans effet sur *Escherichia coli* à cause de disponibilité importance des polyphénols et flavonoïdes . Ainsi, la variation d'activité observée selon les extraits souligne l'importance de la composition phytochimique dans l'efficacité antibactérienne de cette plante.

*Citrus reticulata* a montré une absence d'activité dans l'analyse globale, contrairement aux résultats rapportés par (Bhandari *et al.*, 2021) ont observé une forte efficacité antibactérienne de l'huile essentielle de *Citrus reticulata* contre *E. coli* et *S. aureus* et (Song *et al.*, 2020) contre *S. aureus*. Cette activité est attribuée à des composés majeurs tels que le limonène, le  $\gamma$ -terpinène et l' $\alpha$ -pinène, connus pour altérer les membranes bactériennes. L'inefficacité observée dans notre étude pourrait être liée à une dégradation de ces constituants bioactifs, soulignant l'importance des conditions de conservation dans le maintien des propriétés antibactériennes.

*Bunium incrassatum* qui appartenant à l'Ensemble B, présente une activité antibactérienne intéressante contre *Staphylococcus aureus* (clinique) et *Pseudomonas aeruginosa*, mais aucun effet sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (référence).

Jusqu'à présent, aucune étude n'a évalué l'effet antibactérien de l'huile fixe de *Bunium incrassatum*. Toutefois, selon (Lamba *et al.*, 2023) les acides gras et leurs esters, présents dans cette huile, pourraient jouer un rôle clé dans l'activité antibactérienne. Ces composés sont connus pour perturber la membrane cellulaire des bactéries et inhiber certaines fonctions vitales. Ce mécanisme d'action a été confirmé dans des études récentes, qui ont mis en évidence l'efficacité de ces substances contre diverses souches bactériennes.

L'huile de *Bunium incrassatum* s'est distinguée par une faible CMI contre *Staphylococcus aureus* (souche clinique) à 1%, témoignant de la présence de composés actifs à faibles doses et soulignant son potentiel thérapeutique. En revanche, *Pseudomonas aeruginosa* a montré une résistance notable, à l'exception de *Santolina africana* qui a révélé une activité modérée à 6,25 mg/ml, suggérant une action ciblée contre cette bactérie.

Concernant la sensibilité bactérienne, les résultats indiquent que : *Staphylococcus aureus* (clinique) et *Pseudomonas aeruginosa* sont les souches les plus sensibles aux extraits testés, montrant une réponse clairement dépendante de la concentration.

En revanche, l'absence d'effet notable de la concentration sur *Escherichia coli* pourrait traduire une tolérance intrinsèque plus élevée ou une saturation de l'effet dès les plus faibles concentrations.

# **Conclusion**

Les plantes médicinales représentent un véritable trésor naturel riche en composés actifs qui intéressent les chercheurs, notamment face à l'augmentation alarmante de la résistance bactérienne aux antibiotiques traditionnels. Dans ce contexte, notre étude visait à mettre en lumière le potentiel thérapeutique de certaines plantes traditionnellement utilisées en évaluant leur activité antibactérienne.

Quatre plantes connues pour leur richesse en composés bioactifs ont été sélectionnées : *Santolina africana*, *Carthamus carduncellus*, *Bunium incrassatum* et *Citrus reticulata*. Notre évaluation s'est basée sur des tests *in vitro* utilisant la technique de diffusion sur disque pour mesurer la capacité d'extraits de plantes et d'huiles extraites (essentielles et fixes) à inhiber la croissance de diverses souches bactériennes importantes sur le plan médical.

Les rendements en huiles extraites ont été de 1,1 % pour l'huile essentielle des résidus de *Citrus reticulata*, 3 % pour l'huile fixe des graines de *Bunium incrassatum*, 0,66 % pour l'extrait aérien de *Santolina africana*, et 2,90 % pour celui de *Carthamus carduncellus*.

Les résultats obtenus ont révélé une variabilité significative de l'activité antibactérienne selon l'espèce végétale, le type d'extrait et la concentration utilisée. Parmi les produits testés, l'huile fixe de *Bunium incrassatum* a montré une activité remarquable contre certaines souches pathogènes, notamment *Staphylococcus aureus* (clinique) et *Pseudomonas aeruginosa*, tandis que l'huile essentielle de *Citrus reticulata* s'est révélée inefficace dans les conditions de l'étude.

Et selon les extraits ; *Santolina africana* présente une activité antibactérienne modérée avec une efficacité sur *E. coli*, *S. aureus* (clinique) et *P. aeruginosa*, En revanche, l'extrait de *Carthamus carduncellus* montre une activité limitée, observée uniquement à doses élevées sur *S. aureus* (clinique) et *P. aeruginosa*, sans effet sur *E. coli*.

L'analyse en composantes principales (ACP) et la classification hiérarchique ascendante (CHA) ont permis d'identifier deux groupes principaux : un ensemble A composé de produits inactifs ou faiblement actifs, et un ensemble B regroupant les extraits les plus efficaces.

L'analyse statistique par ANOVA a montré que le type d'extrait a un effet significatif sur toutes les souches. La concentration a influencé significativement *Staphylococcus aureus* (clinique) et *Pseudomonas arg*, mais pas *Escherichia coli*. L'interaction entre extrait et concentration est également significative, confirmant que l'efficacité dépend de la combinaison des deux facteurs.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont révélé que l'huile fixe de *Bunium incrassatum* est efficace à faibles doses (1%) contre *Staphylococcus aureus* clinique. En revanche, *Pseudomonas aeruginosa* reste majoritairement résistante, excepté à *Santolina africana*, qui exerce une activité modérée à 6,25 mg/ml.

Ainsi, Ces extraits végétaux présentent un potentiel intéressant en tant que sources naturelles d'agents antibactériens, ouvrant la voie à de futures investigations pour le développement de nouvelles alternatives thérapeutiques.

Cette étude reste préliminaire et nécessite d'être complétée par d'autres recherches visant à : réaliser des tests in vivo sur modèles animaux pour confirmer les résultats in vitro ; élargir les essais à d'autres types de micro-organismes afin d'explorer un spectre antimicrobien plus large ; utiliser des extraits et huiles fraîchement préparés, car certains composés bioactifs sont instables et sensibles à la dégradation ; et enfin, approfondir l'étude de plantes locales peu explorées mais traditionnellement utilisées, susceptibles de contenir des molécules bioactives prometteuses pour le développement de traitements naturels innovants.

# Références bibliographiques

## Références bibliographiques

- Abudunia, A.-M. (2018). *Etude phytochimique, screening biologique et pharmacologique des fleurs de calendula arvensis.*
- Akkal, S. (2017). *Étude phytochimique, biologique et activité anticorrosion de trois plantes médicinales algériennes appartenant aux familles Plumbaginaceae, Tamaricaceae et Apiaceae* [Thèse de doctorat, Université Frères Mentouri - Constantine 1, Faculté des Sciences Exactes, Département de Chimie].
- Apostolides, E., Papafotiou, M., Vissilia, A. M., & Paraskevopoulou, A. (2015). Gardens and orchards of Kampos' historical country mansions in Chios: an early trace of landscape architecture in Greece. *Studies in the History of Gardens & Designed Landscapes*, 35(4), 290-311.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food chemistry* (4th rev. and enlarged ed.). Springer Berlin Heidelberg.
- Benedí, C., & González, G. L. (2000). Carduncellus. In *Flora Ibérica: Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares* (Vol. 16(1), pp. 159–176).
- Billing, J., & Sherman, P. W. (1998). Antimicrobial functions of spices: why some like it hot. *The Quarterly review of biology*, 73(1), 3-49.
- Bockisch, M. (1998). *Fats and Oils Handbook* (1re édition).
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 16(S1), 173-183.
- Braz, V. S., Melchior, K., & Moreira, C. G. (2020). Escherichia coli as a multifaceted pathogenic and versatile bacterium. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 548492.
- Butnariu, M., & Sarac, I. (2018). Essential oils from plants. *Journal of Biotechnology and Biomedical Science*, 1(4), 35–43.

Bhandari, D. P., Poudel, D. K., Satyal, P., Khadayat, K., Dhami, S., Aryal, D., ... & Parajuli, N. (2021). Volatile compounds and antioxidant and antimicrobial activities of selected citrus essential oils originated from Nepal. *Molecules*, 26(21), 6683

CA-SFM. (2013). Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. <http://www.sfm.asso.fr/>

Chemat, F., Vian, M. A., & Cravotto, G. (2012). Green extraction of natural products: Concept and principles. *International journal of molecular sciences*, 13(7), 8615-8627.

Chevalier, A. (1947). Mandariniers et Orangers. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 27(301), 495-498.

Chentouh, S., Boulahbel, S., Adjal, F., Tolba, M., Alloua, N., Moumen, Y., & Bentayeb, Y. (2018). Effets des extraits organiques de *Bunium incrassatum* sur quelques paramètres hématologiques chez les lapines de population la race locale. *Revue des bioressources*, 8(2), 9-9.

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

Cushnie, T. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 26(5), 343-356.

da Cunha, J. A., Heinzmann, B. M., & Baldisserotto, B. (2018). The effects of essential oils and their major compounds on fish bacterial pathogens—a review. *Journal of applied microbiology*, 125(2), 328-344.

Dewick, P. M. (2009). *Medicinal natural products: A biosynthetic approach* (3rd ed.). John Wiley & Sons.

Donaldson, J. R., Warner, S. L., Cates, R. G., & Gary Young, D. (2005). Assessment of antimicrobial activity of fourteen essential oils when using dilution and diffusion methods. *Pharmaceutical biology*, 43(8), 687-695.

eFlore. (s. d.). Tela Botanica. Consulté 28 mai 2025, à l'adresse <https://www.tela-botanica.org/eflore/>

- Elshafie, H. S., Camele, I., & Mohamed, A. A. (2023). A comprehensive review on the biological, agricultural and pharmaceutical properties of secondary metabolites based-plant origin. *International journal of molecular sciences*, 24(4), 3266.
- Fatma, G., Sami, B. H. A., & Ahmed, L. (2017). Investigation of extracts from Tunisian ethnomedicinal plants as antioxidants, cytotoxins, and antimicrobials. *Biomedical and Environmental Sciences*, 30(11), 811-824.
- Fayisa, W. O., & Tuli, N. F. (2023). Review on *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Nurs. Care Res*, 1, 1-8.
- Gunstone, F. (Ed.). (2011). *Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses*. John Wiley & Sons.
- Harborne, A. J. (1998). *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. Springer Science & Business Media.
- Hammer, Ø., & Harper, D. A. (2001). Past: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontology electronica*, 4(1), 1.
- Hassine, D. B., Ismail, H. B., Jribi, C., Khouja, M. L., & Abderrabba, M. (2011). Huile essentielle d'Eucalyptus oleosa: Extraction, composition chimique et activité antimicrobienne (pp. 39–55).
- Hossain, T. J. (2024). Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols, advantages, and limitations. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 14(2), 97-115.
- Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in microbiology*, 3, 12.
- Julien, A. (1894). *Flore de la région de Constantine*.
- Karima, S. (2015). *Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de Carthamus caeruleus L. et de Plantago major L.* Thèse de doctorat en microbiologie, Université Ferhat Abbas 1.

- Khammassi, M., Mansour, M. B., Laabidi, A., Amri, I., Boudkhili, M., Hamrouni, L., ... & Jamoussi, B. (2018). Antifungal activity of essential oils and crude extracts of *Santolina africana*. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 9(10), 2963-2869.
- Khammassi, M., Khedhri, S., Slama, A., Boudkhili, M., Amri, I., Hamrouni, L., & Jammoussi, B. (2024). Secondary metabolites of *Santolina africana*: chemical profiles and assessment of biological activities. *International Journal of Secondary Metabolite*, 11(3), 472-485.
- Konan, F. K., et al. (2014). Effet antibactérien de l'extrait aqueux de l'écorce de *Terminalia glaucescens*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(3), 1192-1201.
- Kumar, M. K., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). *Internationale Pharmaceutica Sciencia*.
- Lamba, A., Kopel, J., Westenberg, D., & Kapila, S. (2023). Fatty acids, esters, and biogenic oil disinfectants. *Baylor University Medical Center Proceedings*, 36(3), 375–379.
- Lmachraa, I., Fdil, R., Fdil, N., & Mouzdzahir, A. (2014). Huile essentielle de *Santolina africana* du Maroc. *J Mater Environ Sci*, 5(1), 67-72.
- Malti, C. E. W., et al. (2019). Biological activities and chemical composition of *Santolina africana*. *Molecules*, 24(1), 204.
- Musara, C., Aladejana, E. B., & Mudyiwa, S. M. (2020). Review on *Citrus reticulata Blanco*. *F1000Research*, 9, 1387.
- Nassima, B. G., et al. (2022). *Bunium pachypodium* extracts from Algeria. *Biodiversity Journal*, 13(4), 969-980.
- Noividzro, K. M., et al. (2019). Étude de l'huile de *Griffonia simplicifolia*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(4), 2360-2373.
- Omojate, G. C., et al. (2014). Mechanisms of antimicrobial actions of phytochemicals. *J Pharm Chem Biol Sci*, 2(2), 77-85.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Simons, A. (2015). *Agroforestry database*.
- POWO. (2025). *Plants of the World Online*. <https://powo.science.kew.org/>
- Qin, S., et al. (2022). *Pseudomonas aeruginosa*. *Signal transduction and targeted therapy*, 7(1), 199.

Song, X., Liu, T., Wang, L., Liu, L., Li, X., & Wu, X. (2020). Antibacterial effects and mechanism of mandarin (*Citrus reticulata L.*) essential oil against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 25(21), 4956.

Wink, M. (2015). Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. *Medicines*, 2(3), 251-286.

World Health Organization. (2013). *WHO traditional medicine strategy: 2014-2023*.

# **Annexes**

## **Annexe 1: Les milieux de culture**

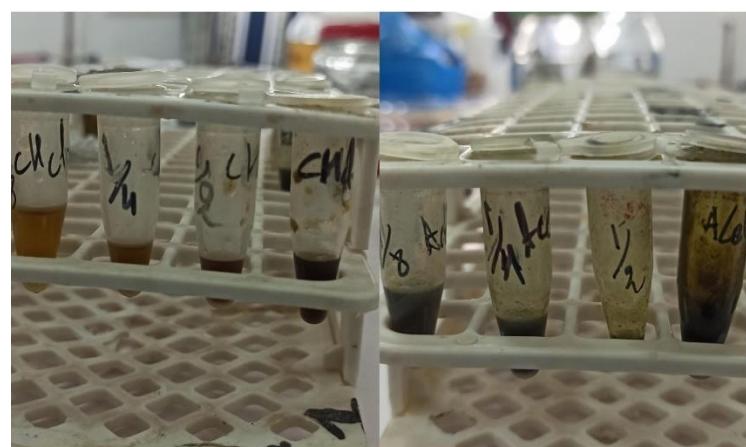
## Milieu Mueller Hinton (agar)

- Peser 19 g de poudre de Mueller-Hinton.
  - Les dissoudre dans 500 ml d'eau distillée sous agitation constante.
  - Chauffer le mélange jusqu'à ébullition afin d'obtenir une solution homogène.
  - Répartir la solution dans des flacons appropriés.
  - Stériliser les flacons à l'autoclave pendant 15 minutes à 120°C.

### **Milieu Gélose nutritif**

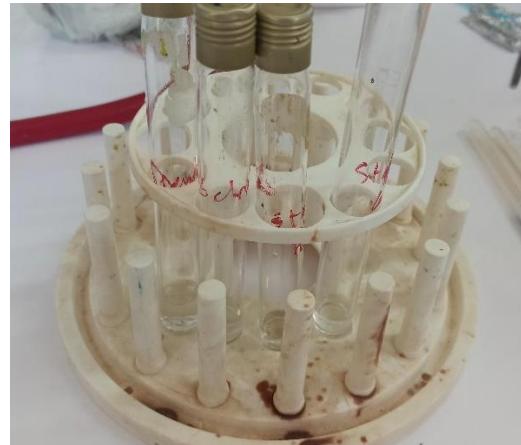
- Peser 5 g de poudre de Mueller-Hinton.
  - Les dissoudre dans 250 ml d'eau distillée sous agitation constante.
  - Chauffer le mélange jusqu'à ébullition afin d'obtenir une solution homogène.
  - Répartir la solution dans des flacons appropriés.
  - Stériliser les flacons à l'autoclave pendant 15 minutes à 120°C.

## Annexe 2



#### **Annexe 2.** Dilution des extraits de *Carthamus Carduncellus* et de *Santolina africana*

### **Annexe 3**



**Annexe 3.** La suspension bactérienne.

### **Annexe 4 : les zones d'inhibition d'antibiotique streptomycine 300.**

Streptomycine300	
<i>Escherichia coli</i>	30
<i>Staphylococcus aureus reference</i>	27
<i>Staphylococcus aureus Clinique</i>	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27

## Annexe 5

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

### Extrait du *Santolina africana* et de *Carthamus Carduncellus*

	<i>Santolina africana</i>				<i>Carthamus Carduncellus</i>			
	SM	1/2	1/4	1/8	SM	1/2	1/4	1/8
<i>Concentration souches</i>								
<i>Escherichia coli</i>	9,3	8,3	7,6	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus référence</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus Clinique</i>	9	7,6	7	0	8	7,33	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8,6	8,6	8,3	7	8	7	0	0

### Huile fixe de *Bunium incrassatum* et huile essentielle de *Citrus reticulata*

	<i>Bunium incrassatum</i>				<i>Citrus reticulata</i>			
	Pure	1/2	1/4	1/8	Pure	1/2	1/4	1/8
<i>Concentration souches</i>								
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus référence</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus Clinique</i>	8	8	8,7	8,7	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	8,6	8,7	10	0	0	0	0

## ملخص

مع تزايد مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية التقليدية، هدفت هذه الدراسة إلى اختبار النشاط المضاد للبكتيريا لأربعة مستخلصات نباتية مختلفة: المستخلص الخام لنبات *Santolina africana* (بنسبة استخلاص 0.66 %)، ومستخلص *Carthamus carduncellus* (بنسبة 2.90 %)، والزيت الثابت لنبات *Bunium incrassatum* (بنسبة 3 %)، والزيت الأساسي *Citrus reticulata* (بنسبة 1.1 %). تم اختبار هذه المستخلصات في المختبر ضد عدة أنواع من البكتيريا. أظهرت النتائج أن الزيت الثابت لنبات *Bunium incrassatum* كان الأكثر فعالية، خاصة ضد السلالة السريرية من *S. aureus* (بلغ 1% ضد *S. aureus* (MIC) بتركيز مثبط أدنى (MIC) بلغ 6.25 ملغم/مل. أما نبات *Santolina africana* نشاطاً متوسطاً ضد *P. aeruginosa*، و *E. coli* (السلالة السريرية)، و *S. aureus* عند تركيز MIC بلغ 25 ملغم/مل. أما نبات *Pseudomonas aeruginosa* فقد أبدى تأثيراً ضعيفاً فقط على *S. aureus* (السلالة السريرية). وأكّدت التحليلات الإحصائية أن نوع المستخلص وتركيزه يلعبان دوراً هاماً في مستوى النشاط المضاد للبكتيريا. وبختصار، تسلط هذه الدراسة الضوء على الإمكانيات الكبيرة لبعض النباتات المحلية لتطوير علاجات طبيعية جديدة لمكافحة البكتيريا.

**الكلمات المفتاحية:** *Bunium incrassatum, Citrus reticulata, MIC, Santolina africana, Carthamus carduncellus*

## Résumé

Avec la résistance croissante des bactéries aux antibiotiques classiques, cette étude a cherché à tester l'activité antibactérienne de quatre intérêts des plantes : extraits bruts de *Santolina africana* (rendement 0,66 %) et *Carthamus carduncellus* (rendement 2,90 %), huile fixe de *Bunium incrassatum* (rendement 3 %) et huile essentielle de *Citrus reticulata* (rendement 1,1 %). On a testé en laboratoire contre plusieurs bactéries. Les résultats montrent que l'huile fixe de *Bunium incrassatum* est la plus active, surtout contre la souche clinique de *S. aureus* à CMI 1%, et contre *P. aeruginosa*. *Santolina africana* a aussi montré une activité modérée contre *E. coli*, *S. aureus* (clinique) et *P. aeruginosa* à CMI 6.25 mg/ml, tandis que *Carthamus carduncellus* a eu un effet plus faible juste sur *S. aureus* (clinique) et *P. aeruginosa*, et l'huile essentielle de *Citrus reticulata* n'a pas été efficace. Les analyses statistiques ont confirmé que le type d'extrait et la concentration jouent un rôle important dans cette activité. En résumé, cette étude met en lumière le fort potentiel de certaines plantes locales, pour développer de nouveaux traitements naturels contre les bactéries.

**Mots clés :** *Santolina africana, Carthamus carduncellus, Bunium incrassatum, Citrus reticulata, CMI.*

## Abstract

With the increasing resistance of bacteria to conventional antibiotics, this study aimed to test the antibacterial activity of four plant-derived substances: crude extracts of *Santolina africana* (yield 0.66%) and *Carthamus carduncellus* (yield 2.90%), fixed oil of *Bunium incrassatum* (yield 3%), and essential oil of *Citrus reticulata* (yield 1.1%). Laboratory tests were conducted against several bacterial strains. The results showed that the fixed oil of *Bunium incrassatum* was the most active, particularly against the clinical strain of *S. aureus* with a MIC of 1% and against *P. aeruginosa*. *Santolina africana* also exhibited moderate activity against *E. coli*, *S. aureus* (clinical), and *P. aeruginosa* at a MIC of 6.25 mg/ml. In contrast, *Carthamus carduncellus* had a weaker effect, limited to *S. aureus* (clinical) and *P. aeruginosa*, and the essential oil of *Citrus* was ineffective. Statistical analyses confirmed that both the type of extract and the concentration play significant roles in antibacterial activity. In summary, this study highlights the strong potential of certain local plants for the development of new natural antibacterial treatments.

**Keywords:** *Santolina africana, Carthamus carduncellus, Bunium incrassatum, Citrus reticulata. MIC*

Déclaration de correction de mémoire de master 2025

Référence du mémoire N°: 15... / 2025

PV de soutenance N°: ..... / 2025

<p align="center"><b>Déclaration et décision de l'enseignant promoteur :</b></p> <p><b>Déclaration :</b></p> <p>Le soussigné (e), ... Dr. A. ... à l'université  <span style="margin-left: 100px;">(grade) Prof. ....</span> avoir examiné intégralement ce  <span style="margin-left: 100px;">BONNE ..., avoir examiné intégralement ce</span> manuscrit ....  <span style="margin-left: 100px;">manuscrit ....</span> mardi après les modifications apportées par l'étudiant.</p> <p>J'atteste que :</p> <p>Le document a été corrigé et il est conforme au modèle de  <span style="margin-left: 100px;">du département SNV</span> ....  <span style="margin-left: 100px;">Les corrections ont été faites strictement aux</span> commandements du jury.  <span style="margin-left: 100px;">Toutes anomalies ont été corrigées</span></p>	<p align="right"><b>تصريح:</b></p> <p>أنا الممضي (ة) أسفله ..... كليه ..... كلية .....  <span style="margin-left: 100px;">(الرتبة) ..... أستاذ ..... مصادر .....  <span style="margin-left: 100px;">.....</span> أصرح بأنني راجعت محتوى هذه المذكورة كلية مراجعة دقيقة  <span style="margin-left: 100px;">وذلك بعد التصحيحات التي أجراها الطالب بعد المناقشة، وعليه  <span style="margin-left: 100px;">أشهد بأن :</span></span></span></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>* المذكورة تتوافق بشكلها الحالي مع النموذج المعتمد لقسم علوم الطبيعة والحياة.</li> <li>* المذكورة صحيحة وفقاً لكل توصيات لجنة المناقشة</li> <li>* تم تدارك الكثير من الاختلالات المكتشفة بعد المناقشة</li> </ul>
--	--

Décision :		قرار :					
مقبول	ordinaire عادي	bien	حسن	très bien	جيد جداً	excellent ممتاز	exceptionnel متميز
E	D	C	B	A	A+		



الأستاذ المشرف

التاريخ  
2025 / 07 / 02

Cette fiche doit être collée d'une façon permanente derrière la page de garde sur les copies de mémoire déposées au niveau de la bibliothèque universitaire