

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الجليلي بونعامة خميس مليانة

Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre

Département de : Biologie



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master en

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

*Etude de l'effet antibactérien des extraits de
Crataegus azarolus contre les bactéries pathogènes
responsables des infections gastro-intestinales*

Présenté par :

- ❖ **Mme BRADA ASMA**
- ❖ **Mlle MIRAOUI AMIRA**

dirigé par :

LAISSAOUI A : MCB à UDBKM

Année Universitaire 2019/2020

REMERCIEMENT

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAHÉLK ARIM et le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qui nous adonné durant toutes les années d'études.

Recevez ici nos sincères remerciements pour la confiance, les conseils que vous nous avez accordés tout au long de ce travail. Merci pour votre encadrement, votre disponibilité et votre gentillesse madame LAISSAOUI AICHA.

Un grand merci à notre co-promotrice Mlle DIKES LOUBNA pour son optimisme infaillible et ses encouragements. Veuillez accepter l'expression de nos gratitudees et de nos plus sincères remerciements.

Nous tenons à remercier mes dames et messieurs les membres de jury L'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'examiner ce travail.

Nous remercions tous les enseignants de département "sciences Biologiques" spécialement: Mr. AOUN, Mr. MEKHANEG, Mme. ABDELLI, Mme. GUETARNI, Mme. OUAZIB, Mme. SAEI, et Mr. ROUABAH tous qui nous ont aidés de près ou loin pendant toutes les années d'études.

Nous remercions également Mr. BRADA, AICHA, AFAF, KELTHOUM veuillez trouver ici l'expression de nos gratitudees pour nous avoir accueillie au sein de vos laboratoires. Soyez assurées de nos profonds respects et de nos vives reconnaissances pour nous avoir fait bénéficier de vos expériences et de vos rigueurs scientifiques et professionnelles.

Nous profitons aussi de cette occasion pour adresser nos remerciements à nos parents pour leurs sacrifices et à toutes les familles qui nous ont toujours encouragé et soutenu tout au long des années d'étude.

Nous remercions en fin tous ceux qui n'ont pas été cités dans ces quelques lignes et qui ont contribué de près ou de loin par leur aide au bon déroulement de ce travail.

Dédicace

A mon père BRADA MOKHTAR, pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi "papa". Tu m'as permis de continuer mes études dans les meilleures conditions et tu m'as appris à ne jamais baissé les bras. Là où je suis arrivée aujourd'hui, c'est grâce à ton soutien et à tes encouragements. Puisse Allah le Tout puissant te préserver et t'accorder santé, longévité et bonheur.

« Merci papa »

A toi ma mère, MERRAH YAMINA, pour ton affection, ta patience, ton endurance, ta compréhension, ta disponibilité, ton écoute permanent et ton soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie. Tu es la source de ma réussite, car ce travail est le fruit de ta rigueur et de tes sacrifices pour mon éducation et ma formation. Je te dédie ce travail en te rendant hommage et en témoignant mon amour infini pour toi.

« Merci maman »

A mon Mari ABDEREZZAQ AMMOUR.

A mon chère frère HAMMOUDA.

A ma chère sœur MEKKA.

A mes chères tantes MALIKA, FATMA, BAYA, BAKHTA, HABIBA, KHAIRA, SAMIRA, SABAH, et AMINA.

Je n'oublie jamais mes chères sœurs AJA, CHAHDOUDA, et maman AMEL ABACI.

A tous mes cousines SIHAM, IMANE, IMANE, LAMIA, MALAK, FEDOUA, OUMAYA, MERIEM, SARAH, AMOULA, et Israa.

A mon binôme AMIRA MIRAOUJ avec qui j'ai partagé les bons et les durs moments.

A Louay, Sifine, wassime, Ichrak, Dania, et Mimi.

A toute ma famille et à tout ce qui me connais-je-vous aime.

ASMA

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à mon
très chère père **MIRAOUI MOHAMED** Qui m'a toujours soutenu,
et qu'a été toujours présent pour moi.*

*A la plus chère au monde, Ma mère qui a
toujours m'encouragé durant Mes études*

*A mes sœurs **Chaïma**, et **Aya**,
Mes frères **Saïd**, **Abdelrezek** , pour leur soutien
et matériellement.*

*Toutes mes amies surtout : **Amel**, **Amira**, et tous mes collègues
de la promotion de **M2 microbiologie 2020**.*

Je dédie mon travail aussi à :

***Dr LAISSAOUI** pour leur soutien et leur encouragement aussi bien
pour sa patience jusqu'à la fin de ce modeste travail et un grand
merci pour*

*Mon chère binôme **Asma Brada** qui partagé avec moi les moments
difficiles de ce travail.*

Amira

RESUME

RESUME

A travers de notre modeste recherche bibliographique, il nous ressorte que l'extrait méthanolique des fruits de *Crataegus azarolus* L. n'a pas d'un effet antibactérien ; alors que, l'extrait éthanolique des fruits de *Crataegus azarolus* testé a montré leur efficacité remarquable sur les bactéries Gram+ et Gram- ; cette efficacité revient à leur richesse en flavonoïdes qui sont parmi les plus communs des produits naturels qui présentent un large spectre d'activité antibactérienne.

En outre, aucune étude antibactérienne n'a été faite vis à vis de *Helicobacter pylori* qui est notre objectif principal de ce travail.

L'analyse qualitative et quantitative a révélé que l'extrait méthanolique a une teneur considérable de substances bioactives (les polyphénols et les flavonoïdes).

Mots clés : *Crataegus azarolus*, extrait, infection gastro-intestinal, activité antibactérienne.

ABSTRACT

Abstract

Through our modest bibliographical research, it appears that the methanolic extract of the fruits of *Crataegus azarolus* L. has no antibacterial effect; while the ethanolic extract of the fruits of *Crataegus azarolus* tested showed their remarkable effectiveness on Gram + and Gram-bacteria. This effectiveness is due to their richness in flavonoids which are among the most common natural products which present a broad spectrum of activity antibacterial.

In addition, no antibacterial studies have been done against *Helicobacter pylori* which is our main focus through this work.

Qualitative and quantitative analysis revealed that the methanolic extract has a considerable content of bioactive substances (polyphenols and flavonoids).

Key words: *Crataegus azarolus*, extract, gastro-intestinal infection, antibacterial activity.

ملخص

من خلال بحثنا البيلوغرافي المتواضع, يبدو أن المستخلص الميثانولي من ثمار

Crataegus azarolus L ليس له تأثير مضاد للجراثيم. بينما أظهر المستخلص الإيثانولي لثمار *Crataegus azarolus* L. الذي تم اختباره فعاليته الملحوظة على بكتيريا الجرام + و الجرام - , و تعزى هذه الفعالية إلى غناها بالفلافونويدات التي تعد من أكثر المنتجات الطبيعية شيوعا و التي تقدم نطاقا واسعا من النشاط مضاد الجراثيم. بالإضافة إلى ذلك, لم يتم إجراء أي دراسات مضادة للجراثيم على بكتيريا هيليكوباكتر بيلوري التي تمثل تركيزنا الرئيسي من خلال هذا العمل.

أظهر التحليل النوعي و الكمي أن المستخلص الميثانولي يحتوي على نسبة كبيرة من المواد النشطة بيولوجيا (البوليفينول و الفلافونويدات).

الكلمات المفتاحية: *Crataegus azarolus*, المستخلص, عدوى الجهاز الهضمي, نشاط مضاد للجراثيم.

LISTE DES ABREVIATIONS

Liste des abréviations

E.Met	Extrait methanplique.
E.Aqe	Extrait aqueux.
EAG	Equivalent d'acide gallique.
EQ	Equivalent de quercétine.

LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux

Tableau 01 :	Définitions des principaux groupes d' <i>E.coli</i> pathogènes chez l'homme et les animaux domestiques.	8
Tableau 02 :	Le rendement de différents extraits de <i>Crataegus azarolus</i> .	32
Tableau 03 :	Liste des souches microbiennes testées.	42
Tableau 04 :	Le taux d'humidité et de matière sèche du fruit de <i>Crataegus azarolus</i> .	48
Tableau 05 :	Le taux d'humidité et de matière sèche du fruit de <i>Crataegus azarolus</i> de différentes régions.	48
Tableau 06 :	Résultats des tests de détection des flavonoïdes, des tanins et des alcaloïdes sur les extraits du fruit de <i>Crataegus azarolus</i> L.	49
Tableau 07 :	Résultats des analyses qualitatives des flavonoïdes, des tanins et des alcaloïdes sur les différents extraits du fruit de <i>Crataegus azarolus</i> L.	50
Tableau 08 :	Résultats des analyses quantitatives de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Crataegus azarolus</i> .	50
Tableau 09 :	Résultats des analyses quantitatives de l'extrait méthanolique des fruits de <i>Crataegus azarolus</i> .	51
Tableau 10 :	Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne de l'extrait méthanolique des fruits secs, et des fruits fraîches de <i>Crataegus azarolus</i> .	52
Tableau 11 :	Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne de l'extrait éthanolique des fruits de <i>Crataegus azarolus</i> .	53
Tableau 12 :	Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne de l'extrait aqueu-acétonique des fruits de <i>Crataegus azarolus</i> .	54

LISTE DES FIGURES

Liste des figures

Figure 01 :	Répartition des bactéries du microbiote intestinal dans le tractus gastro-intestinal.	4
Figure 02 :	Fleurs, feuilles et branches de <i>Crataegus azarolus</i> .	15
Figure 03 :	Fruits de <i>crataegus azarolus</i> (a), et Différentes parties du fruit du <i>Crataegus azarolus</i> (b).	16
Figure 04 :	Les feuilles fraîches de <i>Crataegus azarolus</i> .	32
Figure 05 :	Les feuilles sèches (a), et le broyat de <i>Crataegus azarolus</i> (b).	33
Figure 06 :	Macération du mélange (a), et filtration sur papier filtre (b).	34
Figure 07 :	Macération du mélange (a), et filtration sur papier filtre (b).	35
Figure 08 :	Ebullition du mélange (a), et filtration sur papier filtre (b).	36
Figure 09 :	Ebullition du mélange (a), et filtration sur papier filtre (b).	36
Figure 10 :	Schéma général des différentes étapes du travail.	41

TABLE DE MATIERE

Table de matière

Remerciements

Dédicace

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....1

PARTIE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I: INFECTIONS GASTRO-INTESTINALES

I. Flore intestinale.....	4
I.1. Facteurs influençant la répartition de la microflore gastro-intestinale.....	4
I.2. Effets métaboliques de la flore intestinale.....	5
I.3. Rôle de la flore normale dans la résistance à l'infection.....	6
II. Infections gastro-intestinales.....	6
II.1. Facteurs favorisant les infections gastro-intestinales.....	7
II.2. Lésions.....	7
III. Bactéries pathogènes responsables d'infection gastro-intestinale.....	8
III.1. Gastroentérites à <i>Escherichia coli</i>	8
III.2. Intoxication alimentaire par <i>Staphylococcus aureus</i>	9
III.3. Infection à <i>Klebsiella pneumoniae</i>	10
III.4. Infection à <i>Helicobacter pylori</i>	10

TABLE DE MATIERE

III.5. Infections à <i>Proteus</i> sp.....	11
III.6. Infections à <i>Citrobacter</i>	11
III.7. <i>Pseudomonas aerogenosa</i>	12

CHAPITRE II : GENERALITES SUR *Crataegus azarolus*

I. La famille des <i>Rosacées</i>	13
II. Le genre <i>Crataegus</i> « L'aubépine ».....	13
III. Monographie de plante étudiée.....	13
III.1. Caractéristiques de <i>Crataegus azarolus</i>	13
III.1.1. Définitions.....	13
III.1.2. Historique et origine.....	14
III.1.3. Caractéristiques morphologiques.....	14
III.2. Classification Botanique.....	16
III.3. Répartition géographique.....	17
III.4. Habitat et Culture.....	17
III.5. Compositions chimiques.....	18
III.6. Utilisation de <i>Crataegus azarolus</i>	19
III.6.1. Utilisations alimentaires.....	19
III.6.2. Utilisations médicinales.....	19
III.6.3. Autres utilisations.....	20
III.7. Activités biologiques d'azérolier.....	20
III.7.1. Activité antioxydante.....	20
III.7.2. Activité anti arythmique.....	21
III.7.3. Activité antimicrobienne.....	21

TABLE DE MATIERE

III.7.4. Activité anti-inflammatoire.....	21
III.7.5. Activité hypotensive.....	21
III.7.6. Autres activités biologiques.....	21

Chapitre III : PHYTOTHERAPIE ET PLANTES MEDICINALES

I. La phytothérapie.....	23
II. Les plantes médicinales.....	23
III. Eléments actifs des plantes médicinales.....	24
III.1. Métabolite primaire.....	24
III.2. Métabolite secondaire.....	24
III.2.1. Rôle des métabolismes secondaires.....	25
III.2.1.1. Les alcaloïdes.....	25
III.2.1.2. Les composés phénoliques.....	25
III.2.1.2.1. Rôle des polyphénols	26
III.2.1.3. Les flavonoïdes.....	27
III.2.1.4. Les tannins	27
III.2.1.5. Les saponines.....	28
III.2.1.6. Mucilage.....	28
III.2.1.7. Polysaccharides.....	28
IV. Activités biologiques des extraits de plantes médicinales.....	28
IV.1. Activité anti microbienne.....	28
IV.2. Activité antioxydant.....	29
IV.3. L'activité anti-inflammatoire.....	29

TABLE DE MATIERE

PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE IV : MATERIELS ET METHODES

I. Préparation et analyses des extraits de <i>Crataegus azarolus</i>	31
I.1. Matériels.....	31
I.1.1. Matériel végétal.....	31
I.1.2. Matériel non biologique.....	31
I.1.3. Produits et réactifs chimiques.....	31
I.2. Méthodes.....	32
I.2.1. Séchage de la plante.....	32
I.2.2. Détermination de la matière sèche et de l'humidité.....	33
I.2.3. Préparation des extraits végétaux.....	33
I.2.3.1.Extraction à froid.....	34
I.2.3.1.1. Macération.....	34
I.2.3.1.1.1.Méthode de préparation de l'extrait éthanolique de <i>Crataegus azarolus</i>	34
I.2.3.1.1.2. Méthode de préparation de l'extrait hydro-alcoolique de <i>crataegus azarolus</i> ..	34
I.2.3.2. Extraction à chaud.....	35
I.2.3.2.1 Décoction.....	35
I.2.3.2.2. Infusion.....	36
I.2.4.Rendement.....	37
I.2.4.1.Calcul du rendement des extractions	37
I.2.5. Analyse des extraits	37
I.2.5.1. Analyses qualitatives des extraits.....	37
I.2.5.1.1. Détection des polyphénols	37

TABLE DE MATIERE

I.2.5.1.2. Détection des flavonoïdes.....	38
I.2.5.1.3. Détection des tanins.....	38
I.2.5.1.4. Détection des alcaloïdes	38
I.2.5.2. Chromatographie liquide à haute performance HPLC.....	38
1.2.5.3. Méthodes d'analyse quantitatives des extraits.....	39
I.2.5.3.1. Dosage des phénols totaux.....	39
I.2.5.3.1. Dosage des flavonoïdes.....	40
I.2.5.3.2. Dosage des tanins.....	40
II. Etude de l'activité antibactérienne	42
II.1. Matériel.....	42
II.1.1. Matériel biologique.....	42
II.1.2. Les milieux de culture.....	42
II.1.3. Réactifs chimiques et autres matériels	43
II.2. Méthodes	43
II.2.1. Caractérisation microscopique des souches étudiées	43
II.2.2. Préparation des suspensions bactériennes	43
II.2.2.1. Préparations des prés cultures	43
II.2.2.2. Préparations des cultures jeunes	43
II.2.2.3. Ajustements de la concentration bactérienne	43
II.2.3. Méthodes d'étude de l'activité antibactérienne des extraits végétaux	43
II.2.3.1. L'aromatogramme.....	44
II.2.3.2. Méthode de microdilution en milieu solide (détermination des CMI)	45
II.2.3.3. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	46

TABLE DE MATIERE

CHAPITRE V: TRAVAUX ANTERIEURS

I. Introduction.....	47
II. Détermination de la matière sèche et de l'humidité.....	47
III. Analyses qualitatives des extraits de <i>Crataegus azarolus</i>	49
III.1. Analyses qualitatives des extraits des fruits de <i>Crataegus azarolus</i>	49
III.2. Analyses qualitatives de la poudre des feuilles de <i>Crataegus azarolus</i>	49
IV. Analyses quantitatives des extraits de <i>Crataegus azarolus</i>	50
V. L'activité antibactérienne	51
CONCLUSION.....	55
REFERENCES.....	56



INTRODUCTION GENERALE



INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les maladies infectieuses sont causées par différents types de microorganismes pathogènes, tels que les bactéries, les virus, les parasites ou les champignons (OMS, 2015). Ces maladies infectieuses sont à l'origine de plus de 17 millions de décès par an dans le monde dont plus de la moitié provient du seul continent africain (OMS, 2006).

L'infection à *Helicobacter pylori* est reconnue comme la principale cause de cancer attribuable à une infection dans le monde (Varon et Mégraud, 2013). Il est maintenant démontré que *H.pylori* est à l'origine de lésions inflammatoires pouvant évoluer vers l'ulcère ou le cancer gastrique (Hart et Shears, 1997).

Certaines souches d'*E.coli* sont capables de causer des dommages au niveau de la muqueuse digestive. Cette infection se manifeste souvent par une diarrhée simple ou sanglante (Jay *et al.*, 2005).

L'intoxication alimentaire par les *staphylocoques* survient lors de l'ingestion d'entérotoxines produites par *S. aureus* qui est la principale cause de gastroentérites (Tortora *et al.*, 2003).

La découverte des antibiotiques a été un véritable soulagement pour l'humanité car ces remèdes ont permis de réduire considérablement l'incidence des maladies infectieuses surtout dans les pays développés. Mais, l'usage déraisonné et souvent incontrôlé de ces molécules a provoqué un phénomène de résistance chez beaucoup d'agents infectieux (Kouadio *et al.*, 2015). Ces résistances concourent à faire des pathologies liées aux microbes la première cause de mortalité au monde, tuant plus de 50 000 personnes par jour et participent à la nécessité de rechercher de nouvelles molécules (Ganfon *et al.*, 2019).

Donc, le recours aux ressources naturelles en général et aux plantes médicinales en particulier devient alors une des plus importantes et intéressantes pistes à explorer pour la recherche de nouveaux produits antibactériens plus efficaces (Cheurfa, 2013).

La phytothérapie est l'art d'utiliser les plantes pour se soigner. Ils'agit donc d'une thérapeutique allopathique (c'est-à-dire soigner par des substances qui ont l'effet inverse à la pathologie dont la souffrance de patient) destinée à prévenir et à traiter des troubles fonctionnels et des états pathologiques bénins par des plantes médicinales dénuées de toxicité dans les conditions normales d'utilisation. C'est une thérapeutique inspirée de la

INTRODUCTION

médecine traditionnelle basée sur un savoir empirique enrichi au fil des générations (**Limonier, 2018**).

L'organisation mondiale de la santé (**OMS**) en **2002** estime que, pour se soigner, 80 % de la population recourt toujours à la médecine traditionnelle pour laquelle la majeure partie des thérapies implique l'exploitation des principes actifs des plantes médicinales. Ces espèces végétales de grande utilité pour la santé des populations méritent d'être étudiées afin de justifier et valider scientifiquement leur usage pour une meilleure utilisation (**Ennadir et al., 2014**).

La flore d'Algérie, celle des plantes spontanées ou indigènes, est riche de plusieurs milliers d'espèces botaniques appartenant au domaine de la flore d'Afrique du nord. Elle se compose d'une partie de la flore méditerranéenne et est un sous-ensemble de la flore d'Afrique (**Kadri, 2017**). Ce potentiel floristique, constitué de plantes médicinales condimentaires, reste très peu exploré sur le plan phytochimique ainsi que sur le plan pharmacologique (**Cheurfa, 2017**).

Notre choix s'est porté sur l'espèce *Crataegus azarolus L*, car elle est considérée comme plante médicinale largement utilisée dans la médecine traditionnelle comme bon remède pour les douleurs des appareils digestif et urinaire (**Abdessamed, 2010**). D'ailleurs, elle possède plusieurs activités thérapeutiques : antispasmodique, astringente, diurétique, fébrifuge, hypotensive et sédative (**Fernandez, 2003**).

Donc notre travail consiste à répondre à la question suivante: « est ce que les extraits (Aqueux, méthanolique et hydro-méthanolique) des fruits du *Crataegus azarolus L* peuvent provoquer **l'activité antibactérienne ?** », en particulier sur *Helicobacter pylori* responsable de cancer gastrique.

Notre étude consiste à l'évaluation de l'activité Antibactérienne des extraits de la plante L'azerolier « *Crataegus azarolusL* », espèce de la famille des Rosacées. Elle comporte trois parties :

- la première partie est une synthèse bibliographique qui va mettre en exergue trois chapitres :
 - ✓ Le premier chapitre abordera les infections gastro-intestinales.
 - ✓ Le deuxième sera consacré aux généralités sur *Crataegus azarolus*.
 - ✓ Le troisième chapitre représentant la phytothérapie et plantes médicinales.

INTRODUCTION

- Une seconde partie expérimentale qui énonce le matériel et les méthodes développés afin de réaliser l'objectif de travail. **(mais vue à la pandémie de covid19 on n'a rien réalisé que la récolte et la préparation des extraits étudiés).**
- La troisième partie présente les travaux antérieurs, il s'agit des comparaisons entre des résultats relatifs à notre thème de mémoire en abordant les points adoptés dans notre méthodologie de travail. Les points que nous avons abordés:
 - ✓ Détermination de la matière sèche et de l'humidité,
 - ✓ Les analyses qualitatives et quantitatives,
 - ✓ L'activité antibactérienne des extraits de *Crataegus azarolus*.





CHAPITRE I
INFECTIONS GASTRO-INTESTINALES



Chapitre I : Infections gastro-intestinales

I. Flore intestinale

La flore intestinale normale est une collection complexe et en équilibre de microorganismes qui habitent normalement le tractus gastro-intestinal et remplissant un rôle dans la nutrition, la physiologie et le contrôle du système immunitaire de l'hôte. Après une colonisation complète, la microflore intestinale est considérée comme un organe acquis après la naissance. Elle est constituée d'une grande diversité d'espèces microbiennes assurant différentes fonctions pour l'hôte. La microflore du tractus gastro-intestinal a été estimée à près de 10^{13} - 10^{14} cellules microbiennes représentant 400 à 500 espèces et sous espèces (figure 01). Cette microflore représente environ 10 fois le nombre total de cellules du corps humain (Mahmoudi, 2014).

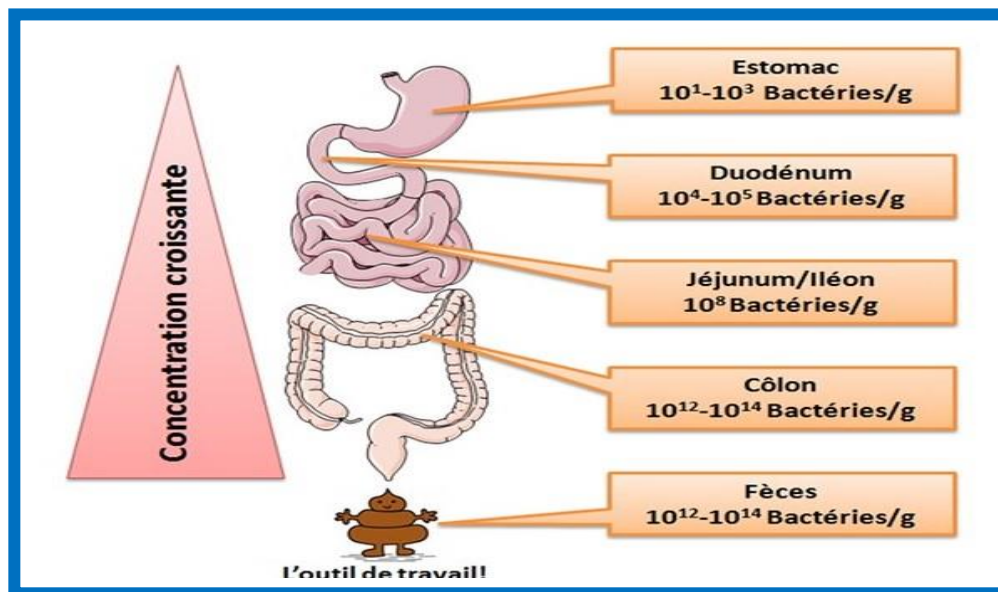


Figure 01 : Répartition des bactéries du microbiote intestinal dans le tractus gastro-intestinal (Marteau *et al.*, 2017).

I.1. Facteurs influençant la répartition de la microflore gastro-intestinale

La composition et les fonctions de la microflore du tractus gastro-intestinal sont influencées par divers facteurs liés au changement des conditions physiologiques de l'hôte,

CHAPITRE I INFECTIONS GASTRO-INTESTINALES

de la composition du régime alimentaire et des circonstances environnementales (contamination par les pathogènes, antibiothérapie, chimiothérapie, climat, stress, hygiène ...) (Mitsuoka, 1989; Hopkins *et al.*, 2002).

I.2. Effets métaboliques de la flore intestinale

Le microbiote exerce un rôle dans la digestion et dans le métabolisme de nombreux nutriments non- ou partiellement digérés par l'hôte. Ces derniers sont sources d'énergie pour les bactéries et permettent de générer des métabolites bénéfiques pour l'hôte (Bruneau *et al.*, 2017).

- **Le métabolisme des glucides :** Le microbiote intervient dans le métabolisme des glucides par un mécanisme de dégradation anaérobie des glucides fermentescibles dans le côlon. Des bactéries fibrolytiques hydrolysent les polymères glucidiques en fragments de petite taille. Les bactéries glycolytiques utilisent la voie de la glycolyse pour convertir les glucides en pyruvate, lui-même transformé en acides gras à chaînes courtes (AGCC) : acétate, propionate, butyrate. Ces derniers apportent de l'énergie à tout l'organisme. Le butyrate est le principal nutriment des colonocytes et inhiberait la prolifération des cellules cancéreuses (Landman *et al.*, 2016).
- **Le métabolisme des protéines :** Le microbiote assure également le métabolisme des protéines, principales sources d'azote, nécessaire aux bactéries coliques. Des phénomènes d'hydrolyses permettent la transformation en petits peptides puis en acides aminés. Différentes voies aboutissent à la formation de nombreux composés, dont des AGCC (Beaugerie *et al.*, 2014).
- **Le métabolisme des lipides :** Le microbiote joue un rôle dans le métabolisme des lipides, transformant les acides gras non absorbés par le côlon, ainsi que le cholestérol en coprostanol, normalement éliminé par les selles mais dont le taux fécal pourrait être impliqué dans certaines pathologies dont le cancer (Beaugerie *et al.*, 2014).
- **Les acides biliaires secondaires :** (acide désoxycholique et lithocholique) issus de la transformation par des espèces du genre *Clostridium* pourraient avoir un effet carcinogène sur la muqueuse colique (Landman *et al.*, 2016).

CHAPITRE I INFECTIONS GASTRO-INTESTINALES

I.3. Rôle de la flore normale dans la résistance à l'infection

La flore microbienne autochtone fait partie intégrante des défenses anti-infectieuses de l'organisme (**Tancrède, 1978**), en effet :

- Elle joue un rôle de barrière protectrice contre des pathogènes ingérés comme l'avait fait très tôt suspecter la fréquence des infections d'origine intestinales au cours des traitements le déséquilibrant par plusieurs mécanismes :
 - L'exclusion compétitive de micro-organismes entre eux(en consommant les mêmes substrats, occupant les mêmes sites d'adhésion, ou par la sécrétion de métabolismes comme des acides ou des bactériocides).
 - La stimulation des défenses innées ou immuno-modulation avec renforcement des sécrétions de défensines ou d'immunoglobulines par exemple.
 - La modulation de sécrétion du mucus (**Marteau, 2013**).
- En permettant l'établissement et la maturation du système immunitaire, la flore "normale" en constitue le stimulus majeur au niveau du tube digestif : accroissement de la taille des plaques de Peyer, prolifération des plasmocytes à IgA et prolongation de la durée de vie des anticorps fécaux d'origine sérique par diminution de la concentration ou de l'activité des enzymes protéolytiques (**Guediche, 1990**).

II. Infections gastro-intestinales

Les infections gastro-intestinales sont causées par des micro-organismes pathogènes qui réussissent à contourner les premières lignes de défense de l'appareil digestif (**Regnault, 2002**).

Des micro-organismes vivants, présent dans l'aliment peuvent provoquer de manifestations pathologiques par leur multiplication dans l'individu d'abord, accompagnée parfois d'invasion avec éventuellement la production de toxines protéiques ou lipopolysidiques (LPS) (**Joffin, 1999**).

CHAPITRE I INFECTIONS GASTRO-INTESTINALES

II.1. Facteurs favorisant les infections gastro-intestinales

Plusieurs conditions prédisposent au développement des infections du tractus digestif par des agents pathogènes ou des membres de la flore normale. D'une façon générale, les infections gastro-intestinales résultent soit de la multiplication dans le tube digestif de micro-organismes ingérés avec de l'eau ou des aliments contaminés, soit de l'action de toxines produites avant la consommation des aliments. Très souvent, ces infections sont dues à une mauvaise manipulation des aliments, une préparation inadéquate, une cuisson insuffisante ou des méthodes de conservation inappropriées (**Regnault, 2002**).

La prise récente d'antibiotiques est un facteur de risque d'infections à Entérobactéries résistantes (**Ruppé, 2013**). De façon générale, les entéropathogènes bactériens représentent près de 15% des cas de diarrhées dans les pays développés et plus de 50% dans les pays en voie de développement (**DuPont, 2005**).

II.2. Lésions

Selon **Thea et Keusch (1999)**, les signes et les symptômes des infections gastro-intestinales font intervenir plusieurs mécanismes :

- **Action pharmacologique** : certaines bactéries produisent des toxines qui altèrent les fonctions intestinales, sans provoquer de lésions définitives sur les cellules cibles.
- **Inflammation locale** : c'est une invasion microbienne qui se limite à la couche épithéliale, mais aussi peut s'étendre aux tissus profonds. Dans l'intestin, l'inflammation à une infection bactérienne entraîne un syndrome dysentérique.
- **Infection des tissus profonds** : certaines bactéries ont la capacité de se propager aux tissus adjacents puis de passer dans la circulation sanguine lymphatique.

L'exemple typique est celui de *Salmonella* qui pénètre dans la circulation lymphatique et peut éventuellement rejoindre ainsi la circulation sanguine.

CHAPITRE I INFECTIONS GASTRO-INTESTINALES

- **Perforation** : quand la muqueuse intestinale est perforée, la flore normale se répand dans les zones stériles et envahit les tissus profonds avec de graves conséquences.

III. Bactéries pathogènes responsables d'infection gastro-intestinales

III.1. Gastroentérites à *Escherichia coli*

- **Caractères bactériologiques**

Les *Escherichia coli* forment un groupe de bacilles mobiles ou immobiles, à Gram négatif, de la famille des *Enterobacteriaceae*. Ils peuvent se multiplier à des températures comprises entre 4 °C et 46 °C, avec un optimum de croissance à 37 °C et à un pH compris entre 4,6 et 9,5 (Brisabois *et al.*, 1997).

- **Pouvoir pathogène**

L'espèce *Escherichia coli* est subdivisée en de nombreuses souches pathogènes pour l'homme et les animaux sur base de la possession de propriétés ou de la production de facteurs spécifiques qui sont responsables de leur pouvoir pathogène (Mainil, 2003).

On distingue 5 pathovars responsables d'infections intestinales (gastroentérites) : *E.coli* entéropathogène ; *E.coli* entérotoxigène ; *E.coli* entéroinvasif ; *E.coli* entérohémorragique ; *E.coli* entéroadhérent (tableau 01) (Wladimir *et al.*, 2003).

Tableau 01 : Définitions des principaux groupes d'*E.coli* pathogènes chez l'homme et les animaux domestiques (Mainil, 2003).

Nom	Acronyme anglophone	Définition	Espèces cibles
Entéro-invasifs	EIEC	Envahissement des entérocytes	Homme, Ruminant
Entérotoxigène	ETEC	Production d'entérotoxines avec accumulation	Homme, Ruminant, Porc

CHAPITRE I INFECTIONS GASTRO-INTESTINALES

		de fluide dans l'intestin, de fimbriae F2 F6, F41	
Entérohémorragique	EHEC	Responsables d'une entérocolite souvent hémorragique, production de lésions A/E et de toxines Véro	Homme, Ruminant
Entéropathogène	EPEC	Production de la lésion d'attachement et d'effacement (A/E)	Homme, Animaux
Adérant diffuse	DAEC	Adhésion diffuse sur cellules en culture : adhésines AIDA-I ou Afa	Homme, Animaux

III.2. Intoxication alimentaire par *Staphylococcus aureus*

- **Caractères bactériologiques**

Le germe *Staphylococcus aureus* est comme tous les *staphylocoques*, une coque à Gram positif d'environ 1 micromètre de diamètre, apparaissant en amas à l'examen microscopique. Il est immobile, non sporulé et ne présente pas de capsule visible au microscope optique (Okou, 2012).

- **Pouvoir pathogène**

Selon les études réalisées, les intoxications alimentaires à *Staphylococcus aureus* représenteraient de 15 à 30 % des toxi-infections alimentaires collectives. L'intoxication est caractérisée par une incubation courte (1 à 6 heures après l'ingestion), des crampes abdominales douloureuses, des vomissements, des diarrhées et l'absence de fièvre. L'évolution est le plus souvent favorable en l'absence de traitement, mais la survenue d'un choctoxique staphylococcique est possible en cas d'intoxication massive (**Fanny et al., 2008**).

III.3. Infection à *Klebsiella pneumoniae*

- **Caractères bactériologiques**

Klebsiella pneumoniae est une bactérie à Gram négatif, membre de la famille des *Enterobacteriaceae*, découverte il y'a plus de 100 ans (**Sekhri, 2011**)

- **Pouvoir pathogène**

Classiquement, les Klebsielles ne sont pas considérées comme agents de toxiinfections alimentaires. Toutefois; lors d'une toxi-infection alimentaire, une souche de *Klebsiella pneumoniae* du type capsulaire 15 et capable de produire une exotoxine de type thermolabile (LT) a été isolée de la viande et des selles des malades (**Guiraud, 1998**).

III.4. Infection à *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori est classée dans le groupe des *Epsilonprotéobactries*, bactérie à Gram négatif, de forme spirillaire, mobile grâce à ses flagelles et microphiles (**Christine et al., 2013**). Il s'agit d'une bactérie acidotolérante, qui croit de manière optimale à pH neutre, mais qui ne peut survivre à des pH inférieurs à 4 en présence d'urée (**Salles, 2007**).

- **Pouvoir pathogène**

L'infection à *Helicobacter pylori* est reconnue comme la principale cause de cancer attribuable à une infection dans le monde (**Christine et al., 2013**).

Après contamination par *Helicobacter pylori*, une gastrite aigüe est observée, suivie par une infection chronique (gastrite chronique active) et chez certains patients d'une

CHAPITRE I INFECTIONS GASTRO-INTESTINALES

pathologie ulcéreuse. *H.pylori* est capable de survivre dans le liquide gastrique, de résister à l'acidité gastrique et de coloniser les cryptes de la muqueuse gastrique. La colonisation de la muqueuse gastrique par *H. pylori* induit une réponse inflammatoire importante qui contribue aux lésions observées au niveau de la muqueuse gastrique et à la dysrégulation de la sécrétion gastrique acide (Gottrand, 2000).

Le rôle capital joué dans la survenue des gastrites chroniques, des ulcères gastroduodénaux, et du cancer gastrique, l'infection chronique à *H.pylori* peut induire une perte d'appétit avec dénutrition (Salles, 2007).

III.5. Infections à *Proteus sp.*

Les *Proteus sp* sont des bactéries à Gram négatif très généralement mobiles, polymorphes et mesurent de 0,4 à 0,8 µm de diamètre sur 1 à 80 µm de longueur (Abbott, 2007).

- **pouvoir pathogène**

La présence naturelle des *Proteus* dans le tractus digestif des mammifères et l'environnement facilitent la contamination opportuniste qui amène à un phénomène infectieux (Eliette, 2018). De par leur présence naturelle dans le tube digestif, il est admis que la majorité des infections urinaires par *Proteus* résultent de l'ascension des bactéries depuis le tractus gastro intestinal (O'Hara et al., 2000). Cette hypothèse est supportée par le fait que chez de nombreux patients souffrant d'infections urinaires, la souche de *Proteus* mise en cause est également retrouvée dans des échantillons des selles du malade (Mathur et al., 2005).

III.6. Infections à *Citrobacter*

Citrobacter freundii, c'est un bacille à gram négatif, mobile, membre de la famille des *Enterobacteriaceae* (Wladimir et al., 2003).

- **Pouvoir pathogène**

Les souches de *Citrobacter freundii* isolées des selles synthétisent une entérotoxine thermostable apparentée à celle d'*E.coli*. Elles sont responsables de diarrhées chez l'homme

CHAPITRE I INFECTIONS GASTRO-INTESTINALES

et de toxi-infections alimentaires qui se traduisent par une gastroentérite sévère suivie parfois d'un syndrome hémolytique urémique (**Guiraud, 1998**).

III.7. *Pseudomonas aeruginosa*

- **Caractère bactériologique**

Pseudomonas aeruginosa est l'espèce type du genre *Pseudomonas* et la famille des *Pseudomonadaceae* (**Chaker., 2006**).

Pseudomonas aeruginosa est un bacille Gram négatif, fin, de 1,5 à 3µm de long et 0,5 à 0,8 µm de large. Il est très mobile, à ciliature polaire, aérobie strict, oxydase positive (**Gailard, Simonet, 1988**).

- **Pouvoir pathogène**

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie très peu exigeante en nutriments, c'est à dire les diverses sources de carbone, d'azote et de sels minéraux. Elle fait partie des bactéries capables de se développer dans les milieux pauvres, dits oligotrophes. Elle peut donc se développer dans d'innombrables environnements. Elle est présente sur les couvertures végétales, dans tous les milieux naturels, les eaux, les canalisations d'eau d'alimentation (**Henri, 2002**).

Pseudomonas aeruginosa peut provoquer la maladie dans n'importe quelle partie du tube digestif de l'oropharynx au rectum. Comme dans d'autres formes de la maladie de *P.a.*, ceux impliquant le tractus gastro-intestinal surviennent principalement chez les sujets immunodéprimés. L'organisme a été mis en cause dans les infections péri rectale, diarrhée infantile, la gastro-entérite typique, et d'entérocolite nécrosante. Le tube digestif est également un portail d'entrée important dans la septicémie et la bactériémie (**Kamal El Meskini, 2011**).



CHAPITRE II

GENERALITES SUR *Crataegus azarolus*



Chapitre II : Généralités sur *Crataegus azarolus*

I. La famille des Rosacées

Soit son nom à la rose sauvage (genre *Rosa*) et comporte environ 3370 espèces réparties en plus d'une centaine de genres. Cette famille cosmopolite est surtout représentée dans les régions tempérées de l'hémisphère nord. Les genres les plus importants sont *Potentilla* (500 espèces), *Cotoneaster* (260 espèces), *Rubus* et *Alchemilla* (250 espèces), *Prunus* (200 espèces), *Sorbus* (193 espèces), *Crataegus* (200 à 1200 espèces), *Rosa* (150 espèces). Les Rosacées sont une famille par enchaînement, ce qui indique la diversité de l'appareil végétatif et reproducteur (**Boudjada, 2018**).

II. Le genre *Crataegus* « L'aubépine »

L'espèce *Crataegus* (*Rosaceae*), plus communément appelée « Aliç », « Yemişen » ou « Mosphilla » à Chypre et «Zaaror » dans les pays du Moyen-Orient, est un genre diversifié d'arbustes à fleurs ou fruitiers ou de petits arbres qui poussent principalement dans les zones tempérées, y compris les pays d'Afrique du Nord, d'Europe et du bassin méditerranéen, d'Asie occidentale, d'Inde, de Chine et d'Amérique du Nord. Les espèces de *Crataegus* (Aubépine) sont utilisées traditionnellement depuis l'Antiquité et le premier signalement de patients traités par *C. oxyacantha* qui souffraient de diverses maladies cardiaques date de 1896 (**Kamel et al., 2019**).

Le nom du genre *Crataegus* est dérivé d'un mot grec qui signifie la dureté du bois, Et se trouve essentiellement entre l'altitude 30° et 50° N, *Crataegus* est un grand genre des arbustes de la famille des Rosacées avec environ 250 espèces actuellement reconnues indigènes des régions tempérées du nord (**Kashyap et al., 2012**).

III. Monographie de plante étudiée

III.1. Caractéristiques de *Crataegus azarolus*

III.1.1. Définitions

- *Crataegus azarolus* L.: Azérolier ou Epine d'Espagne, en arabe Zaaroura, nommé par les anglophones Azarole Hawthorne.
- *Crataegus* : nom générique des Aubépines de la famille des Rosacées, désignant en latin « Crataegon » ou « Crataegos », l'Azerolier (*Crataegus azarolus* L.) peut être du grec (kratos) par allusion à la dureté du bois (**Couplan,**

2000). Le nom botanique des aubépines est dérivé d'un terme chez les Théophraste qui désigne l'azerolier (**Brosse, 2000**). D'ailleurs son nom du genre « Krataigos », veut dire, fort résistant (**Aymonin, 1993**).

- **Azarolus** : de l'espagnol « acerola » qui désigne le fruit, lui-même emprunté à l'arabe. «Zaaror » : ce sont donc probablement les arabes qui ont introduit l'Azerolier en Afrique du nord, puis en Espagne (épine d'Espagne), d'où il passa ensuite en France (**Mazzocchi, 1999; Brosse, 2000**).
- **L**: l'abréviation du nom du botaniste qui a été le premier à décrire la plante « KarlVanLINNE », (1707-1778) du Suède, qui a décrit plus de 8000 espèces et affecte à chacune d'elles un nom binominal. La plupart de ces espèces, appelées espèces linnéennes, restent valables de nos jours (**Messaili, 1995**).

III.1.2. Historique et origine

L'Azerolier fait partie du genre Aubépine (*Crataegus*) est un genre d'arbres ou arbustes généralement épineux appartenant à la famille des *Rosaceae* et rassemblant toutes les espèces de ce genre. Certains botanistes estiment le nombre des espèces à 1000, d'autres n'en comptent que quelques centaines, quant au nombre de races et de formes cultivées, il semble illimité. Les espèces de *Crataegus* les plus fréquemment utilisées et étudiées sont : *Crataegus monogyna*, *Crataegus laevigata* (oxyacantha), qui font partie de la pharmacopée française et moins fréquemment *Crataegus azarolus*. (**Dewit, 1963; Beloued, 1998; Ljubuncic et al, 2005; More et White, 2005; Svedstrom et al, 2006**).

III.1.3. Caractéristiques morphologiques

L'azerolier est un Arbuste ou arbrisseau (4-6m), plus rarement petit arbre (jusqu'à 12m), très épineux. Son écorce lisse est de couleur gris clair.

- **Le tronc** : qui peut atteindre les 2m de circonférence (**Bonnier, 1990**).
- **Les branches** : sont étalées et portent des rameaux bruns, pubescents - tomenteux pendant les deux premières années de la vie de l'arbre, devenant glabres par la suite. Sur les rameaux, des épines robustes atteignant et dépassant 1cm de long peuvent y être implantées. On y trouve également des bourgeons ovoïdes, obtus à écailles brunes plus ou moins luisantes, brièvement pubérulentes sur les marges (**Maire, 1980**).
- **Les feuilles** : sont caduques, alternes, portées sur un pétiole plus ou moins pubescent. Leur limbe d'un vert grisâtre est divisé en 3 à 5 lobes qui sont entiers

ou dentés au sommet. La nervation des feuilles est pennée et les stipules sont ovales lancéolées, dentées et largement persistantes (Maire, 1980; Brosse, 2000; Boek, 2008).

- **Les fleurs** : sont blanches, en corymbes et portées sur un pédoncule vilieux. L'inflorescence compte 5-15 fleurs, chacune est constituée de 5 pétales libres insérées sur l'ovaire et de 5 sépales. La fleur est hermaphrodite. Elle comporte 15-20 étamines et 2-3 styles avec des carpelles soudés. Ces fleurs sont pourvues de bractées très caduques. La floraison se fait en avril -mai (Maire, 1980; Brosse, 2000; Spichinger et al, 2000; Boek, 2008).
- **Les fruits** : couronnés de calice sont des drupes ou cenelles ovoïdes appelées Azéroles. Ils peuvent atteindre 1cm à 2cm de diamètre. A maturité ses fruits se colorent en jaune, orangé ou en rouge. Ils possèdent 2 à 3 noyaux. Ils sont cueillis en automne (Maire, 1980; Brosse, 2000; Spichinger et al, 2000; Djerroumi et Nacef, 2004; Boek, 2008).



Figure 02: Fleurs, feuilles et branches de *Crataegus azarolus* (Drouet, 2004).



(a)

(b)

Figure 03 : Fruits de *crataegus azarolus*(a) (Abdeddaim,2016), et Différentes parties du fruit du *Crataegus azarolus* (b) (Ferhat,2015).

III.2. Classification Botanique

D'après (Messaili, 1995), la classification est comme suivie :

- **Embranchement :** *Spermaphytes*
- **Sous-embranchement :** *Angiospermes*
- **Classe :** *Dicotylédones*
- **Sous-classe :** *Dialypétales*
- **Série :** *Calciflores*
- **Ordre :** *Rosales*
- **Famille :** *Rosacées*
- **Tribu :** Rosacées spontanées en Algérie
- **Genre :** *Crataegus*
- **Espèce :** *Crataegus azarolus*.

III.3. Répartition géographique

- **Dans le monde**

Le genre "*Crataegus*" comprend plus de 600 espèces des régions tempérées froides de l'hémisphère Nord : Europe, Asie et surtout l'Amérique du Nord. Cette espèce s'installe au bord des ruisseaux, des fosses et des forêts humides et en bordure des chemins de toutes les régions tempérées d'Europe, de l'Asie occidentale et de l'Afrique du Nord. L'azerolier est cultivé en région méditerranéenne (**Brosse, 2000 ; Grieve, 2003**).

- **En Algérie**

Selon (**Boussard et Cuissance ; 1984**), cette espèce est connue depuis 1700. elle est commune dans les haies, en bordure des chemins et en lisières des bois de toutes les régions tempérées (notamment en France) de l'Asie occidentale et de l'Afrique du Nord. Elle est naturalisée en Amérique du Nord et cultivé en région méditerranéenne (**Grieve, 2003**).

En Algérie, l'azerolier est localisé surtout dans le tell Algéro-constantinois, connue « Zaaroura », d'une façon spontanée et parfois planté en haie dans les jardins. (**Querzel et Santa ; 1962**).

III.4. Habitat et Culture

L'Azerolier est multiplié soit par semis stratifiés des graines ou par greffage sur une aubépine. Il ne se lève pas sur les montagnes, on le trouve dans les forêts, les broussailles et plaines et dans les régions bien arrosées et semi arides. Il s'accommode à tout type de sol, même très pauvre, sec et rocailleux à condition qu'il ne soit ni excessivement calcaire ni trop argileux. Il apprécie le soleil et ne redoute aucunement le froid (plante rustique) (**René-Maire, 1980; Bonnier, 1990; Brosse, 2000**).

L'azerolier préfère les climats chauds, les positions ensoleillées, les sols neutres, bien drainés sans excès d'argile (**Bellini et Giordani ; 1998**). Selon (**Milouane, 2000**) cet arbre peut se développer sur des sols alcalins voir calcaires et tolère la pollution atmosphérique. L'azerolier est originaire de l'Europe tempérée, de l'Asie Mineure et de l'Asie du Sud Est et d'Amérique du Nord. Il n'aurait fait son apparition à Rome que pendant le règne d'Auguste.

En France, il est rencontré près du littoral méditerranéen et en Corse. Il est souvent cultivé pour ses fruits et son aspect décoratif (**Gloaguen, 1982 ; Poletti, 1987 ; Brosse, 2000**).

III.5. Compositions chimiques

Selon (**Abdessemed et al., 2010**) :

- Le fruit “azéroles” saisonnée ressemblât à des pommes miniatures, très appréciés surtout fraies par la population algérienne, notamment les écoliers. (**Ozcan et al., 2005**).
- La pulpe des *Crataegus* spp est riche en sels minéraux Ca, K, P, Mg sont apport énergétique et de 34,02 Kcal/g. (**Espiade, 2002 et Baba Aissa ; 1999**)
- La pulpe de l’azérolier est riche en vitamine C (quarante fois plus que l’orange), β -carotène (pro A) et en tocophérol (E), ce qui fait de l’azérolier une bonne source d’antioxydants. (**Chang et al., 2006**)
- Les azéroles sont caractérisées par leur richesse en acides organiques (3-6%), tels que l’acide caféique, malique, tartrique, citrique et chlorogénique. (**Chang et Kjaer ; 2006**).
- Les majeurs métabolites secondaires de cette espèce sont des flavonoïdes (1-2%) et des proanthocyanidols (2-3%) (**Bruneton, 1999 et Lijuan, 2005 et Valls Richard, 2007**).
- Les flavonoïdes et les oligomères pro-cyanidiniques sont surtout dans les feuilles et les fleurs, mais ils sont plus faibles dans les fruits : environ (0.1-0.5%) flavonoïdes. Les constituants non phénoliques sont les acides triterpéniques-pentacycliques de (0.5-1.4%), comme l’acide ursolique, l’acide oléanolique et son dérivé le 2- α hydroxy connu sous le nom de l’acide crataegolique sont parmi les composés caractéristiques des *Crataegus* (**Chang, 2002 et Fong Harry, 2002**).

III.6.Utilisation de *Crataegus azarolus*

III.6.1. Utilisations alimentaires

Les jeunes feuilles et les fleurs d'azerolier peuvent être consommées crues ou cuit, alors que ses fruits se consomment frais ou séchés, en confiture, en marmelade ou en sirop (Aymonin, 1993 ; Koyuncu *et al.*, 2007).

III.6.2. Utilisations médicinales

Depuis longtemps, apprécié par leur astringence, l'aubépine permet de réduire les diarrhées et les maux du cycle menstruel et d'assouplir la peau. De plus ses remarquables propriétés tonocardiaques avaient été reconnues (Ody, 1995). Ils ont aussi des propriétés diurétiques (Ozcan *et al.*, 2005).

- Les fleurs ont un effet sur la régulation des rythmes cardiaques et de la circulation sanguine, tonifient le muscle cardiaque, calment le système nerveux et le système sympathique, combattent l'hypertension artérielle, agissent sur l'insomnie, les problèmes de respiration, et de l'angoisse (Polletti, 1987 ; Foster et Duke ; 1990 ; Belouad, 2005).
- Les feuilles sont employées pour leur propriété tonocardiaque, anti-diarrhéique. Elles soignent le cancer, le diabète et la faiblesse sexuelle (Ljubuneie *et al.*, 2005).
- Les fruits sont utilisés pour le traitement des maladies cardiovasculaires et l'athérosclérose du fait qu'ils possèdent un potentiel cardiotonique (Viereiling *et al.*, 2003 ; Ozcan *et al.*, 2005).

Les travaux de (Zhang *et al.*, 2002) ont permis de démontrer que les extraits aqueux et éthanoïques de *Crataegus azarolus* L. diminuent le taux de cholestérol dans le sang. Des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes très liées à la concentration et flavonoïdes et en composés phénoliques ont été observées par (Bahri-Sahloul, *et al.*, 2014).

III.6.3. Autres utilisations

- En Grèce et Rome ancienne, on trouve l'aubépine aux mariages et dans les suites nuptiales pour assurer le bonheur et la prospérité au nouveau couple (Brosse, 2000).
- Les fleurs sont considérées comme source nourricière pour les abeilles, en période de floraison. L'azerolier est un arbre d'alignement ou de clôture, utilisé comme des haies défensives autour des prairies, Ses branches armées d'épine interdisant

l'accès au bétail. Il est considéré aussi comme arbuste d'ornement, un plant de reboisement et de lutte contre l'érosion (**Corbin et al., 1992**).

- L'azérolier est utilisé comme porte greffe pour le néflier. Son bois sert au chauffage et à la fabrication de meuble (**Bretonneau et Fauré, 1992**).

III.7. Activités biologiques d'azérolier

III.7.1. Activité antioxydante

Dans certaines études in vitro, différents extraits d'aubépine des fruits, des feuilles ou des fleurs possèdent une activité antioxydante (**Bahorunet et al., 1994; bahorun et al., 1996**). Ces activités sont susceptibles d'être liées aux oligomères procyanidines (OPC) et les flavonoïdes, tels que l'épicatéchine, la rutine, l'hyperoside et l'isoquercitrine qui ont montré un fort effet inhibiteur contre l'oxydation des LDL humaines (**Zhang et al., 2001**). Diverses études in vivo montrent qu'un extrait alcoolique produit un effet protecteur sur le stress oxydatif chez les rats athérosclérotiques. L'extrait alcoolique empêche aussi l'augmentation de la peroxydation lipidique et la diminution de la teneur en glutathion et α -tocophérol dans le foie, l'aorte et les tissus cardiaques. Il normalise également les niveaux des enzymes antioxydants dans le foie, l'aorte et le tissu cardiaque (**Shanthi et al., 1996**) et augmente l'activité superoxydedismutase (SOD) chez les rats hyperlipidémiques ou des souris (**Dai et al., 1987; Lin et Chen ; 2000**).

L'activité antioxydante de l'extrait méthanoïque de *C. azarolus*, il a été révélé que la partie végétale présentait une capacité de don de protons et pouvait servir d'inhibiteur ou piègeur de radicaux libres (**Lakache et al., 2014**).

III.7.2. Activité anti arythmique

L'extrait de fruits ou des feuilles avec les fleurs d'aubépine ont été également trouvés pour protéger contre l'arythmie du cœur induites par l'aconitine, le chlorure de calcium et le chloroforme-adréraline dans diverses expériences invitro et in vivochez les rat (**Occhiuto et al., 1986; Antsyshkina et al., 1990**).

III.7.3. Activité antimicrobienne

Les feuilles d'azérole et les extraits d'écorces de fruits présentaient à la fois des activités bactériostatiques et bactéricides. Les diamètres des zones d'inhibition ont augmenté avec la concentration des composés polyphénoliques indiquant que ces

molécules étaient responsables des effets antimicrobiens. L'activité antimicrobienne des extraits examinés était forte contre les bacilles à Gram positif, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus faecalis* (Belkhir *et al.*, 2013).

III.7.4. Activité anti-inflammatoire

Les procyanidines de l'écorce d'aubépine, en plus des propriétés antioxydantes, ont été caractérisées par la capacité d'inhiber les enzymes impliquées dans le processus inflammatoire. L'activité anti-inflammatoire des procyanidines a été confirmée dans des études sur des modèles cellulaires d'inflammation chez la souris et l'homme. Il a été démontré que les extraits riches en procyanidine, en particulier la procyanidine B2, inhibent l'expression de la protéine COX-2 (Dorota *et al.*, 2016).

III.7.5. Activité hypotensive

Les flavonoïdes, les oligomères procyanidine (OPC) et les extraits des acides triterpéniques ont été administrés par voie intraveineuse à diverses espèces animales. L'action hypotensive a été principalement attribuée à la vasodilatation périphérique (Twaij *et al.*, 1987). Les procyanidines ont été identifiées comme composantes majeures de cet effet (Kim, 2000).

III.7.6. Autres activités biologiques

- Les fruits et les fleurs de nombreuses variétés d'aubépine sont bien connus comme toniques cardiaques, ont des effets hypotenseurs et sont considérés comme étant généralement sûr et bien toléré (Lakache *et al.*, 2014).
- Des recherches antérieures indiquent que les extraits de *Crataegus* chinois ont des effets bénéfiques, par exemple, anti-inflammatoires (Kao *et al.*, 2005), hypolipidémiques (Zhang *et al.*, 2002), et antioxydants (Chu *et al.*, 2003). D'autres propriétés ont également été élucidées telles que anticancéreuses (Kao *et al.*, 2007).
- En ce qui concerne les principaux composés phytochimiques de la fraction volatile de *C. azarolus*, principalement l'acide palmitique et le farnésène, les parties végétales possèdent de nombreuses propriétés médicinales. Le principal constituant, l'hexadécanoïc acide, a été caractérisé précédemment par son pouvoir anti-inflammatoire et sa puissante propriété antivirale contre le VIH-1 et le VIH-2 (Ozcelik *et al.*, 2005).

- Les sesquiterpénoïdes et leurs dérivés tels que -farnesene et -curcumene sont crédités de diverses actions biologiques, y compris des activités antibactériennes, antifongiques, antiasthmatiques et anti-inflammatoires (**Founeret *al*, 1997**).



**CHAPITRE III
PHYTOTHERAPIE ET
PLANTES MEDICINALES**



CHAPITRE III: Phytothérapie et plantes médicinales

I. La phytothérapie

La phytothérapie est l'art d'utiliser les plantes pour se soigner. Du grec « phyton » qui signifie plante et « therapein » qui signifie soigner, il s'agit donc d'une thérapeutique allopathique (c'est-à-dire soigner par des substances qui ont l'effet inverse à la pathologie dont souffre le patient) destinée à prévenir et traiter des troubles fonctionnels et des états pathologiques bénins par des plantes médicinales dénuées de toxicité dans les conditions normales d'utilisation (**Pasdeloup, 2019**).

II. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales représentent une véritable fortune pour l'humanité utilisée dans différents domaines tels que la pharmacie, la cosmétologie et l'industrie alimentaire (**Lubbe et Verpoorte ; 2011**). Comme elles contiennent un large spectre de molécules bioactives importantes, par exemple les composés phénoliques, des parties spécifiques de ces plantes (feuilles, fleurs, racines, etc.) sont utilisées pour des fins thérapeutiques (**De la Calle et al., 2013**). L'utilisation croissante des extraits de plantes suggère une étude systématique des différentes parties de la plante pour trouver des composés actifs (**Nostro et al., 2000**). Ces composés sont connus comme une épée à double tranchant, car ils sont essentiels pour les deux : les plantes elles-mêmes et la santé humaine (**Oeurfelli et al., 2016**).

Les plantes médicinales sont essentiellement utilisées sous deux formes :

- complexe contenant un large spectre de constituants (infusion, des huiles essentielles et des extraits des teintures)
- pure, chimiquement définie comme principe actif.

Les composés purs sont généralement utilisés quand les principes actifs des plantes produisent une forte et spécifique activité ou possèdent un faible indice thérapeutique (**Touafek, 2010**).

III. Eléments actifs des plantes médicinales

➤ Le principe actif de la plante

Le principe actif (P.A) est une molécule contenue dans une drogue végétale ou dans une préparation à base d'une drogue végétale et qui est utilisé dans la fabrication des médicaments. Les principes actifs d'une plante médicinale sont des composants naturels présents dans celle-ci. Ils confèrent à la plante son activité thérapeutique. Bien que souvent en quantité extrêmement faible dans la plante (ne représentant à peine que quelques % du poids total de celle-ci), ces composants en sont l'élément essentiel. On retrouve les principes actifs dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale. Et dans une même plante, tous les PA n'ont pas les mêmes propriétés. L'orange est l'exemple type, pendant que ses fleurs sont sédatives; son écorce est par contre apéritive. Chez certaines plantes, une partie de la plante seulement peut être utilisée. Exemple: seule la racine du ginseng contient des substances tonifiantes (Saouli, 2019).

Le P.A présente un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal. Il est issu des plantes fraîches ou séchées. Parmi les parties utilisées: les feuilles, fleurs, racines, écorces, sommités fleuries ou encore les graines (Benganou, 2012).

III.1. Métabolite primaire

Un métabolite primaire est un type de métabolite qui est directement impliqué dans la croissance, le développement et la reproduction normale d'un organisme ou d'une cellule. Ce composé a généralement une fonction physiologique dans cet organisme, c'est-à-dire une fonction intrinsèque. Les métabolites primaires rassemblent les acides aminés, les lipides, les carbohydrates et les acides nucléiques (Benslama, 2016).

III.2. Métabolite secondaire

On désigne par « métabolite secondaire » toute substance présente chez un organisme et qui ne participe pas directement aux processus de base de la cellule vivante. Ce concept est historiquement attribué à Kossel (Hvattum *et al.*, 2003), ces composés secondaires regroupent plusieurs dizaines de milliers de molécules différentes, généralement rassemblés en superfamilles chimiques tel que les polyphénols, les terpènes et stérols, les alcaloïdes, les polycétides, etc. Outre la très grande diversité chimique qu'ils représentent, ces métabolites secondaires se caractérisent généralement par de faibles

concentrations dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total, si on exclue la lignine de cette catégorie) ainsi que par leur stockage souvent réalisé dans des cellules ou organes dédiés. Les métabolites secondaires exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement. Ils assurent des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores, etc..) et abiotiques (UV, température, etc.) (**Mansour, 2017**).

III.2.1. Rôle des métabolismes secondaires

Les réactions du métabolisme peuvent être orientées vers la synthèse de nouvelles substances (c'est l'anabolisme) ou la dégradation de molécules (catabolisme) pour en tirer l'énergie nécessaire à l'anabolisme. En fait, tous ces métabolismes sont étroitement imbriqués (**Marouf et Reynaud ; 2007**). Les métabolismes secondaires sont importants pour la survie et la propagation des plantes qui les produisent. Beaucoup fonctionnent comme signaux chimiques permettant à la plante de répondre aux contraintes de l'environnement (**Raven *et al.*, 2007**).

III.2.1.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe diversifié de composés à faibles poids moléculaires, contenant de l'azote dérivés principalement d'acides aminés et trouvés dans environ 20% des espèces végétales (**Roberts, 2013**).

Les alcaloïdes sont utilisés comme antalgiques majeurs (morphine), antipaludiques (quinine), pour combattre l'excès d'acide urique (colchicine), comme substances paralysantes (curare, caféine), comme poisons (strychnine, nicotine), comme stupéfiants (cocaïne, mescaline), comme cholinergiques (pilocarpine) ou comme anticancéreux (vinblastine, vincristine). D'autres alcaloïdes, comme l'atropine, présentent une activité sédatrice, effets sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) (**Kone, 2018**).

III.2.1.2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques, ou polyphénols, constituent une famille de molécules organiques largement présentes dans le règne végétal. On les retrouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits, et ils font donc partie intégrante de notre alimentation. Ce sont des métabolites secondaires produits par les plantes pour interagir avec les autres

végétaux et les animaux. Le terme phénolique est utilisé pour définir des substances qui possèdent au moins un groupement hydroxyle (OH) substitué sur un cycle aromatique. Les polyphénols naturels peuvent donc être des molécules simples comme les acides phénoliques, mais aussi des composés hautement polymérisés comme les tanins. Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à ce jour dans le règne végétal. On compte, à l'heure actuelle, pas loin de 8000 composés. Ils ont tous en commun la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (**Bravo, 1998**).

III.2.1.2.1. Rôle des polyphénols

Comme la majorité des composés secondaires, les polyphénols sont produits par les plantes afin d'accomplir des fonctions précises, les plus notoires étant :

- Défense contre les pathogènes ; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes.
- Dissuasion alimentaire. On parle du phénomène d'allopathie : certaines plantes émettent des substances pour inhiber la croissance des autres plantes.
- Attraction des pollinisateurs : les couleurs, mais aussi les odeurs attirent les insectes. **Exemple** : certaines orchidées synthétisent des phéromones sexuelles qui sont des substances volatiles émises par les insectes femelles pour attirer les mâles.
- Protections contre les rayonnements UV (**Reguieg, 2019**).
- Molécules qui donnent des arômes et parfums aux plantes. Ce qui sert principalement à repousser les herbivores. Exemple : les polyphénols des pélagoniums (**Druyne, 1999**).
- Les composés phénoliques occupent de nombreuses fonctions au sein de la plante. On peut notamment citer les couleurs des fruits et fleurs provenant des anthocyanes (anthocyanines glycosylées). Egalement, le rôle de certaines flavones et iso flavonoïdes dans la formation des nodules racinaires chez certaines Légumineuses (allélopathie) est bien connu (**Heymes, 2016**).
- Les effets bénéfiques des polyphénols sont attribués à leurs propriétés antioxydantes et à leur capacité de capter les radicaux libres. Ces substances présentent des propriétés anticancéreuses, antimutagènes et antibactériennes non négligeables (**Meyer, 1997**).

III.2.1.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments végétaux de la famille des polyphénols qui sont responsables de la coloration des fleurs et des fruits. Ils donnent souvent une coloration jaune. Du point de vue chimique, ils possèdent deux cycles benzéniques. Les flavonoïdes ont été découverts par Albert Szent-Györgyi (prix Nobel de physiologie ou médecine 1937). Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6 000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. **(Ghedira, 2005)**

Les flavonoïdes présentent une structure commune de phenylbenzopyrane C6-C3-C6, constituée de deux noyaux aromatiques (cycles A et B) reliées par une chaîne de trois atomes de carbone, habituellement un hétérocycle oxygéné (cycle C). Les flavonoïdes sont divisés en diverses sous-classes, en fonction de la position du cycle B par rapport au cycle C, ainsi qu'en fonction des groupes fonctionnels (cétones, hydroxyles) et de la présence d'une double liaison ou non dans le cycle C. Ces sous-classes sont composées de : flavanols (essentiellement, flavan-3-ols), flavanones, flavones, flavonols, isoflavones, anthocyanidines, chalcones et dihydrochalcones **(Kazangana, 2018)**.

III.2.1.4. Les tannins

Les tannins condensés et hydrolysables sont des substances naturelles phénoliques qui peuvent précipiter les protéines. Ils possèdent diverses activités biologiques. Ce sont des agents antimicrobiens, anti-inflammatoires, cancérogéniques. Ils sont très répandus dans le règne végétal. Ils sont généralement présents dans les plantes utilisées dans l'alimentation notamment certains céréales, légumineuses et fruits **(Bédé et al., 2019)**.

Les tannins condensés ou proanthocyanidines sont des antioxydants ayant un fort pouvoir protecteur capable de prévenir certaines maladies cardiovasculaires **(Peronny et al., 2005)**. Ils ont également la capacité de piéger les radicaux libres, qui sont générés en permanence par l'organisme. Au niveau de l'estomac, ils forment avec le fer des complexes stables et insolubles. Ces complexes empêchent les tannins d'atteindre l'intestin grêle pour leur métabolisme et leur absorption **(Fernandez et al., 1992)**.

III.2.1.5. Les saponines

Le nom saponine dérive du mot latin «sapo», qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse. Comme définition, on dirait qu'une saponine est un glycoside de stéroïde ou de triterpène. Fondamentalement, on distingue les saponines stéroïques et les saponines triterpéniques dérivant tous deux biosynthétiquement de l'oxyde de squalène (**Kahlouch, 2014**).

III.2.1.6. Mucilage

Est une substance végétale qui se compose de sucre et de polysaccharide, et considère comme une gamme visqueuse se gonflant dans l'eau, a une action protectrice contre les attaques acides et les irritations (<http://www.cosmetic-bio.com/b/index>).

III.2.1.7. Polysaccharides

Ce sont des unités complexes de molécules de sucre liées ensemble que l'on trouve dans toutes les plantes. Du point de vue de la phytothérapie, les polysaccharides les plus importants sont les mucilages « visqueux » et les gommages, présents dans les racines, les feuilles et les graines (**Iserin, 2001**). Le mucilage et la gomme absorbent de grandes quantités d'eau, produisant ainsi une masse gélatineuse qui peut être utilisée pour calmer et protéger les tissus enflammés (par exemple quand la peau est sèche et irritée ou la paroi des intestins est enflammée et douloureuse). Certains polysaccharides, comme les glucomannanes et les pectines, sont utilisés en cosmétologie (**Eberhard et al., 2005**).

IV. Activités biologiques des extraits de plantes médicinales

IV.1. Activité anti microbienne

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les microorganismes ou empêcher leur croissance, y compris, agents antibactériens. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections (**Cce, 2001**). Le mode d'action de ces agents sur les bactéries, peuvent être : Bactériostatique, lorsque la substance inhibe la multiplication des bactéries ou bactéricides : lorsque la substance détruit totalement les bactéries (**Zekraoui, 2018**).

Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que fenouil (*Foeniculum vulgare*), menthe (*Mentha piperita*) et thym (*Thymus vulgaris*), ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus (**Jürgen *et al.*, 2009**).

D'autres groupes de chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits des plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industrie pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle (**Huang *et al.*, 2008**).

IV.2. Activité antioxydant

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS (reactive oxygen species). Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (**Favier, 2003**).

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (**Favier, 2006**).

De nos jours, il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres, ceci est dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme et à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (**Guinebert *et al.*, 2005**).

IV.3. L'activité anti-inflammatoire

L'inflammation c'est un processus normal et complexe qui se produit en réponse à des agressions physiques (choc thermique), chimiques ou infectieuses. (**Rahmani *et al.*, 2016**). Le plus souvent cette réaction est bénéfique pour l'organisme agressé. Elle met en jeu de nombreux systèmes biologiques qui visent à détruire ou à éliminer la substance

étrangère. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène et de sa persistance. Elle est accompagnée de douleur, rougeur, chaleur, une augmentation de la perméabilité vasculaire, la dénaturation des protéines et la destruction des membranes cellulaires (**Ashley et al., 2012**). Elle est déclenchée par la libération de médiateurs chimiques des tissus lésés et migration des cellules.

- Les recherches approfondies sur les différentes espèces de plantes et leurs principes actifs thérapeutiques utilisés dans le traitement de la goutte, de l'arthrite et de la fièvre ont aboutis à la mise en évidence de nouveaux composés ayant des activités anti-inflammatoires significatives (**Joseph et al., 2015**).
- Les effets anti-inflammatoires des polyphénols, qui peuvent être exercées au niveau moléculaire, sont dépendants de la structure spécifique des composés polyphénoliques. Les fonctions de macrophage, y compris la production de cytokines, peut également être affectée par certains flavonoïdes par la modulation de la cyclo-oxygénase inductible (COX-2) et l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS). Plusieurs études expérimentales ont rapporté les effets immunomodulateur des composés polyphénoliques sur l'immunité humorale et cellulaire (**Neyestani, 2008 ; Madhuri et al., 2008**).



CHAPITRE IV
MATERIEL ET METHODES



Chapitre IV : Matériel et méthodes

Ce travail comporte deux parties, la première partie concerne la préparation des extraits de fruits *Crataegus azarolus* et l'évaluation qualitative et quantitative de ces extraits (suite à la pandémie on a réalisé que la préparation). La deuxième partie concerne l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits étudiés, cette partie n'a pas été faite à cause de la crise sanitaire (Covid-19) ; donc nous limitons notre discussion par une présentation des études précédentes qui focalisent nos deux parties.

I. Préparation et analyses des extraits de *Crataegus azarolus*

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel végétal

L'espèce *Crataegus azarolus* L. a été récoltée, durant le mois de Février 2020 dans la région de Milliana, wilaya d'Ain defla.

I.1.2. Matériel non biologique

- Etuve,
- Autoclave,
- Plaque chauffante,
- Balance de précision,
- Broyeur électrique,
- Réfrigérateur,
- Spectrophotomètre,
- Autoclave,
- Vortex,
- Rotavapor.

I.1.3. Produits et réactifs chimiques

- Ethanol à 95%,
- Acétate de plomb à 10 %,
- Acide chlorydrique,
- Tournures de Magnésium,

- FeSo₄ (1%),
- Réactif de Mayer,
- Folin-Ciocalteu,
- Carbonate de Sodium (7,5 %),
- HCl,
- DMSO (di-méthyl-sulfoxyde).

I.2. Méthodes

I.2.1. Séchage de la plante

Les feuilles de *Crataegus azarolus* fraîchement récoltées (Figure 04), ont été séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré (Figure 05). Après le séchage à l'ombre, les feuilles de cette plante ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique, suivi d'un tamisage. La poudre finement broyée a été conservée dans des sacs en papier à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à son utilisation.



Figure 04: Les feuilles fraîches de *Crataegus azarolus*.

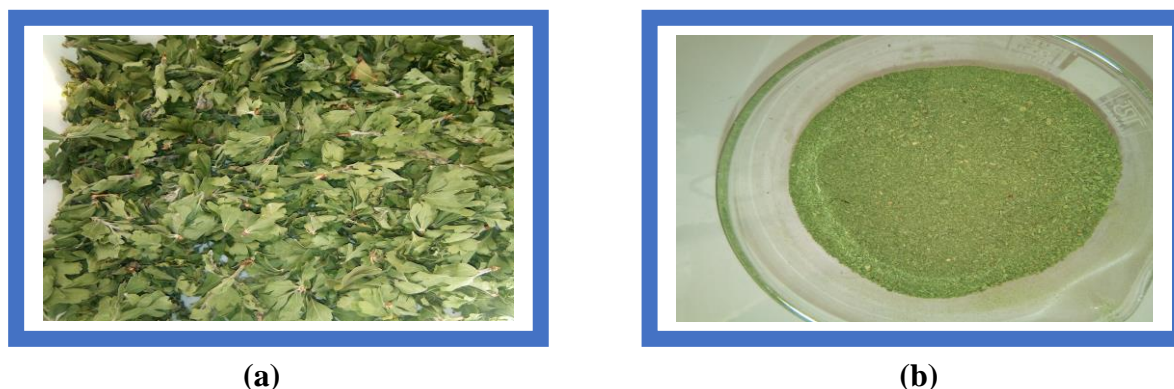


Figure 05 : Les feuilles sèches (a), et le broyat de *Crataegus azarolus* (b)

I.2.2. Détermination de la matière sèche et de l'humidité

Le contenu en humidité de la plante a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve. Une quantité de feuilles fraîches d'une masse de $5\text{g} \pm 0.01$ a été exposée à une température de $105^{\circ}\text{C} \pm 5$ dans une étuve jusqu'à l'obtention d'un poids constant (Twidwell *et al.*, 2002; Bourkhiss *et al.*, 2009).

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

$$H (\%) = [(M_0 - M_1) / M_0] \times 100$$

M₀ : Masse de l'échantillon « avant séchage en gramme ».

M₁ : Masse de l'échantillon « après séchage en gramme ».

H(%): Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

La teneur en matière sèche est calculée selon la relation suivante :

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

I.2.3. Préparation des extraits végétaux

Les extraits de plantes ont été obtenus à partir de la poudre des feuilles sèches de notre plante *Crataegus azarolus*.

I.2.3.1. Extraction à froid

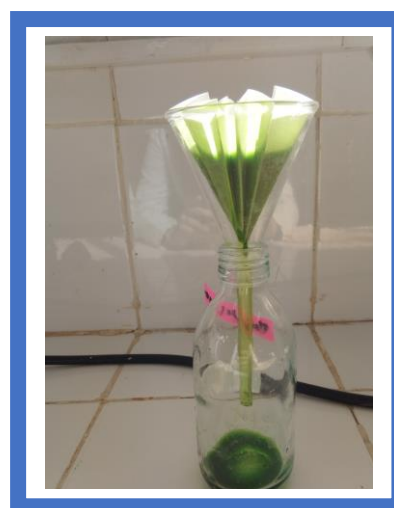
I.2.3.1.1. Macération

I.2.3.1.1.1. Méthode de préparation de l'extrait éthanolique de *Crataegus azarolus*

50 g de feuilles ont été macérées dans 500 ml d'éthanol 96°, sous agitation constante pendant 24 h puis elles ont été filtrées. Le filtrat a été évaporé à 40 °C à l'aide de l'évaporateur rotatif de marque Stuart RE300B (Rotavapor) jusqu'à obtention d'un résidusec ou extrait éthanolique. Ce résidu sec a été pesé puis conservé au frais à 4° C dans des flacons colorés et à l'abri de la lumière (**Ganfon *et al.*, 2019**).



(a)



(b)

Figure 06 : Macération du mélange (a), et filtration sur papier filtre (b)

I.2.3.1.1.2. Méthode de préparation de l'extrait hydro-alcoolique de *crataegus azarolus*

20 g du matériel végétal broyé est mise à macérer dans 200 ml d'un mélange éthanol/eau (80/20 : V/V) sous agitation magnétique et à une température ambiante. Le macérât hydro-alcoolique obtenu est soumis à la double filtration sur papier filtre. Les

filtrats sont concentrés à l'évaporateur rotatif de type (Büchi R 114) à la température de 45°C (Coulibaly *et al.*, 2011). Ce résidu sec a été pesé puis conservé au frais à 4°C dans des flacons colorés et à l'abri de la lumière.



(a)



(b)

Figure 07 : Macération du mélange (a), et filtration sur papier filtre (b)

I.2.3.2. Extraction à chaud

I.2.3.2.1 Décoction

Une quantité de 50 g du matériel végétal broyé est mise à bouillir pendant 15 minutes dans 500 ml d'eau distillée. Après filtration sur papier filtre Whatman n° 3, les filtrats ont été ensuite concentrés et séchés dans l'étuve, puis conservés à 4 °C pour les travaux ultérieurs (Boubakeur *et al.*, 2017).



(a)



(b)

Figure 08 : Ebullition du mélange (a), et filtration sur papier filtre (b)

I.2.3.2.2. Infusion

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par (Ennadir *et al.*, 2014). Des extraits aqueux sont préparés par infusion de 50g des broyats des feuilles de notre plante dans 150 ml d'eau distillée pendant 15 minutes, suivie d'une filtration sur papier Wattman. Les extraits ainsi obtenus sont stockés à 4 °C et à l'abri de la lumière jusqu'au moment de leur utilisation.



(a)



(b)

Figure 09 : Ebullition du mélange (a), et filtration sur papier filtre (b)

I.2.4. Rendement

I.2.4.1. Calcul du rendement des extractions

Le rendement est la quantité d'extrait obtenue à partir d'une matière végétale (Bssaibiset *al.*, 2009 ; Dinzedi, 2015). Il est exprimé en pourcentage par rapport à la matière sèche (poudre végétale) et a été calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = M1 \times 100/M0$$

R : Rendement de l'extrait exprimé en pourcentage (%),

M1 : Masse de l'extrait (en g),

M0 : Masse de poudre végétale (en g).

Méthode d'extraction	Solvant	Aspect	Couleur	Rendement (%)
Décoction				
Macération				
Infusion				

Tableau 02: Le rendement de différents extraits de *Crataegus azarolus*

I.2.5. Analyse des extraits

I.2.5.1. Analyses qualitatives des extraits

Les réactifs de caractérisation classique ont permis par des tests simples et rapides en bute, de mettre en évidence les groupes chimiques suivants :

I.2.5.1.1. Détection des polyphénols

L'extrait (50 mg) a été dissous dans 5 ml d'eau distillée. A ceci, 3 ml d'acétate de plomb à 10% ont été ajoutés. Un précipité blanc indique la présence des polyphénols (Boubekeur, 2018).

I.2.5.1.2. Détection des flavonoïdes

Quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré et quelques milligrammes de tournures de magnésium sont ajoutés à 0,5 ml de chaque extrait. La coloration rose –rouge ou jaune indique la présence des flavonoïdes (**Hadouchi *et al.*, 2016**).

I.2.5.1.3. Détection des tanins

Une quantité de 15 ml du réactif de Stiasny a été ajoutée à 5 ml de chaque extrait. Le mélange a été maintenu au bain marie à 80°C pendant 30 min. L'observation d'un précipité en gros flocons a caractérisé les tanins catéchiques. Pour les tanins galliques, nous avons filtré la solution précédente. Le filtrat est recueilli et saturé d'acétate de sodium. L'addition de 3 gouttes de FeCl₃ provoquerait l'apparition d'une coloration bleu-noir intense, signe de la présence de tanins galliques (**Ghedadba *et al.*, 2015**).

I.2.5.1.4. Détection des alcaloïdes

Deux grammes du matériel sec et broyé ont été ajoutés à 10 ml de H₂SO₄ (1%), après le résidu formé est soumis à une macération de 4 minutes suivie d'une filtration. La formation d'un précipité jaune après l'ajout de quelques gouttes du réactif de Mayer (mercuritétraiodure de potassium), témoigne la présence d'alcaloïdes (**Naceri, 2018**).

I.2.5.2. Chromatographie liquide à haute performance HPLC

La technique de séparation la plus appréciée en analyse phytochimique est la chromatographie liquide à haute performance (pression), abrégée HPLC (CLHP en français). Elle est très utilisée dans de nombreux secteurs d'activités tels : l'agroalimentaire, l'industrie chimique et pharmaceutique, les cosmétiques, etc (**Fettah, 2019**).

➤ Principe

La méthode de séparation qu'elle utilise fait appel aux mêmes éléments de base que ceux employés pour la chromatographie classique sur colonne, soit un ou plusieurs

solvants et une colonne remplie avec une phase stationnaire, mais avec un appareillage plus sophistiqué. C'est une méthode physico-chimique basée sur les différences d'interactions entre les molécules à séparer et les phases mobile et stationnaire. Préalablement, les solutés sont mis en solution dans la phase mobile (solvant). Après son injection, ce mélange passe sous haute pression à travers la colonne (tube en acier inoxydable) qui renferme la phase stationnaire (Nollet *et al.*, 2013).

➤ Mode opératoire

Pour le présent travail, les analyses HPLC ont été menées au laboratoire d'HPLC de groupe pharmaceutique généraliste algérien SAIDAL de Médéa, suivant le protocole de (Kuntie *et al.*, 2007), proposé pour la détection des composées phénoliques. Les analyses sont effectuées à l'aide d'une chaîne HPLC marque Shimatzu munie d'une pompe Shimatzu 7100 et d'un détecteur UV Shimatzu (DAD-UV) piloté par le logiciel D.7000 HSM (Shimatzu).

En utilisant une phase inverse 'RP' phase stationnaire composée de silice greffée par des chaînes linéaires de 18 atomes de carbone, cette phase est apolaire nécessite donc un éluant polaire, généralement composé de l'Acétonitril HCN, MeOH, H₂O, dans ce cas, les composés polaires seront élués en premiers. La colonne HPLC de type LiChrospher RP-C18 (Shimatzu) (5 µm, 125 × 4.6 mm).

Pour toutes les analyses, les conditions chromatographiques sont en isocratique où la phase mobile est d'une composition constante, d'un mélange MeOH de qualité HPLC et de l'eau ultra pure (40 :60 V/V), le débit est fixé à 1 ml/min, la détection se fait à 254 nm. Engénéral, tous les extraits des feuilles en solutions de 1 à 4 mg/ml dans le méthanol sont injectés, le volume d'injection fixé à 20 µl.

I.2.5.3. Analyses quantitatives des extraits

I.2.5.3.1. Dosage des phénols totaux

A chaque 200 µl d'extrait, 1 ml de solution de Folin-Ciocalteu est ajouté, suivi par l'addition de 0,8 ml d'une solution de carbonate de sodium (7,5%). après 30 minutes d'incubation à la température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 765

nm. La concentration en phénols totaux des extraits a été exprimée en milligrammes d'acide gallique (AG) équivalents par gramme de plante (**Cheurfa, 2015**).

I.2.5.3.1. Dosage des flavonoïdes

5mL d'extrait ont été traitées avec quelques gouttes de HCl concentré. On y introduit une petite quantité de tournures de magnésium et on laisse réagir. L'apparition d'une couleur rouge ou orange caractérise la présence des flavones aglycones (**Ndoumou et al., 2014**).

I.2.5.3.2. Dosage des tanins

Une aliquote de 0,05ml d'extrait est ajoutée à 1,5 ml de vanilline à 4% et 750ml d'acide chlorhydrique (HCl). Le milieu réactionnel est mélangé grâce à un vortex, laissé à incuber pendant 20 minutes puis analysé en spectrophotométrie à 500 nm contre un blanc contenant de l'acétone 80 %.

Les teneurs en tanins condensés sont déterminées, en se référant à une gamme étalon de catéchine (0 à 400 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Comme pour les flavonoïdes, les teneurs en tanins condensés sont exprimées en mg d'équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg EC g⁻¹ extrait) (**Fettah, 2019**).

Les différentes étapes réalisées dans notre travail sont résumées dans le diagramme suivant (**figure 07**) :

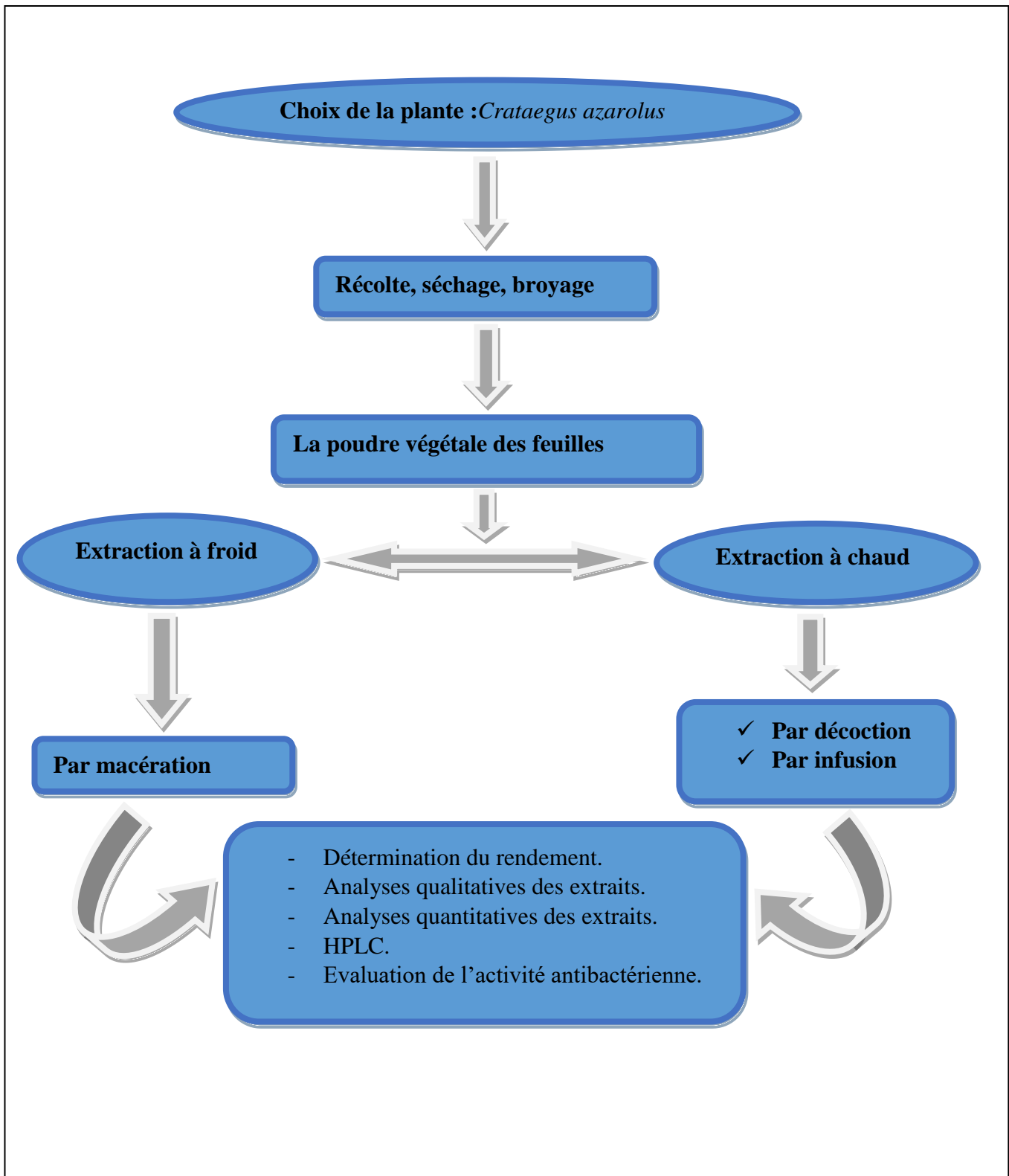


Figure10 : Schéma général des différentes étapes du travail.

II. Etude de l'activité antibactérienne

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

Les bactéries sélectionnées

Pour le test de l'activité antibactérienne des différents extraits de *Crataegus azarolus*, une gamme de bactéries pathogènes responsables des infections gastro-intestinales a été choisie. Elles sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 03: Liste des souches microbiennes testées

Nom de la souche	ATCC	Famille	Gram	Source
<i>Escherichia coli</i>	Clinique	Enterobacteriaceae	-	Laboratoire d'analyses médicales
<i>Staphylococcus aureus</i>	Clinique	Micrococaceae	+	
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	Clinique	pseudomonadaceae	-	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	70803	Enterobacteriaceae	-	Institut pasteur d'Alger
<i>Proteus mirabilis</i>	7739	Enterobacteriaceae	-	
<i>Citrobacter Sp</i>	8090	Enterobacteriaceae	-	
<i>Helicobacter pylori</i>	43504	Helicobacteriaceae	-	

Les extraits

Nous avons testé l'activité antibactérienne des extraits aqueux de *Crataegus azarolus*.

II.1.2. Les milieux de culture

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

- Bouillon nutritif (milieu de maintien et de repiquage).

- Gélose nutritive (pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes).
- Gélose Mueller Hinton (pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits).

II.1.3. Réactifs chimiques et autres matériels

- Les colorants de Gram,
- Antibiotique (Gentamicine),
- DMSO.

II.2. Méthodes

II.2.1. Caractérisation microscopique des souches étudiées

Après une culture de 24 h à 37 °C sur milieu sélectif, la pureté des souches est vérifiée par un examen microscopique après coloration de Gram.

II.2.2. Préparation des suspensions bactériennes

II.2.2.1. Préparations des prés cultures

Des colonies bien isolées des cultures pures ont été repiquées dans le bouillon nutritif, puis incubées à 37°C pendant 24 h.

II.2.2.2. Préparations des cultures jeunes

A partir du pré culture, des cultures jeunes de 18 h ont été préparées sur Bouillon nutritif puis incubées à 37°C.

II.2.2.3. Ajustements de la concentration bactérienne

Après la préparation des dilutions décimales, 1 ml de chacune des dilutions 10^{-5} , 10^{-6} sont ensemencés en masse dans la gélose nutritive. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h. Le dénombrement est effectué avec un compteur de colonies (**Oussou et al., 2004**).

II.2.3. Méthodes d'étude de l'activité antibactérienne des extraits végétaux

Afin de tester l'activité antibactérienne des extraits de *Crataegus azarolus*, nous avons fait appel à deux méthodes complémentaires :

- ✓ Méthode de l'aromatogramme
- ✓ Méthode de contact direct par dilution en milieu solide (détermination de la CMI).

II.2.3.1. L'aromatogramme

Cette méthode a exactement le même principe que celui des tests d'antibiogramme. C'est-à-dire, l'application des disques imprégnés de principes actifs sur des milieux de cultureensemencés de microorganismes. L'activité antimicrobienne, quand elle était présente, se manifestait alors par des zones d'inhibition autour des disques (**Ouibrahim, 2015**).

➤ Application

Cette méthode est préconisée par (**Bouharb et al., 2014**)

- ✓ La gélose MH a été coulée en boîte de petri a une épaisseur de 4mm.
- ✓ Les boîtes de MH refroidies sont inoculées (par inondation) de 1 ml d'inoculum (10^8 UFC/ ml) de façon à recouvrir toute la surface gélosée.
- ✓ Des disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre, stérilisés auparavant, imbibés par différentes solutions de 0,1 g/ml à raison de 10µl, et sont déposés à la surface de milieu solide.
- Les durées et les températures d'incubation ont été de 24h à 37°C.
- Chaque test est réalisé trois fois et on procède à la moyenne.
- Des disques imbibés d'eau et éthanol sont utilisés comme control négatif.
- La Gentamicine est utilisée comme control positif.

Lecture des résultats

La détermination de l'activité antibactérienne est estimée par la mesure, à l'aide d'une règle, du diamètre (mm) de la zone d'inhibition induit par les différentes concentrations autour des disques. Chaque expérience est répétée trois fois, en même temps et au même endroit (**Fertout *et al.*, 2016**).

Les résultats sont symbolisés par des signes suivant la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits testés :

- (-) : résistant ($\emptyset < 08$ mm),
- (+) : Sensible ($09 < \emptyset < 14$ mm),
- (++) : Très sensible ($15 < \emptyset < 19$ mm) et,
- (+++) : Extrêmement sensible ($\emptyset > 20$ mm).

II.2.3.2. Méthode de microdilution en milieu solide (détermination des CMI)

La CMI est réalisée uniquement pour les extraits les plus actifs constatés lors des tests de sensibilité et ayant induit un diamètre de la zone d'inhibition supérieur ou égal à 15 mm choisi arbitrairement (**Fertout *et al.*, 2016**). Elle est définie comme étant la concentration minimale de l'extrait qui inhibe la croissance d'au moins 90 % de la population bactérienne après un temps d'incubation de 18 à 24 heures à 37 °C (**Bammou *et al.*, 2014**).

➤ Mode opératoire

- ✓ L'extrait de la plante a été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour préparer les différentes concentrations avec dilutions successives au demi (1/2, 1/4, 1/8). Sachant que la concentration de la solution mère de l'extrait est 1 mg/ml.
- ✓ Les boîtes de MH préalablement coulées, sont ensemencées par les suspensions bactériennes à l'aide d'un écouvillon. La surface des boîtes est séchée à l'air libre un moment de temps.
- ✓ Des disques de papier Buvard stérile de 6mm de diamètre sont imprégnés de 10 μ l des différentes concentrations (0.5, 0.25, 0.125, 0.06 ... 0.0005 %), puis déposés à

la surface des géloses ensemencées avec les différentes souches bactériennes. Le DMSO a été utilisé comme contrôle négatif.

- ✓ Les boîtes de Pétri ont été incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 h.
- ✓ Tous les essais sont réalisés deux fois.

II.2.3.3. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration de substance qui laisse plus de 0,01% de germes survivants. C'est la plus petite concentration d'une substance qui peut tuer les bactéries après 18h de culture à 37°C. On peut la déterminer, soit en milieu liquide soit en milieu solide (**Fettah, 2019**).

➤ Mode opératoire

La gélose nutritive coulée dans des boîtes de pétri est ensemencée en stries par 100ul des contenus des tubes ayant une concentration \geq CMI dans la série de dilution précédente.

La CMB est déterminée après une incubation de 24 heures à 37°C. C'est la plus petite concentration qui inhibe totalement la croissance (**Bouharb et al., 2014**).

Le rapport CMB/CMI a permis de préciser la modalité d'action des extraits. Selon (**Okou et al., 2018**):

- si le rapport $CMB/CMI \leq 4$, la substance testée est bactéricide.
- si le rapport $CMB/CMI > 4$, la substance testée est bactériostatique.



Travaux antérieurs

I. Introduction

Crataegus azarolus est très répandue en Algérie et très consommée par la population locale en raison de ses qualités culinaires et médicinales. Cette plante fait partie de la famille des Rosaceae, est l'Azérolier connu sous le nom scientifique de *Crataegus azarolus* ou Zaarour (Zidi, 2010).

Les travaux cités sur les extraits de *Crataegus azarolus* sont peu nombreux pour les analyses qualitatives, les analyses quantitatives, et l'effet antibactérien en particulier sur *Helicobacter pylori* responsable de cancer gastrique. Nous présentons ci-après les travaux réalisés à propos de notre thématique.

II. Détermination de la matière sèche et de l'humidité

La teneur en eau est la différence entre le poids de l'échantillon avant et après la dessiccation lorsque leur poids soit constant.

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

$$H (\%) = [(M_0 - M_1) / M_0] \times 100$$

M0 : Masse de l'échantillon « avant séchage en gramme ».

M1 : Masse de l'échantillon « après séchage en gramme ».

H(%): Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

La teneur en matière sèche est calculée selon la relation suivante :

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

Selon **Abdeddaim, (2018)** à Batna, les résultats obtenus dans la détermination de la matière sèche et de l'humidité sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 04: Le taux d'humidité et de matière sèche du fruit de *Crataegus azarolus*.

Teneur en eau (%)	Teneur en matière sèche (%)
69,38 ± 0,38	30,62 ± 0,38

Dans des autres études faites par **Abdessemed, (2010)** et **Saadoudi, (2008)** sur les fruits de *C.azarolus* provenant de la région de Batna, et celles de **Boudraa, (2008)** sur les fruits de *C.azarolus* de la région de Mila pour déterminer la matière sèche et le taux d'humidité.

Les résultats sont groupés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 05 : Le taux d'humidité et de matière sèche du fruit de *Crataegus azarolus* de différentes régions.

Auteurs	Teneur en eau (%)	Teneur en matière sèche (%)
Abdessemed (2010)	66,86 ± 0,33	33,54 ± 0,33
Saadoudi (2008)	63,48 ± 0,38	36,52 ± 0,38
Boudraa(2008)	70,22±0,06	29,78±8 ,06

D'après **Abdeddaim, (2018)**, la pulpe de *Crataegus azarolus* présente une teneur élevée en eau 69,38 %, cette dernière est assez proche de celle trouvée par **Abdessemed, (2010)**, **Saadoudi, (2008)**, et **Boudraa, (2008)**.

Par ailleurs, **Abdeddaim, (2018)** rapporte une teneur en matière sèche d'azarolier de 30,62%, cette dernière assez proche de celle trouvée par **Abdessemed, (2010)**, **Saadoudi, (2008)**, et **Boudraa, (2008)**.

La variation de la teneur en eau peut être attribuée aux facteurs suivants :

- ✓ Les facteurs internes : - l'époque de la maturation.
- ✓ les facteurs externes : - L'ensoleillement.

-La température.

Ce fruit, selon sa teneur en eau, peut être classé comme fruit intermédiaire entre les fruits charnus (pomme, poire, pêche, ...) qui contiennent de 80 à 90% d'eau et les fruits secs d'un taux d'humidité qui varie entre 20 à 40%.

III. Analyses qualitatives des extraits de *Crataegus azarolus*

III.1. Analyses qualitatives des extraits des fruits de *Crataegus azarolus*

Selon **Hambaba et al., (2011)**, La préparation des extraits du fruit de *Crataegus azarolus* L. est réalisée par l'utilisation de solvant à polarité (méthanol). Pour l'extrait aqueux, c'est le résultat d'une simple macération à froid.

Les résultats des analyses qualitatives réalisés sont rassemblés dans le **Tableau 06**.

Tableau 06 : Résultats des tests de détection des flavonoïdes, des tanins et des alcaloïdes sur les extraits du fruit de *Crataegus azarolus* L.

Extrait	Flavonoïdes	Tanins	Alcaloïdes
Aqueux	Rouge cerise +++	Vert olive +++	Précipité orange ±
Méthanolique	Rouge cerise +++	Vert olive +++	Précipité orange++

A l'égard des résultats obtenus, la présence des flavonoïdes et des tanins dans les fruits du *Crataegus azarolus* L. est évidente, ils présentent les substances secondaires principales de ce fruit.

Les extraits polaires montrent une présence des flavonoïdes plus importante.

Concernant le test des alcaloïdes, les résultats sont moyens ou minimes qu'avec les extraits polaires E.Met et E.Aqe.

III.2. Analyses qualitatives de la poudre des feuilles de *Crataegus azarolus*

Les analyses quantitatives de la poudre des feuilles de *Crataegus azarolus* faites par (**Kallassy et al., 2017**) à Leban.

Les résultats sont groupés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 07 : Résultats des analyses qualitatives des flavonoïdes, des tanins et des alcaloïdes sur les différents extraits du fruit de *Crataegus azarolus*L.

Extraits	Flavonoïdes	Tanins	Alcaloïdes
Aqueux	+++	-	-
Méthanolique	-	-	+++
Ethanolique	+	-	+

Les résultats obtenus montrent que :

- L'extrait aqueux montre une présence des flavonoïdes plus importante que l'extrait méthanolique et l'extrait éthanolique.
- Une absence totale des tanins dans tous les extraits.
- Concernant les alcaloïdes, les résultats sont plus importants ou moyens qu'avec l'extrait méthanolique et l'extrait éthanolique, alors que les résultats du test est négatif avec l'extrait aqueux.

Dans une autre étude faite par **Zidi, (2010)** en Algérie, les analyses qualitatives effectuées sur la poudre des feuilles de *Crataegus azarolus* ont démontrées la présence des flavonoïdes et les tanins, et une absence des alcaloïdes.

IV. Analyses quantitatives des extraits de *Crataegus azarolus*

D'après **Lakache et al., (2014)**, les résultats de dosage des polyphénols totaux et les flavonoïdes de l'extrait méthanolique des feuilles de *Crataegus azarolus* sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 08 : Résultats des analyses quantitatives de l'extrait méthanolique des feuilles de *Crataegus azarolus*.

phénols totaux (mg EAG/gext)	Flavonoïdes (mg EQ/gext)
42.24 ± 0.07	2.32 ± 0.18

Les polyphénols contenant dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Crataegus azarolus* sont avec une teneur de (42.24 ± 0.07mg EAG/gext).

Le dosage des flavonoïdes totaux révèle que l'extrait méthanolique des feuilles de *Crataegus azarolus* est avec une teneur de $(2.32 \pm 0.18 \text{ mg EQ/gext})$.

Dans une autre étude faite par **Abdessemed, (2010)**, sur le dosage des polyphénols totaux et les flavonoïdes de l'extrait méthanolique des fruits de *Crataegus azarolus*, les résultats sont présentés dans le tableau 06.

Tableau 09 : Résultats des analyses quantitatives de l'extrait méthanolique des fruits de *Crataegus azarolus*.

Phénols totaux ($\mu\text{g EAG/mgext}$)	Flavonoïdes ($\mu\text{g EQ/mgext}$)
$18,649 \pm 2,293$	$1,182 \pm 0,739$

Les résultats du dosage des polyphénols totaux montrent que sont de valeur moyenne $(18,649 \pm 2,293 \mu\text{g EAG/mgext})$.

La détermination des flavonoïdes totaux révèle que l'extrait méthanolique des fruits de *Crataegus azarolus* est avec une valeur de $(1,182 \pm 0,739 \mu\text{g EQ/mgext})$.

Les résultats montrent que les fruits et les feuilles de *Crataegus azarolus* algérien sont riches en polyphénols.

V. L'activité antibactérienne

La méthode de diffusion en milieu gélosé utilisée est une méthode simple qui donne des résultats, mais il est difficile d'utiliser cette méthode avec des quantités importantes d'échantillons car le disque est petit et le papier filtre utilisé ne permet pas d'imprégner une grande quantité au risque de déborder l'échantillon étudié (la quantité maximale imprégnée est de 25 à 30 μl). En réalité, ce test n'est qu'un criblage des activités antimicrobiennes des extraits, il nous permet de sélectionner pour chaque souche l'extrait qui a présenté le plus d'activité antimicrobienne (**Abdessemed, 2010**).

L'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des fruits frais de *Crataegus azarolus* à Tunisie par **Bahri-Sahloulet al., (2014)**, et de l'extrait méthanolique des fruits secs de *Crataegus azarolus* en Algérie par **Abdessemed, (2010)**.

Les résultats sont groupés dans le tableau suivant :

Tableau 10: Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne de l'extrait méthanolique des fruits secs, et des fruits frais de *Crataegus azarolus*.

Les microorganismes	Diamètre des zones d'inhibition	
	Fruits secs	Fruits frais
<i>Staphylococcus aureus</i>	7 ± 0.33	0.00 ± 0.00
<i>Escherichia coli</i>	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
<i>Helicobacter pylori</i>	Aucune recherche n'a été faite à l'égard de cette souche bactérienne.	

Selon les résultats mentionnés dans le tableau, nous avons noté une résistance où aucune zone d'inhibition n'a été détectée avec :

- L'extrait méthanolique des fruits secs de *C.azarolus* contre toutes les souches bactériennes : *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aerogenosa*.
- L'extrait méthanolique des fruits frais de *C.azarolus* contre toutes les souches bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aerogenosa*.

De très faible zone d'inhibition est remarquée avec l'extrait méthanolique des fruits secs de *C.azarolus* contre *Staphylococcus aureus*.

D'après les résultats, on a constaté que quelque soit la nature de l'extrait et de sa concentration, les souches *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* (gram négatif) possèdent une forte résistance. Ainsi, il apparaît que *Staphylococcus aureus* (gram positif) est la bactérie la plus susceptible; ceci peut être attribué à la différence dans la structure des parois cellulaires. Les bactéries gram positives ont une seule couche alors que les bactéries gram négatives ont une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe.

Finalement, l'étude de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques des fruits secs et des fruits frais de *Crataegus azarolus* étudiés sur des souches des bactéries gram positif et gram négatif montre que ces extraits n'ont pas d'effet antibactérien.

L'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique des fruits de *Crataegus azarolus*(Palestine) réalisée par **Abu-Gharbieh et Gamil Shehab, (2017)**.

Les résultats sont présentés dans le **tableau 11**.

Tableau 11 : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne de l'extrait éthanolique des fruits de *Crataegus azarolus*.

Microorganismes	Diamètre des zones d'inhibition
<i>Staphylococcus aureus</i>	9.0 ± 1.1mm
<i>Escherichia coli</i>	14.0 ± 1.2mm
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	22.0 ± 2.4mm

Les résultats illustrés par le **tableau 11** indiquent que toutes les trois (03) souches bactériennes ont été inhibées par l'extrait éthanolique des fruits de *Crataegus azarolus* :

- *Pseudomonas aerogenosaa* été montrée une sensibilité extrême face au cet extrait.
- L'extrait éthanolique a montré une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 9.0 mm et également une activité antibactérienne contre *Escherichia coli* avec une zone d'inhibition de 14mm.

D'une manière générale, l'extrait éthanolique des fruits de *Crataegus azarolus* testé a montré leur efficacité remarquable sur les bactéries Gram+ et Gram-. En effet, aucune croissance bactérienne n'a été observée dans les différentes zones d'inhibition.

Une autre étude de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueu-acétonique des fruits de *Crataegus azarolus* faite par **Belkhir et al., (2013)** à Tunisie.

Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 12 : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne de l'extrait aqueu-acétonique des fruits de *Crataegus azarolus*.

Extraits	Diamètre des zones d'inhibition		
	Microorganismes		
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aerogenosa</i>
Pulpe de fruit	9.2±0.7	0.00±0.00	0.00±0.00
L'écorce de fruit	12.7±0.3	0.00±0.00	0.00±0.00

Les résultats consignés dans le **tableau 12**, nous avons noté une résistance où aucune zone d'inhibition n'a été détectée avec :

- L'extrait aqueu-acétonique de la pulpe de fruit de *Crataegus azarolus* contre *Pseudomonas aerogenosa* et *Escherichia coli*, sauf une activité antimicrobienne montrée avec *Staphylococcus aureus* d'un diamètre de 9.2 mm.
- L'extrait aqueu-acétonique de l'écorce de fruit de *Crataegus azarolus* contre *Pseudomonas aerogenosa* et *Escherichia coli*, sauf une activité antimicrobienne montrée avec *Staphylococcus aureus* d'un diamètre de 12.7mm.

En règle générale, les extraits de *Crataegus azarolus* sont habituellement plus actifs contre les bactéries Gram positif que les bactéries Gram négatif.

Aucune étude n'a été faite de cet extrait vis-à-vis de *Helicobacter pylori*.



CONCLUSION GENERALE



CONCLUSION

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs. Leur utilisation en phytothérapie connaît de nos jours un intérêt sans précédent. Une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique.

Tout d'abord l'étude bibliographique sur ces petits fruits a montré que sont consommés par les êtres humains depuis longtemps là où elles poussent dans le monde et ne présentent aucune propriété antinutritionnelle ou toxique empêchant leurs utilisation alimentaire, pharmacologique ou cosmétique.

Ces fruits de consommés en automne possèdent une pulpe sucrée, ils procurent donc de l'énergie des vitamines et des minéraux.

L'étude des propriétés microbiologiques des extraits du fruit saisonnier de *Crataegus azarolus* L., espèce appartient à la famille des Rosacées, a permis d'obtenir des résultats intéressants.

Dans un premier temps, les analyses des deux extraits (Aqueux et méthanolique) obtenus des fruits de *Crataegus azarolus* L, a mis en évidence la présence des flavonoïdes et des tanins dans ces extraits polaires.

L'analyse quantitative des extraits du fruit de *Crataegus azarolus* L. est représentée par le dosage spectral des deux substances bioactives : les polyphénols, les flavonoïdes révélant :

L'extrait méthanolique a une teneur considérable de ces substances bioactives.

Le test de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des fruits de *Crataegus azarolus* L. a montré que cet extrait n'a pas d'effet antibactérien ; alors que l'extrait éthanolique des fruits de *Crataegus azarolus* testé a montré leur efficacité remarquable sur les bactéries Gram+ et Gram-. En outre, aucune étude antibactérienne n'a été faite vis de *Helicobacter pylori* qui est notre objectif principal à travers ce travail.



REFERENCES BIBLIOGRAPHYQUES



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Abbott, S. L. (2011). Klebsiella, enterobacter, citrobacter, serratia, plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae. In *Manual of Clinical Microbiology, 10th Edition* (pp. 639-657). American Society of Microbiology.

Abdeddaim, M. (2018). *Etude de la composition biochimique des fruits de cinq espèces végétales présentes dans la région des aurès en vue de leur utilisation alimentaire ou pharmacologique (celtis australis L, crataegus azarolus L, crataegus monogyna J, elaeagnus angustifolia L, et zizyphus lotus L)* (Doctoral dissertation). P 26,57.

Abdessemed, H., Hambaba, L., Abdeddaim, M., & Aberkane, M. C. (2011). Dosage de métabolites secondaires des extraits du fruit Crataegus azarolus. *Tunisian J. Med. Plants and Nat. products*, 6, 53-62.

Abu-Gharbieh, E., & Shehab, N. G. (2017). Therapeutic potentials of Crataegus azarolus var. eu-azarolus Maire leaves and its isolated compounds. *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1), 218.

Agiel, N., Hanoğlu, D. Y., Hanoğlu, A., Başer, K. H., & Mericli, F. (2019). Volatile oil constituents of Crataegus azarolus L. and Crataegus pallasii Griseb. *Europe*, 1, 4. Alger, 91p.

Ashley N T, Weil Z M, Nelson R J.(2012).Inflammation: Mechanisms, Costs, and Natural Variation. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst*,43:385–406.

Aymonin G.G., (1993). Guide des arbres et des arbustes. Sélection du Reader's Digest (Ed). Paris, 351p.

Bahorun. T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J.C., Pinkas, M., (1996). "Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations". *Arzneimittel Forschung*,46: 10.

Bahri-Sahloul, R., Ben Fredj, R., Boughalleb, N., Shriaa, J., Saguem, S., Hilbert, J. L., ...&Harzallah-Skhiri, F. (2014). Phenolic composition and antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained from Crataegus azarolus L. var. aronia (Willd.) Batt. ovaries calli. *Journal of Botany*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Beaugeri, L., & Sokol, H. (2014). Les fondamentaux de la pathologie digestive. *CDU-HGE/Editions Elsevier-Masson-Octobre*.

Bédé, L. A., Assoma, B. A., Yapo, D. K., & N'guessan, B. R. (2019). Modélisation par calculs théoriques des résidus moléculaires du métabolisme des tannins condensés. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*, 47, 1-7.

Belkhir, M., Rebai, O., Dhaouadi, K., Congiu, F., Tuberoso, C. I. G., Amri, M., & Fattouch, S. (2013). Comparative analysis of Tunisian wild *Crataegus azarolus* (yellow azarole) and *Crataegus monogyna* (red azarole) leaf, fruit, and traditionally derived syrup: Phenolic profiles and antioxidant and antimicrobial activities of the aqueous-acetone extracts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(40), 9594-9601.

Bellini E. et Giordani E. (1998). conservation, evaluation, exploitation and collection of Minor Fruit tree Species .Horticulture department .university of florence .Italie.

Beloued A. (1998). Etymologie des noms de plantes du Bassin Méditerranéen. OPU (Ed).

Benghanou M., (2012). La phytothérapie entre la confiance et mefiance. Mémoire Biomedicine. S 1194-S 1199.

Bonnier, G. (1990). *La grande flore en couleur*. Tome II. 3ème Ed. Belin, France, p:34.

Boubakeur H., Rebbas., K., Belhattab R. (2017). Activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Helichrysum stoechas*(L.) Moench. *Phytothérapie* :pp.1-11.

Boubekeur, H. (2019). *Activités biologiques d'Helichrysum stoechas* (Doctoral dissertation).

Boudjada, A., & Rhouati, S. (2018). Etude phytochimique de deux espèces *Crataegus azarolus* L.(Rosaceae) et *Dioscorea communis* L.(Dioscoreaceae) (Doctoral dissertation, Université frères Mentouri Constantine).

Boudraa, S. (2008). *Etude de la fraction minérale et vitaminique des fruits de: Celtis australis L., Crataegus azarolus L., Crataegus monogyna Jacq., Elaeagnus angustifolia L. et Zizyphus lotus L* (Doctoral dissertation, Université de Batna 1-Hadj Lakhder). P 97.

Bouharb, H. A. Y. A. T. E., El Badaoui, K. H. A. L. I. D., Zair, T. O. U. R. I. Y. A., Chakir, S., & Alaoui, T. (2014). Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Biosciences*, 78(1), 6685-6693.

Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M., Chaouch A., Satrani B., (2009). Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *AgroSolutions*, 20(1): 45-48.

Bravo L. (1998)."Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance." *Nutrition Reviews* 56(11): 317-333.

Bretonneau J., Fauré Y.(1992). Atlas d'arboriculture fruitière .Lavoisier .Paris.234p.

Brisabois, A., Lafarge, V., Brouillaud, A., De Buyser, M. L., Collette, C., Garin-Bastuji, B., & Thorel, M. F. (1997). Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers: situation en France et en Europe. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*, 16(1), 452-471.

Brosse J. (2000). Larousse des arbres et arbustes. Larousse.(Ed). Canada, 576p.

Bruneau, A., Baylatry, M. T., Joly, A. C., & Sokol, H. (2018).Le microbiote intestinal: quels impacts sur la carcinogénèse et le traitement du cancer colorectal?. *Bulletin du Cancer*, 105(1), 70-80.

Bssaibis F, Gmira N, Meziane M. 2009. Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. *Rev. Microbiol. Ind. San. Environn.*, 3 (1) : 44-55.

Cce., (2001). Commission des Communautés Européennes: propositions de la commission en matière de lutte contre la résistance antimicrobienne. Bruxelles, vol

Chaker H. (2006).Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte : implication des métabolites du tryptophane. Thèse de doctorat. Grenoble. P : 3

Chang Q.,Zuo Z., Chow M.S.S., Ho W.K.K., (2006).Effect of storage temperature on phenolics stability in hawthorn (*Crataegus pinnatifida* var. major) fruits and a hawthorn drink. *Food Chemistry*,98: 426-430.

Cheurfa, M., & Allem, R. (2016). Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla* (L'Hérit.) d'Algérie in vitro. *Phytothérapie*, 14(3), 181-187.

Cheurfa, M., & Allem, R. (2017). Effet des extraits de quelques plantes sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites. *Phytothérapie*, 15(6), 395-400.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Cheurfa, M., Allem, R., Sebahia, M., & Belhireche, S. (2013). Effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites. *Phytothérapie*, 11(3), 154-160.

Coulibaly, B., N'guessan, K.R., Aka, N., Ekaza, E., N'golo, D.C., Trébissou, N., Ouattara, L., Bahi, C., Coulibaly, A., Assandé, J.M., Mohui, P., Yao, H., Djaman, A.J., Dosso, M., (2011). Activité anti-mycobactérienne in vitro des extraits de *Phyllanthus amarus* (Schum et Thonn) sur les souches de *Mycobacterium ulcerans* en Côte d'Ivoire. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 80 : 759-771.

Couplan F. (2000). Dictionnaire étymologie de botanique. Delachaux et Niestlé (Ed). Paris, **Dai, Y., Gao, C.M., Tian, Q.L., Lin, Y. (1987).** Effect of extracts of some medicinal plants on superoxide dismutase activity in mice. *Planta Med.*, 53: 309-310.

des minimes. Paris, p :27-30-31.

Dinzedi MR. 2015. Activités antibactériennes des extraits de *Terminilia catappa* et *Thonningia sanguinea* sur *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* multirésistantes d'origine humaine. Thèse de Doctorat, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan, p. 133.

Druyne T. (1999). Condensed vegetable tannins : biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical Systematics and ecology*. : 27.(4): 445-459.

DuPont HL, (2005). What's new in enteric infectious diseases at home and abroad. *Curr Opin Infect Dis*. 18: 407-412.

Eberhard. T, Robert. A, Annelise. L. (2005). Plantes aromatiques, épices aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc. Lavoisier. Paris France.

El Meskini, K. (2011). *Etude épidémiologique des infections à Pseudomonas aeruginosa* (Doctoral dissertation). P 60.

Ennadir, J., Hassikou, R., Bouazza, F., Arahou, M., Al Askari, G., & Khedid, K. (2014). Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques des graines de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill. *Phytothérapie*, 12(5), 302-308.

Espiard E. (2002). Introduction à la transformation industrielle des fruits. Tec & Doc (Ed). Paris.. p 360.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ethnopharmacology, **101** : 153–161.

Fatima, M. A. H. M. O. U. D. I. (2014). *Présentée par* (Doctoral dissertation, Université d'Oran).

Favier A. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques. L'actualite chimique*,12: 108-115.

Favier A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.*, 64(6): 390-396.

Fernandez J. and Lilley T.H. J. (1992) : Aqueous solutions containing amino acids and peptides. Part 28.-Enthalpy of interaction of some amides with glycine and α alanine:interactions of the zwitterionic group of α -amino acids with hydrophobic groups and peptide groups Chem. Soc., Faraday Transactions. 88, 2503-2509.

Fernandez M., (2003). De quelques plantes dites médicinales et de leur fonction. Aenigma (Ed). Paris, 63p.

Fettah, A. (2019). *Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante-antibactérienne) des extraits de la plante Teucrium polium L. sous espèce Thymoïdes de la région Beni Souik, Biskra* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED KHIDER BISKRA). P 81,85,95.

Gaillard J-L, Simonet M, (1988), Bactériologie Bactéries des infections humaines, édition Flammarion, France, 660 p.

Ganfou, H., Houvohessou, J. P., Assanhou, A. G., Bankole, H. S., & Gbenou, J. (2019). Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique et des fractions de *Anogeissus leiocarpa* (DC) Guill. Et Perr.(Combretaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(2), 643-651.

Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. C., Bousselfa, H., & Oueld-Mokhtar, S. M. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13(2), 118-129.

Ghedira.K. (2005).Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique ;Phytothérapie Numéro 4: 162-169 DOI 10.1007/s10298-005-0096 8.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Gloaguen J.C. (1982). Connaitre et reconnaître les arbres et les arbustes des forêts et des compagnes. Ouest frances (Ed). Rennes, 220p.

Gottrand, F. (2000). Place d'*Helicobacter pylori* dans les douleurs abdominales de l'enfant. *Archives de pédiatrie*, 7(2), 197-200.

Guediche, M. N. (1990). Colonisation bactérienne du nouveau-né et infection. *Med Maghreb*, 22, 25-27.

Guiraud J.P. (1998). Microbiologie alimentaire. 255. Ed Dunod.

Hadjira, A., Leila, H., Mohamed, A., & Cherif, A. M (2011). Dosage de métabolites secondaires d'extraits du fruit *Crataegus azarolus* L.

Hadouchi, F., Chaouche, T. M., & Halla, N. (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 1-9.

Hamdaoui, N., hedoud, H. (2019). Evaluation de quelques activités biologiques d'extrait préparé à partir de la plante *Plantago albicans* L d'El Oued.

Heymes, R. (2016). Modifications qualitative et quantitative en composés phénoliques dans les feuilles de hêtre soumises à des contraintes abiotiques (Doctoral dissertation, Université de lorraine).

Hopkins M. J., Sharp R. et Macfarlane G. T. (2002). Variation in human intestinal microbiota with age. *Digestive and Liver Diseases*. 34 : 12-18.

<http://www.cosmetic-bio.com/b/index>

Huang Guangrong., Jiang Jiabin., and Dai Dehui. (2008). Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala* S. Moore. *African Journal of Biotechnol.* 7 (9); pp:1335-1338.

Hvattum, E., Ekeberg, D., (2003). *Journal of Mass Spectrometry*, vol 38(1), pp43-49.

Iserin. P. (2001). Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Ed Larousse : pp10-335

Jamal, I., & Laila, N. (2014). Activité antibactérienne (in vitro) de l'extrait aqueux des feuilles d'*Anvillea radiata* (Coss. & Dur.) sur des bactéries multirésistantes à des antibiotiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Joseph M.N., Regina A.O., Alexander K.N., Dorothy Y.M., Phyllis G.A.,(2015). Medicinal plants used to treat TB in Ghana. *International Journal of Mycobacteriology*,4:116-23.

Jürgen R., Paul .S., Ulrike S., and Reinhard S. (2009). Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties– an Overview: *Forsch Komplementmed*.16; pp:79–90.

Kahlouche-Riachi, F. (2014). evaluation chimique et activite antibacterienne de quelques plantes medicinales d'Algerie.

Kallassy, H., Fayyad-Kazan, M., Makki, R., El-Makhour, Y., Hamade, E., Rammal, H., ...& Badran, B. (2017). Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory, and antiproliferative activities of the plant Lebanese *Crataegus azarolus* L. *Medical science monitor basic research*, 23, 270.

Kasangana, P. B. (2018). Recherche des molécules bioactives antidiabétiques dans les extraits d'écorces de racines de *Myrianthus arboreus*.

Kashyap CP, Arya V., Thakur N.(2012). Ethnomedicinal and phytopharmacological

Kim, S.H., Kang, K.W., Kim, K.W., Kim, N.D.(2000) Procyanidins in *Crataegus* extract evoke endothelium-dependent vasorelaxation in rat aorta. *Life Sci.*, 67: 121-131.

Koné, K. P. F. O. (2018). Applications des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l'identification des métabolites secondaires de trois plantes antidiabétiques et antihypertensives de la pharmacopée ivoirienne (Doctoral dissertation).

Kouadio, N. J., Guessennd, N. K., Kone, M. W., Moussa, B., Koffi, Y. M., Guede, K. B., ... & Dosso, M. (2015). Evaluation de l'activité des feuilles de *Mallotus oppositifolius* (Geisel.) Müll.-Arg (Euphorbiaceae) sur des bactéries multirésistantes et criblage phytochimique. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1252-1262.

Kuntie V., Pejie N., Ivkovie B., Vugie Z., Ilie K., Mieie S., Vukojevie V. 2007. Isocratic R-P-HPLC method for rutin determination in solid oral dosage forms. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 43: 718-721.

Lakache, Z., Tigrine-Kordjani, N., Tigrine, C., Kameli, A., & Meklati, B. Y. (2014). Volatile constituents, phenolic compounds, and antioxidant activity of *Crataegus azarolus*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

leaves and flowers growing in Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*, 50(6), 1132-1135.

Landman, C., & Quévrain, E. (2016). Le microbiote intestinal: description, rôle et implication physiopathologique. *La Revue de médecine interne*, 37(6), 418-423.

Ljubuncic P., Portnaya I., Cogan U., Azaizeh H., Bomzon A. (2005).Antioxydant activity

Madhuri V., Darshan S.K. and Kent L.E. (2008).Health effects of foods rich in polyphenols. *In: Wild-type food in health promotion and disease prevention. Humana Press Inc., Totowa*, pp; 393-412.

Mainil, J. (2003). Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'Escherichia coli: I) les adhésines et facteurs de colonisation. *Ann Med Vet*, 147, 105-126.

Maire, R.(1980).Flore de l'Afrique du Nord. Ed. Le Chevalier, Paris, 15, pp:140,141.

Mansour, A. (2017). Extraction et caractérisation des métabolites secondaires de plantes médicinales du genre *Juniperus* et du genre *Myrtus* (Doctoral dissertation).

Marouf,A.,Reynaud,J.(2007).La botanique de A à Z.DUNOD.paris, p:114,175,295.

Marteau, P., & Doré, J. (2013). Microbiote intestinal. *Gastroenterology*.

Marteau, P., & Doré, J. (2017). Le microbiote intestinal: un organe à part entière. *Ed John Libbey*.

Mathur, S., Sabbuba, N. A., Suller, M. T. E., Stickler, D. J., & Feneley, R. C. L. (2005). Genotyping of urinary and fecal *Proteus mirabilis* isolates from individuals with long-term urinary catheters. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 24(9), 643-644.

Mazzochi J., Dalioche G., Frenot U. (1999).Glaner dans le midi. Tetrass(Ed). Paris, 169p.

Messaili B. (1995). Botanique, systématique des spermaphytes.OPU(Ed). Alger, 91p.

Meyer, A.S., Yi, O.S., (1997). "Inhibit of human low density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxydants in grapes". *J. food, Agriculture*, 45: 1638-1643.

Mitsuoka T. (1989). Microbes in the intestine. Ed. Yakult Honsha Co., Tokyo, Japan.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

NACEIRI MRABTI, H. (2018). Étude Pharmacologique Toxicologique de l'Arbutus unedo L. au Maroc.

Ndomou, M., Djidjou, K. P., Ayong, N. M., Gouado, I., & Tchiegang, C. (2014). Evaluation de l'activité antidiabétique des extraits de feuilles de *Gnetum africanum* et *Gnetum bulchozianum* (Gnétacées). *Sciences, Technologies et Développement*, 15, 60-65.

Neyestani T.R. (2008). Polyphenols and immunity. *In: Wild-type food in health promotion and disease prevention. Humana Press Inc., Totowa*, pp; 413-434.

NOLLET L.M.L. et TOLDRA F., (2013). Food Analysis by HPLC, Third Edition, CRC Press. Taylor & Francis Group, London. p1063.

Occhiuto, F., Circosta, C., Costa, R., Briguglio, F., Tommasini, A.(1986) Comparative study of the cardiovascular activity of the young shoots, leaves and flowers of *Crataegus oxyacantha*, II. Action of extracts and isolated pure active principles on the isolated rabbit heart". *Plantas Medicinales et Phytotherapie*, 20: 52-63.

Ody P.(1995). Les plantes médicinales "Encyclopédie Pratique". Sélection du Reader's Digest (Ed). Paris, 192p.

of *Crataegus aronia* aqueous extract used in traditional Arab medicine in Israel. *Journal of*

O'Hara, C. M., Brenner, F. W., Steigerwalt, A. G., Hill, B. C., Holmes, B., Grimont, P. A., ... & Brenner, D. J. (2000). Classification of *Proteus vulgaris* biogroup 3 with recognition of *Proteus hauseri* sp. nov., nom. rev. and unnamed *Proteus* genomospecies 4, 5 and 6. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 50(5), 1869-1875.

Okou, C. (2012). Efficacite et spectre d'activite des extraits de *mitracarpus scaber* zucc. ex schult+ scult. f.(*rubiaceae*) et de l'acide fusidique sur les bacteries cocci gram positif (doctoral dissertation, université félix houphouët-boigny (abidjan, côte d'ivoire); N° ORDRE 741/2012).

Okou, O. C., Yapo, S. E. S., Kouassi, K. C., Monthaut, S. V., Kra, A. K. M., & Djaman, A. J. (2019). Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de fruits de *Solanum torvum* Swartz (*Solanaceae*) sur la croissance in vitro de sept (07) souches d'entérobactéries de différents profils (résistantes ou sensibles). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(3), 1510-1526.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

OMS (2002). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002–2005.

OMS (2006). Maladies infectieuses en Afrique. Situation et perspectives d'action. 7ème Réunion du forum pour le partenariat avec l'Afrique. Moscou, Russie. p.19.

OMS (2015). Statistiques sanitaires mondiales. Genève: Presse OMS; 164 p.

Ouerfelli, M., Almajano, M. P., & Kaâb, L. B. B. (2016). Composés phénoliques et capacité antioxydante des extraits méthanoliques du Tripodion (*Anthyllis tetraphylla* L.). *Revue des Régions Arides*, 43, 589-594.

Ouibrahim A., (2015). « Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien » ; Thèse de doctorat ; Univ. Badji Mokhtar – Annaba.

Oussou, K.R., Kanko, C., Guessennd, N., Yulou, S. Koukoua G., Dosso, M., N'Guessan, Y.T., Figueredo G., Chalchat, J.C., (2004). Activité antibactérienne des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de Côte d'Ivoire ; *C.R.Chimie*, 7: 292-297; 1081-1086.

Ozcan M., Haciseferogullari H., Marakoglu T. and Arslan D., (2005).Hawthorn (*Crataegus* spp.) fruit: some physical and chemical properties. *Journal of Food Engineering*, 69: 409-413.

Pelt j. M., (1980).Les drogues, leur histoire et leurs effets. Édition Doin, Paris: 221.

Polletti A. (1987).Fleurs et plantes médicinales. Delachaux et Nestle (Eds). Paris, 191p.

potential of *Crataegus* - A review.. *Asian Pacific Journal of Tropical*

professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical CHETTIA

Quezel P.,Santa S.(1962).nouvelle flore de l'algerie et régions désertique méridionales .tome I.centre nationale de la recherche.paris.565p.

Rahmani S, Belboukhari N, Sekkoum Kh, Cheriti A. (2016).Evaluation de l'activité anti-inflammatoire d'extraits aqueux de feuilles *Limoniastrum feei* (plumbaginacea). *Algerian journal of arid environment*, 6(1): 80-86

Raven,H.,Evert, R.F., Eichhon, S.E.(2014).Biologie végétale ,3édition, boeck rue

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Reguieg Yssad, A.(2019) : L'effet de *Punica granatum* sur la flore gastrique; Etude Invitro et Invivochez le rat (Doctoral dissertation, Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis).

Roberts, M.F., (2013). Alkaloids: biochemistry, ecology, and medicinal applications. Springer Science & Business Media.

Ruppé, É., & Andremont, A. (2013). Le microbiote intestinal est l'avenir de la multirésistance bactérienne. *Journal des Anti-infectieux*, 15(4), 166-177.

Saadoudi, M. (2008). *Etude de la fraction glucidique des fruits de: celtis australis l., crataegus azarolus l., crataegus monogyna jacq., elaeagnus angustifolia l. et zizyphus lotus l* (Doctoral dissertation, Université de Batna 1-Hadj Lakhder). P55.

Salles, N. (2007). Infection à *Helicobacter pylori* chez la personne âgée. *La Revue de médecine interne*, 28(6), 400-411.

Sarni-manchado P., veronique C., (2006). Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC etDOC, Paris (France):398.

Schultz-Ascensio, E. (2018). *Diffusion d'îlots génomiques de multirésistance aux antibiotiques chez Proteus mirabilis* (Doctoral dissertation, Tours).

Sekhri-Arafa, N. (2011). Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine.

Serhane K.(2005). journée d'étude et d'information sur l'azérolier .institut de la technologie moyen agricole spécialisé de sétif.

Shanthi, R., Parasakthy, K., Deepalakshmi, P.D., Niranjali, D.S.(1996). Protective effect of tincture of *Crataegus* on oxidative stress in experimental atherosclerosis in rats. *J. Clin Biochem Nutr*, 20: 211-223.

Sougakoff, W., & Trystram, D. (2003). Résistances aux β -lactamines. *Service de Bacteriologie-Hygiène du CHU Pitié-Salpêtrière*, 9-12.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Tancrede, R., & Raibaud, P. (1978). Abord écologique de la flore digestive. I-Un écosystème qui fait partie des moyens de défense anti-infectieux. *Concours Médical*, 100-3889.

Touafek, O. (2010). Etude phytochimique de plantes médicinales du Nord et du Sud algériens.

Twajj, H.A.A., Ker'y, A.A., Jeboory, A.A., Hammad, M.N.(1987).*Crataegus azarolus* Linn; pharmacology and phytochemistry: Part I. Pharmacology. *J. of Biological Sciences Research*, 18: 105-126.

Twidwell E.K., Wagner J.J., Thiex N.J., (2002). Use a microwave oven to determine moisture content of forages. A Service of SDSU Extension (Extra n°8077), SDSU, USDA

Varon, C., & Mégraud, F. (2013). Infection à *Helicobacter pylori* et cancer gastrique. *Revue francophone des laboratoires*, 2013(456), 67-76.

Vincenot, F., Saleh, M., & Prévost, G. (2008). Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue Francophone des laboratoires*, 2008(407), 61-69.

Wyspiańska, D., Kucharska, A. Z., Sokół-Łętowska, A., & Kolniak-Ostek, J. (2017).Physico-chemical, antioxidant, and anti-inflammatory properties and stability of hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) procyanidins microcapsules with inulin and maltodextrin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(2), 669-678.

Zhang Z., Ho W.K.K., Huang Y. and Chen Z.Y.(2002).Hypocholesterolemic activity of hawthorn fruit is mediated by regulation of cholesterol-7 -hydroxylase and acyl CoA: Cholesterol acyltransferase. *Food Research International*, 35: 885-891.

Zhang, Z., Chang, Q., Zhu, M., Huang, Y., Ho, W. K. K., et Chen, Z.(2001).Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits. *J of Nutritional Biochemistry*, 12(3): 144–152.861089.

ZIDI, S. (2010). Contribution à l'étude de l'effet antidiabétique potentiel d'un extrait aqueux de *Crataegus azarolus* Chez des rats Wistar avec un diabète induit à l'alloxane (Doctoral dissertation, Université de Annaba-Badji Mokhtar). P 41, 52.