

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET DE MICROBIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Biologie
Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Thème

**Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne des
extraits phénoliques d'*Opuntia ficus indica* de Tunisie**

Présenté par : M^{elle} BESSEDIK Melissa M^r BENIKHLEF Mohamed Tahar

Soutenu publiquement le 19 septembre 2017 devant la commission d'examen

Président	: M ^{me} ZENNIA S.	Maitre de conférences B à l'UMMTO
Promoteur	: M ^r OUELHADJ A.	Maitre de conférences A à l'UMMTO
Examineur	: M ^{elle} BENAHMED DJILALI A.	Maitre de conférences A à l'UMMTO
Examineur	: M ^r YEZID H.	Maitre de conférences B à l'UMMTO

Année universitaire 2016/2017

REMERCIEMENTS

En premier lieu, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant pour nous avoir donnés santé, force, courage et volonté afin de mener à bien ce travail.

Nos chaleureux remerciements vont à **Monsieur OUELHADJ A. : Maitre de conférences A à l'UMMTO**, pour avoir accepté la lourde tâche d'être rapporteur de ce mémoire. Nous le remercions de nous avoir guidés pas à pas à travers ses conseils pertinents et sa disponibilité. Ce modeste travail témoigne de sa confiance et de son soutien dans les moments les plus difficiles. Qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

Tous nos remerciements s'adressent aux lecteurs attentifs de ce manuscrit qui nous ont fait l'honneur de juger ce travail.

A **Madame ZENNIA S. : Maitre de conférences B à l'UMMTO** pour l'intérêt qu'il porte à ce travail et pour sa disponibilité à présider le jury ;

A **Mademoiselle BENAHMED DJILALI A. : Maitre de conférences B à l'UMMTO** pour avoir accepté d'évaluer ce travail en dépit de ses nombreuses autres obligations.

A **Monsieur YEZID H. : Maitre de conférences B à l'UMMTO** pour avoir accepté d'évaluer ce travail en dépit de leurs nombreuses autres obligations.

“

Agir avec honnêteté pour le bien de la dignité humaine est l'engagement le plus important dans notre court séjour sur cette planète.

**René Geronimo Favallora
(1923-2000)**

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS

INDEX DES TABLEAUX ET DES FIGURES

RESUMES

INTRODUCTION **1**

PARTIE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1 CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES COMPOSES PHENOLIQUES **3**

1.1 GENERALITES **3**

1.2 PRINCIPALES SOURCES ALIMENTAIRES **4**

1.3 CLASSIFICATION DES COMPOSES PHENOLIQUES **5**

1.3.1 POLYPHENOLS SIMPLES 7

1.3.1.1 Les acides phénoliques 7

1.3.1.1.1 Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C₆-C₁) 7

1.3.1.1.2 Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C₆-C₃) 8

1.3.1.2 Les flavonoïdes 9

1.3.1.3 Alcools phénoliques 10

1.3.2 POLYPHENOLS COMPLEXES 10

1.3.2.1 Tanins 10

1.3.2.2 Lignines et subérines 11

1.4 PRINCIPALES VOIES DE BIOSYNTHESE DES COMPOSES PHENOLIQUES **11**

1.5 INTERETS ET PROPRIETES BIOLOGIQUES DES POLYPHENOLS **13**

1.5.1 INTERETS DES POLYPHENOLS 13

1.5.2 PROPRIETES BIOLOGIQUES DES POLYPHENOLS 15

1.5.2.1 Activité antimicrobienne 15

1.5.2.2 Activité antivirale 16

1.5.2.3 Activité antioxydante 16

1.5.2.4 Activité anticancéreuse 17

2 CHAPITRE II : STRESS OXYDATIF **19**

2.1 STRESS OXYDATIF **19**

2.2 DEFINITION D'UN RADICAL LIBRE **19**

2.3 ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE (ERO) **19**

2.4	PRINCIPALES SOURCES DES ERO	20
2.5	CIBLE DES AGENTS OXYDANTS	21
2.5.1	LES LIPIDES	21
2.5.2	LES PROTEINES	22
2.5.3	L'ACIDE DESOXYRIBONUCLEIQUE (ADN)	22
2.6	MALADIES ENGENDREES PAR LE STRESS OXYDANT	22
2.7	LES ANTIOXYDANTS	22
2.8	DEFENSES ANTIOXYDANTES	23
2.8.1	ANTIOXYDANTS ENDOGENES	23
2.8.1.1	Antioxydants enzymatiques	23
2.8.1.2	Antioxydants non-enzymatiques	24
2.8.2	ANTIOXYDANTS EXOGENES	24
2.8.2.1	Tocophénols (Vitamine E)	24
2.8.2.2	Acide ascorbique (Vitamine C)	25
2.8.2.3	Antioxydants phénoliques	25
2.8.2.4	Sélénium	25
2.8.2.5	Zinc	26
2.9	MECANISMES D'ACTION D'UN ANTIOXYDANT	26
3	CHAPITRE III : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES	27
3.1	GENERALITES	27
3.2	LES ANTIBIOTIQUES DES MEDICAMENTS PAS COMME LES AUTRES	27
3.2.1	QU'EST-CE QU'UN ANTIBIOTIQUE ?	27
3.2.2	CLASSIFICATION ET MECANISMES D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES	28
3.3	RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES : LE REVERS DE LA MEDAILLE	28
3.3.1	RESISTANCE BACTERIENNE	28
3.3.1.1	Notion de résistance	28
3.3.1.2	Types de résistance	29
3.3.1.2.1	Résistance naturelle	29
3.3.1.2.2	Résistance acquise	29
3.3.1.3	Supports génétiques de la résistance acquise	29

3.3.1.3.1	Résistance par mutation chromosomique	30
3.3.1.3.2	Résistance par acquisition de gènes de résistance	30
3.3.2	RESISTANCE AUX ANTIFONGIQUES	31
3.3.3	RESISTANCE AUX ANTIVIRAUX	31
3.4	RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES : STRATEGIES DE LUTTE	32
3.4.1	PROMOUVOIR LA RECHERCHE DE NOUVELLES CIBLES	32
3.4.2	PROMOUVOIR LA RECHERCHE DE COMPOSES NON ANTIBIOTIQUES	32
3.4.3	PLANTES MEDICINALES ET LUTTE CONTRE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES	33
4	<u>CHAPITRE IV : LE FIGUIER DE BARBARIE : <i>OPUNTIA FICUS INDICA</i></u>	34
4.1	GENERALITES	34
4.1.1	POSITION SYSTEMATIQUE DU FIGUIER DE BARBARIE	34
4.2	BIOLOGIE D'<i>OPUNTIA FICUS INDICA</i>	35
4.3	ORIGINE ET DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE D'<i>OPUNTIA FICUS INDICA</i>	36
4.4	ETHNOPHARMACOLOGIE D'<i>OPUNTIA FICUS INDICA</i>	37
4.5	UTILISATION DU FIGUIER DE BARBARIE	37
4.5.1	UTILISATION DU FRUIT	37
4.5.2	UTILISATION DES RAQUETTES	38
4.5.3	UTILISATION DES FLEURS	39
	<u>PARTIE II : EXPERIMENTATION</u>	
1	<u>CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES</u>	40
1.1	MATERIELS	40
1.1.1	MATERIEL VEGETAL	40
1.1.2	PRODUITS DE LABORATOIRE	40
1.1.3	APPAREILLAGE	43
1.1.4	MICROORGANISMES TESTES	43
1.2	METHODES	44
1.2.1	EXTRACTION DES COMPOSES PHENOLIQUES	44
1.2.2	ANALYSE QUANTITATIVE DES COMPOSES PHENOLIQUES	45
1.2.2.1	Dosage des polyphénols totaux	45

1.2.2.2	Dosage des flavonoïdes totaux	45
1.2.3	ACTIVITES BIOLOGIQUES	46
1.2.3.1	Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante des extraits d' <i>Opuntia ficus indica</i>	46
1.2.3.1.1	Mesure du pouvoir anti radicalaire par piégeage du radical DPPH	46
1.2.3.1.2	Mesure du pouvoir réducteur du fer (Test FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power)	47
1.2.4	EVALUATION <i>IN VITRO</i> DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE D' <i>OPUNTIA FICUS INDICA</i>	48
1.2.4.1	Activité antibactérienne	48
1.2.4.1.1	Préparation des milieux de culture	48
1.2.4.1.2	Stérilisation du matériel	48
1.2.4.1.3	Préparation des dilutions des extraits d' <i>Opuntia ficus indica</i>	48
1.2.4.1.4	Repiquage et purification des souches	48
1.2.4.1.5	Préparation de l'inoculum	49
1.2.4.1.6	Ensemencement et dépôt des disques	49
1.2.4.1.7	Lecture des résultats	50
1.2.4.2	Activité antifongique	51
1.2.5	ANALYSE STATISTIQUE	51
2	<u>CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION</u>	52
2	<u>RENDEMENTS D'EXTRACTION DES COMPOSES PHENOLIQUES</u>	52
3	<u>TENEURS EN POLYPHENOLS TOTAUX DES EXTRAITS DE FIGUE DE BARBARIE</u>	54
3.1	TENEUR EN FLAVONOÏDES TOTAUX DES EXTRAITS DE FIGUE DE BARBARIE	56
3.2	ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES COMPOSES PHENOLIQUES	59
3.2.1	REDUCTION DU FER : FRAP (FERRIC REDUCING ANTIOXIDANT POWER)	60
3.2.2	POUVOIR ANTI RADICALAIRE PAR PIEGEAGE DU RADICAL DPPH	62
3.3	ACTIVITE ANTIMICROBIENNE	65
	<u>CONCLUSION</u>	78
	<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	
	<u>ANNEXES</u>	

Liste des abréviations

AG : Acide gallique

Aq : Aqueux

ATB : Antibiotique

ATCC : American Type Culture
Collection

BHIB : Brain Heart infusion Broth

CAT : Catalase

CTM: Collection microbienne tunisienne

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

DO : Densité optique

DPPH : 2, 2, diphenyl-1-picrylhydrazyl

EAA : Equivalent d'acide ascorbique

EAG : Equivalent d'acide gallique

EQ : Equivalent de quercétine

ER : Equivalent de rutine

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

Et-OH : Ethanolique

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant
Activity

FVT : Flavonoïdes totaux

GN : Gélose nutritive

GPx : Glutathion peroxydase

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

M.H : Muller-Hinton

NO : Oxyde d'azote

NO₂ : Dioxyde d'azote

pH : potentiel Hydrogène

PPT : Polyphénols totaux

P/V : poids/volume

QS : Quorum Sensing

rpm : Rotation par minute.

RSA : Radical Scavenger Activity

SOD : Superoxydase dismutase.

UFC : Unité Formant Colonie.

UV : Ultraviolet

V/V : volume/volume

Vit-C : Vitamine C

Indexe des figures

Figure 1 : Structure du noyau phénol.	03
Figure 2 : Principaux acides hydroxybenzoïques.	08
Figure 3 : Principaux acides hydroxycinnamiques.	08
Figure 4 : Structure chimique d'un Stilbène.	09
Figure 5 : Structure chimique de base des flavonoïdes.	09
Figure 6 : Les différents types de flavonoïdes à partir du squelette flavane.	10
Figure 7 : Structures de l'hydroxytyrosol (a) et du tyrosol (b).	10
Figure 8 : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols.	12
Figure 9 : Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres oxygénés.	21
Figure 10 : Réaction de détoxification du radical-anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène.	23
Figure 11 : Schéma représentatif des mécanismes d'action des principales familles d'antibiotiques sur une bactérie à Gram positif et à Gram négatif	28
Figure 12 : Voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques.	31
Figure 13 : Différentes parties du figuier de barbarie.	35
Figure 14 : Distribution géographique du figuier de Barbarie.	36
Figure 15 : Fruits de l' <i>Opuntia ficus indica</i> .	40
Figure 16 : Réduction du radical DPPH par un antioxydant.	46
Figure 17 : Illustration de la méthode d'antibiogramme.	50
Figure 18 : Rendement d'extraction en (%) des deux extraits d' <i>Opuntia ficus indica</i> .	53
Figure 19 : Teneur en polyphénols totaux des deux extraits étudiés.	55
Figure 20 : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits d' <i>Opuntia ficus indica</i> .	57

Figure 21 : Comparaison de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans les deux extraits du fruit d' <i>Opuntia ficus indica</i> .	59
Figure 22 : Réduction du fer chez les différents extraits de fruits d' <i>Opuntia ficus indica</i> .	60
Figure 23 : Pouvoir réducteur des extraits d' <i>Opuntia ficus indica</i> et du standard.	61
Figure 24 : Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations du standard et de l'extrait aqueux d' <i>Opuntia ficus indica</i> (n=2).	63
Figure 25 : Valeurs de l'IC ₅₀ de l'extrait aqueux et du standard.	64
Figure 26 : Témoins positifs réalisés avec les antibiotiques.	70
Figure 27 : Témoins positifs réalisés par l'antifongique (Amphotéricine B) sur les deux souches fongiques testées.	70
Figure 28 : Témoins négatifs réalisés avec le méthanol sur les microorganismes testés.	73
Figure 29 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition en (mm) exprimées par les extraits d' <i>Opuntia ficus indica</i> (10 mg/ml).	73
Figure 30 : Effet de l'extrait éthanolique sur <i>Aspergillus niger</i> .	74
Figure 31 : Effet de l'extrait aqueux sur <i>Staphylococcus aureus</i> .	75
Figure 32 : Effet de l'extrait aqueux sur <i>E. coli</i> (ATCC 25922).	75
Figure 33 : Effet de l'extrait aqueux sur <i>P. aeruginosa</i> (ATCC27853).	75

Indexe des tableaux

Tableau I: Tableau récapitulatif des principales sources alimentaires des polyphénols. _____	5
Tableau II : Les principales classes des composés phénoliques. _____	7
Tableau III: Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme. _____	14
Tableau IV : Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. _____	20
Tableau V : Produits et réactifs chimiques utilisés. _____	41
Tableau VI : Milieux de culture utilisés. _____	42
Tableau VII : Antibiotiques et antifongiques. _____	42
Tableau VIII : Appareils utilisées. _____	43
Tableau IX : Souches microbiennes utilisées . _____	43
Tableau X : Aspect, couleur et rendement des deux extraits d' <i>Opuntia ficus indica</i> . (n=3). _____	52
Tableau XI : Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits exprimées en mg EAG/g MS (n=3). _____	54
Tableau XII : Teneurs en flavonoïdes totaux des différents extraits exprimées en mg EAG/g MS (n=3). _____	56
Tableau XIII : Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans les deux extraits du fruit d' <i>Opuntia ficus indica</i> . _____	58
Tableau XIV : Pouvoir réducteur des deux extraits d' <i>Opuntia ficus indica</i> . _____	62
Tableau XV : Antibiogramme des germes étudiés en présence des différents antibiotiques (Diamètre de la zone d'inhibition en mm). _____	66
Tableau XVI : Activité antimicrobienne des extraits bruts d' <i>O.f. indica</i> (diamètre des zones d'inhibition en mm) (n=3). _____	67

RESUMÉS

Abstract

Prickly pear is a fruit of the genus *Opuntia* which belongs to the *Cactaceae* family, and could be an important source of phenolic compounds, which gives rise to a major interest in view of their antioxidant potential. The purpose of the present study was to determine phenolic and flavonoid content to evaluate antioxidant and antimicrobial activities of fruit's pulp from *Opuntia ficus indica*.

Samples were extracted separately with distilled water and 70% ethanol in order to obtain dry extracts, then kept at 4°C until investigation. The respective yields were $6,20 \pm 1,47\%$ and $5,33 \pm 0,58\%$.

The total content of phenolic compounds was determined using Folin-Ciocalteu reagent, it was: $6,05 \pm 0,06$ and $2,86 \pm 0,59$ mg GAE/g of dry weight of the aqueous and ethanol extracts respectively.

The total content of flavonoids compounds was determined according to the method of aluminum trichloride ($AlCl_3$), it was: $2,75 \pm 0,03$ and $1,00 \pm 0,08$ QE/g of dry weight of the aqueous and ethanol extracts respectively.

Antioxidant activity was evaluated using two different methods: the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging method and the ferric reducing antioxidant power (FRAP) method.

DPPH sequestration percentages and the IC_{50} respectively were estimated: $70,40 \pm 0,003\%$ and $143,59 \pm 0,004$ μ g/ml for aqueous extract, $100,00 \pm 0,00\%$ and $104,31 \pm 0,012$ μ g/ml for ascorbic acid (standard), this confirms the antioxidant power of plant studied.

This antioxidant capacity is confirmed by the reducing power test which gave the following results: $0,163 \pm 0,003$ mg AAE/g of dry extract for aqueous extract, $0,154 \pm 0,006$ mg AAE/g of dry extract for ethanol extract and $0,165 \pm 0,002$ mg/g of dry extract for ascorbic acid (standard).

The antimicrobial activity was measured against eight bacterial strains and two fungal strains according to the agar diffusion method. All samples tested in our study reacted positively at least one of the tested microbial strains, confirming that the *Opuntia ficus indica* plant is endowed with antimicrobial properties.

Key words: *Opuntia ficus indica*, aqueous extract, ethanol extract, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, antimicrobial activity.

Résumé

La figue de barbarie est un fruit du genre *Opuntia* affilié à la famille des *Cactaceae* et pourrait constituer une source importante de composés phénoliques ce qui donne naissance à un intérêt majeur en vue de leur potentiel antioxydant. Le but de la présente étude était de déterminer les teneurs des polyphénols et des flavonoïdes afin d'évaluer les activités antioxydante et antimicrobienne des fruits de l'*Opuntia ficus indica*.

Les échantillons ont été extraits séparément avec de l'eau distillée et de l'éthanol 70% afin d'obtenir des extraits secs, puis conservés à 4°C jusqu'à l'expérimentation. Les rendements respectifs étaient de : $6,20 \pm 1,47\%$ et $5,33 \pm 0,58\%$.

La teneur en composés phénoliques totaux a été déterminée à l'aide du réactif Folin-Ciocalteu, elle est de : $6,05 \pm 0,06$ et $2,86 \pm 0,59$ mg EAG/g de matière sèche d'extrait aqueux et éthanolique, respectivement.

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée selon la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), elle est de : $2,75 \pm 0,03$ et $1,00 \pm 0,08$ EQ/g de matière sèche d'extrait aqueux et éthanolique, respectivement.

L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant deux méthodes différentes: la méthode de piégeage des radicaux 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) et la méthode du pouvoir réducteur du fer (FRAP).

Les pourcentages de séquestration de DPPH et la IC_{50} , respectivement, ont été estimés: $70,40 \pm 0,003\%$ et $143,59 \pm 0,004$ µg/ml pour l'extrait aqueux, $100,00 \pm 0,00\%$ et $104,31 \pm 0,012$ µg/ml pour l'acide ascorbique (standard), cela confirme le pouvoir antioxydant de la plante étudiée.

Cette capacité antioxydante est confirmée par le test pouvoir réducteur du fer qui a donné les résultats suivants: $0,163 \pm 0,003$ mg /g d'extrait sec pour extrait aqueux, $0,154 \pm 0,006$ mg/g d'extrait sec pour l'extrait éthanol et $0,165 \pm 0,002$ mg / g d'extrait sec pour l'acide ascorbique (standard).

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur huit souches bactériennes et deux souches fongiques selon la méthode de diffusion en gélose. Tous les échantillons testés dans notre étude ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées, ce qui confirme que l'*Opuntia ficus indica* est doté de propriétés antimicrobiennes.

Mots clés : *Opuntia ficus indica*, extrait aqueux, extrait d'éthanol, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

INTRODUCTION

Introduction

Dans le cadre de la valorisation de la médecine traditionnelle, il y a eu un intérêt croissant ces dernières décennies pour l'étude des plantes médicinales et leurs utilisations traditionnelles dans les différentes régions du monde. Aujourd'hui, selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire. Des avantages économiques considérables dans le développement de la médecine traditionnelle ont été constatés (MUTHU *et al.*, 2006).

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés : les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante (ELQAJ *et al.*, 2007). D'après MAURICE (1997), les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments.

ELQAJ *et al.*, (2007) ont rapporté que depuis quelques années le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par de nouveaux concepts, celui du « stress oxydant » incriminé dans diverses maladies. C'est ce qui a conduit selon la même source à un engouement pour les produits naturels et au développement d'extraits végétaux à usage antioxydant.

Les polyphénols sont en effet doués de multiples vertus thérapeutiques, ils jouent un rôle très important, principalement, dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique. Expliquant de ce fait leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments. Ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes (surtout fongiques) risquant de causer la perte d'une grande quantité de végétation (BRUNETON, 1999).

Le continent africain est un des continents doté de la plus riche biodiversité dans le monde. En effet, certaines espèces de cactus ont fait l'objet de nombreuses recherches scientifiques depuis plusieurs décennies. C'est notamment le cas du figuier de Barbarie, cactus appartenant au genre *Opuntia*, qui renferme de multiples propriétés médicinales qui s'avèrent efficaces pour lutter contre bon nombre de pathologies dont le diabète de type II, l'adénome

prostatique, les ulcères gastroduodénaux et même certains types de cancer dont il ralentirait la progression.

De nombreux chercheurs se sont penchés sur l'étude phytochimique de cette espèce tels que : LEE *et al.*, 2002 ; CHAALAL *et al.*, 2012 ; ALIMI *et al.*, 2013 ; ABD EL-HAMEED *et al.*, 2014 ; ENNOURI *et al.*, 2014 ; YEDDES *et al.*, 2014 ; KOUBAA *et al.*, 2015 et MABROUKI *et al.*, 2015. Ces derniers ont révélé la présence de polyphénols, flavonoïdes, tanins et huiles essentielles, qui confèrent à cette plante de nombreuses propriétés biologiques. C'est pour cela qu'il nous a semblé intéressant d'inscrire notre travail dans cette optique de recherche.

Notre objectif pour ce faire est d'extraire les molécules bioactives, en l'occurrence les composés phénoliques des différents extraits aqueux et organiques (à l'éthanol) des figes de barbarie, en déterminer la concentration et évaluer leurs activités antioxydante et antimicrobienne vis-à-vis de certaines souches microbiennes impliquées dans diverses infections humaines.

PARTIE I

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1

Généralités sur les composés
phénoliques

1 Chapitre I : Généralités sur les composés phénoliques

1.1 Généralités

BRUNETON (1999) définit les composés phénoliques (CP) comme étant des molécules du métabolisme secondaire spécifiques du règne végétal, ce qui d'après BELKHIRI (2009) signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales dans l'organisme végétal, comme la croissance ou la reproduction. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (figure 1), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (MACHEIX *et al.*, 2006).

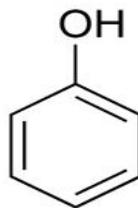


Figure 1 : Structure du noyau phénol (MACHEIX *et al.*, 2006).

Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement (BRUNETON, 1999 ; MACHEIX *et al.*, 2006), allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que, les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins (AKOWAUH *et al.*, 2004). TAO et LAMBERT (2014) rapportent qu'à l'heure actuelle, plus de 8000 molécules ont été isolées et identifiées et font selon MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA (2002) partie intégrante de l'alimentation humaine et animale.

D'après GRESELLE *et al.* (2011), ils sont présents dans les vacuoles des tissus, participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques ou abiotiques (pathogènes, rayonnement UV...) et contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme et amertume), d'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales (MACHEIX *et al.*, 2005). Leur répartition tant qualitative que quantitative dans la plante varie selon les espèces, les organes, les tissus ou encore les différents stades de développement (GRESELLE *et al.*, 2011).

1.2 Principales sources alimentaires

Les polyphénols sont répartis de façon ubiquitaire dans les fruits et les légumes qui en constituent les principales sources alimentaires, avec de fortes variations selon les espèces. Ainsi, la concentration en polyphénols totaux peut varier de 140 mg/kg de poids frais (PF) pour la pomme de terre à 5,5 g/kg de PF pour la cerise (SCALBERT *et al.*, 2005).

Le tableau ci-dessous regroupe les principales sources alimentaires des polyphénols.

Tableau I : Tableau récapitulatif des principales sources alimentaires des polyphénols

Classe de polyphénols	Sources alimentaires	Références bibliographiques
Les stilbènes	<ul style="list-style-type: none"> - le raisin et son jus ; - les baies, le chou rouge, les épinards et certaines plantes médicinales ; - les cacahuètes et le beurre de cacahuètes ; - vin rouge. 	(CASSIDY <i>et al.</i> , 2000). (CROZIER <i>et al.</i> , 2009).
Les flavones	<ul style="list-style-type: none"> - persil, céleri et le poivron rouge ; - les glycosides de flavones sont également présents dans les céréales (mil, blé) ; - sous forme glucuronidée, la lutéoline 7- diglucuronide est présente dans l'infusé de verveine odorante ; - la peau des agrumes ; - des huiles essentielles (huile essentielle de mandarine). 	(MANACH <i>et al.</i> , 2004).
Les flavonols	<ul style="list-style-type: none"> - l'oignon, le chou frisé, le poireau, le vin rouge, le thé noir et le thé vert. 	(MANACH <i>et al.</i> , 2004).
Les flavanones	<ul style="list-style-type: none"> - les rutinosides de flavanones dans les citrons, les mandarines, les oranges ; - les pamplemousses et les oranges amères ; - les glycosides de flavanones dans le jus d'orange ; - la tomate et certaines plantes aromatiques comme la menthe. 	(TOMAS-BARBERAN et CLIFFORD, 2000).

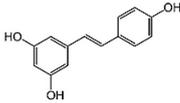
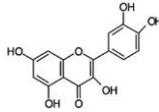
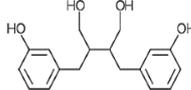
Isoflavones	- soja (les graines, la farine, le lait de soja) ; - le processus de fermentation hydrolysant les glycosides, ces composés seront principalement retrouvés sous forme d'aglycones stables dans ces aliments.	(CASSIDY <i>et al.</i> , 2000).
Chalconesdihydro-chalcones	- la tomate (la peau, le ketchup) ; - la pomme (peau, chair et pépins).	(BRUNETON, 2009).
(épi) cathéchine	- l'abricot et la cerise, les pêches, les prunes, les fraises, les pommes et les poires ; - le chocolat ; - le thé vert ;	D'ARCHIVIO <i>et al.</i> , 2007).
Proanthocyanidines	- le raisin, les pêches, les kakis ou les pommes ; - le vin, le cidre, le thé et la bière.	(SANTOS-BUELGA et SCALBERT, 2000). (GERHAUSER, 2008).
Les anthocyanes	- baies comme le cassis ou les mures ; - fruits rouges comme les myrtilles, fraise ou la cerise ; - les vins.	(MANACH <i>et al.</i> , 2004).
Les lignanes	- graines de lin ; - céréales (le triticale et le blé) ; - fruits (les poires et les prunes) ; - certains légumes (ail, asperge et carottes) ; - légumineuses comme les lentilles.	ADLERCREUTZ et MAZUR, 1997).

1.3 Classification des composés phénoliques

MOTILVA *et al.* (2013) expliquent qu'il n'existe pas de classification universelle de polyphénols. Par contre, selon DUFOUR et DANGLES (2005), la classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes que le tableau II met bien en évidence.

Tableau II : Les principales classes des composés phénoliques (BRUNETON, 2009)

Nbr carbone	Squelette de base	Classe	Exemples	Structures de base	Plantes
6	C ₆	Phénols simples	Catéchol, hydroquinone		Busserole
7	C ₆ -C ₁	Acides Phénols benzoïques	Acide gallique, Acide salysalique, Vanilline		Artichaut Saule
8	C ₆ -C ₂	Acétophénones	3-acétyl- Méthoxybenzaldehyde Gallacetophénone	/	Saule
8	C ₆ -C ₂	Acide phénylacétique	Acide phydroxyphenylacétique	/	/
9	C ₆ -C ₃	Acide hydroxycinamique	Acide coumarique, Acide caféique		Romarin Marronnier d'inde
9	C ₆ -C ₃	Coumarines	Esculétine		Carotte Coriandre
10	C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Shikonine		Drosera spp
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Bellidifoline, Mangocétine	/	Racine de gentiane, Centaurée

14	$C_6-C_2-C_6$	Stilbènes	Hydrangénol, Pinosylvine		Raisin, pin
15	$C_6-C_3-C_6$	Flavonoïdes Isoflavonoïdes	Quercétine Roténoïde		Ginkgo Thym Camomille
18	$(C_6-C_3)_2$	Lignanes	Matairésinol		Chardon
30	$(C_6-C_3-C_6)_2$	Bi flavonoïdes	Amentoflavone Hinokiflavone	/	Carcinia Hypericum
N	$(C_6-C_3-C_6)_n$	Tanins condensés proanthocyanidols	Aesculitanins	/	Marronnier d'inde, vigne

1.3.1 Polyphénols simples.

1.3.1.1 Les acides phénoliques

Selon BELYAGOUBI-BENHAMMOU (2011), le terme acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique ils sont incolores et plutôt rares dans la nature (HASLAM, 1994).

1.3.1.1.1 Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque ($C_6 - C_1$)

Cette catégorie est abondante dans les végétaux et les aliments, notamment les épices, les fraises, certains fruits rouges et l'oignon dans lesquels les concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de fruits frais (figure 2) (MACHEIX *et al.*, 2006 ; LU *et al.*, 2008).

	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
OH	H	H	OH	Acide gentisique	

Figure 2 : Principaux acides hydroxybenzoïques (SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006)

1.3.1.1.2 Dérivés de l’acide hydroxycinnamique (C₆-C₃)

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base C₆-C₃ dérive de celle de l’acide cinnamique. Le degré d’hydroxylation du cycle benzénique et son éventuelle modification par des réactions secondaires sont un des éléments importants de la réactivité chimique de ces molécules (figure 3) (MACHEIX *et al.*, 2005).

	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique	

Figure 3 : Principaux acides hydroxycinnamiques (SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006)

a) Les coumarines

Présentes dans de nombreux végétaux, les coumarines ont une structure de base (C₆- C₃) dérivant des acides hydroxycinnamique par cyclisation interne de la chaîne latérale. Elles sont produites en grande quantité en réponse à une attaque biotique ou abiotique et semblent constituer un moyen de défense de type phytoalexique (COLLIN *et al.*, 2011). D’après la même source ces composés sont connus pour leurs propriétés anti-coagulantes. Dans la cellule, les coumarines sont principalement présentes sous forme glycosylée. Cette glycosylation serait une forme de stockage permettant d’éviter les effets toxiques des coumarines sur la cellule et la croissance.

b) Les stilbènes

D'après PERRET (2001), les stilbènes (figure 4) sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison. Les membres de cette famille possèdent la structure C₆-C₂-C₆ comme les flavonoïdes, ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux (CROZIER *et al.*, 2009).

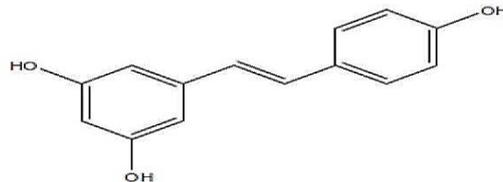


Figure 4 : Structure chimique d'un Stilbène (BAHAZ et RACHDI, 2010).

1.3.1.2 Les flavonoïdes

D'après (PIQUEMAL, 2008), le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange, cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus ; (flavus = jaune) (MALEŠEV et KUNTIĆ, 2007).

Selon STOCKIGT *et al.* (2002) c'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques, ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres, on dénombre près de 6500 flavonoïdes répartis en 12 classes et leur nombre ne cesse d'accroître. D'après (BRUNETON, 2009 ; COLLIN *et al.*, 2011), ils interviennent dans la pigmentation des fleurs et dans les processus de défense contre le rayonnement UV et les attaques microbiennes

Structuralement les flavonoïdes ont un squelette de base commun constitué de 15 atomes de carbone assemblés en trois cycles nommés A, B et C (Figure 5) (GRAHAM, 1998).

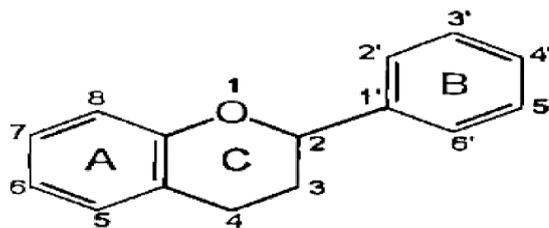


Figure 5 : Structure chimique de base des flavonoïdes (KRISHNA *et al.*, 2001).

D'après le même auteur, la structure du cycle intermédiaire (cycle C), les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les flavan-3-ols et les flavan-3,4 diols (figure 6).

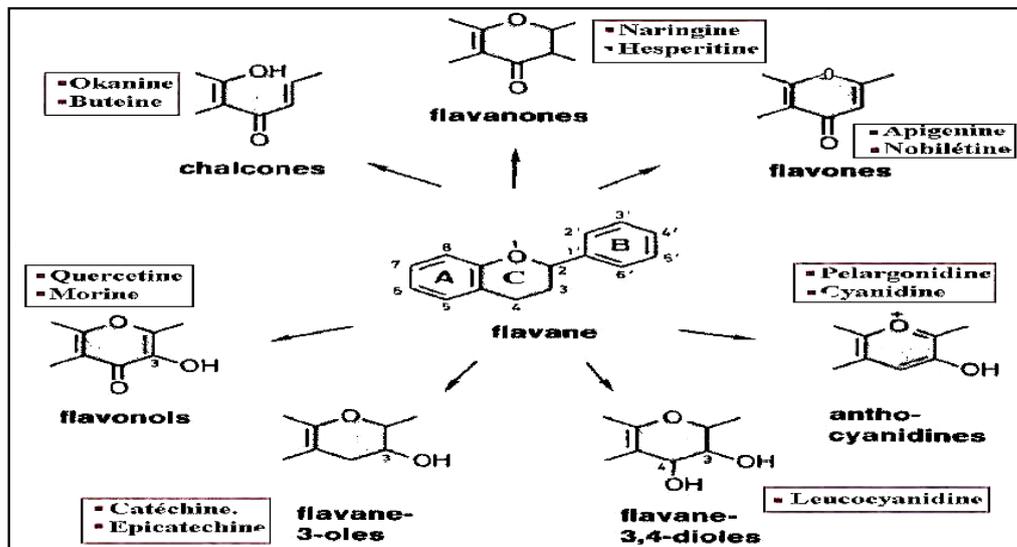


Figure 6 : Les différents types de flavonoïdes à partir du squelette flavane. (LOUIS, 2004).

1.3.1.3 Alcools phénoliques

LEDERER et LEIPZIG-PAGANI (1996) ; PIEL *et al.* (2004) ; MACHEIX *et al.* (2006) ; JULLIAN *et al.* (2007) et ALTIOK *et al.* (2008) ont défini l'alcool phénolique comme étant un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. Le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) et hydroxytyrosol (3,4 dihydroxyphenylethanol) (Figure 7) sont les principales molécules de cette classe. Ces composés sont très abondants dans l'olive (fruit et feuille), libres ou associés à l'acide élénolique.

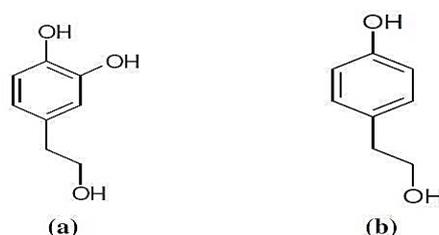


Figure 7 : Structures de l'hydroxytyrosol (a) et du tyrosol (b) (MALPEZZI *et al.*, 2004).

1.3.2 Polyphénols complexes

1.3.2.1 Tanins

D'après KAMRA *et al.* (2006) les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da, et représentent une

classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles (YAO *et al.*, 2004 ; YAO *et al.*, 2010). GHESTEM *et al.* (2008) expliquent qu'ils sont très répandus dans le règne végétal, mais qu'ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les Conifères, les Fagacées, les Rosacées.

Selon KHANBABAE et REE (2001), ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les grains. En général, ils sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule.

- a) **Tanins hydrolysables** : D'après LEINMÜLLER *et al.* (1991), ce sont des hétéro polymères possédant un noyau central constitué d'un polyol, il s'agit souvent d'un D-glucose ; comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase), pour donner des glucides et des acides phénoliques.
- b) **Tanins condensés** : YAO *et al.* (2004) ; YAO *et al.* (2010) expliquent qu'ils sont dénommés aussi tanins catéchiques ou proanthocyanidines, et diffèrent fondamentalement des tanins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Contrairement aux tanins hydrolysables, ils sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader

1.3.2.2 Lignines et subérines

Ce sont des précurseurs de polymères pariétaux des plantes constituant des facteurs de défense contre les agents pathogènes. Ce sont des polymères tridimensionnels résultant de la condensation de trois alcools phénylpropéniques (BRUNETON, 2009).

1.4 Principales voies de biosynthèse des composés phénoliques

Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies biosynthétiques (Figure 8) :

- a) La voie de l'acide shikimique, qui est la voie la plus importante pour la biosynthèse des composés aromatiques dans les plantes et les micro-organismes, y compris les acides aminés aromatiques : la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane. Ce sont des métabolites primaires qui servent de précurseurs pour de nombreux produits naturels (secondaires) tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, les alcaloïdes... (GHASEMZADEH A. et GHASEMZADEH N., 2011).

- b) La voie de l'acide acétique, conduit à des poly- β -cétosters (polyacétates) de longueur variable, qui engendrent par cyclisation ou condensation, des composés souvent polycycliques : les flavonoïdes et les tanins condensés (BRUNETON, 2009).

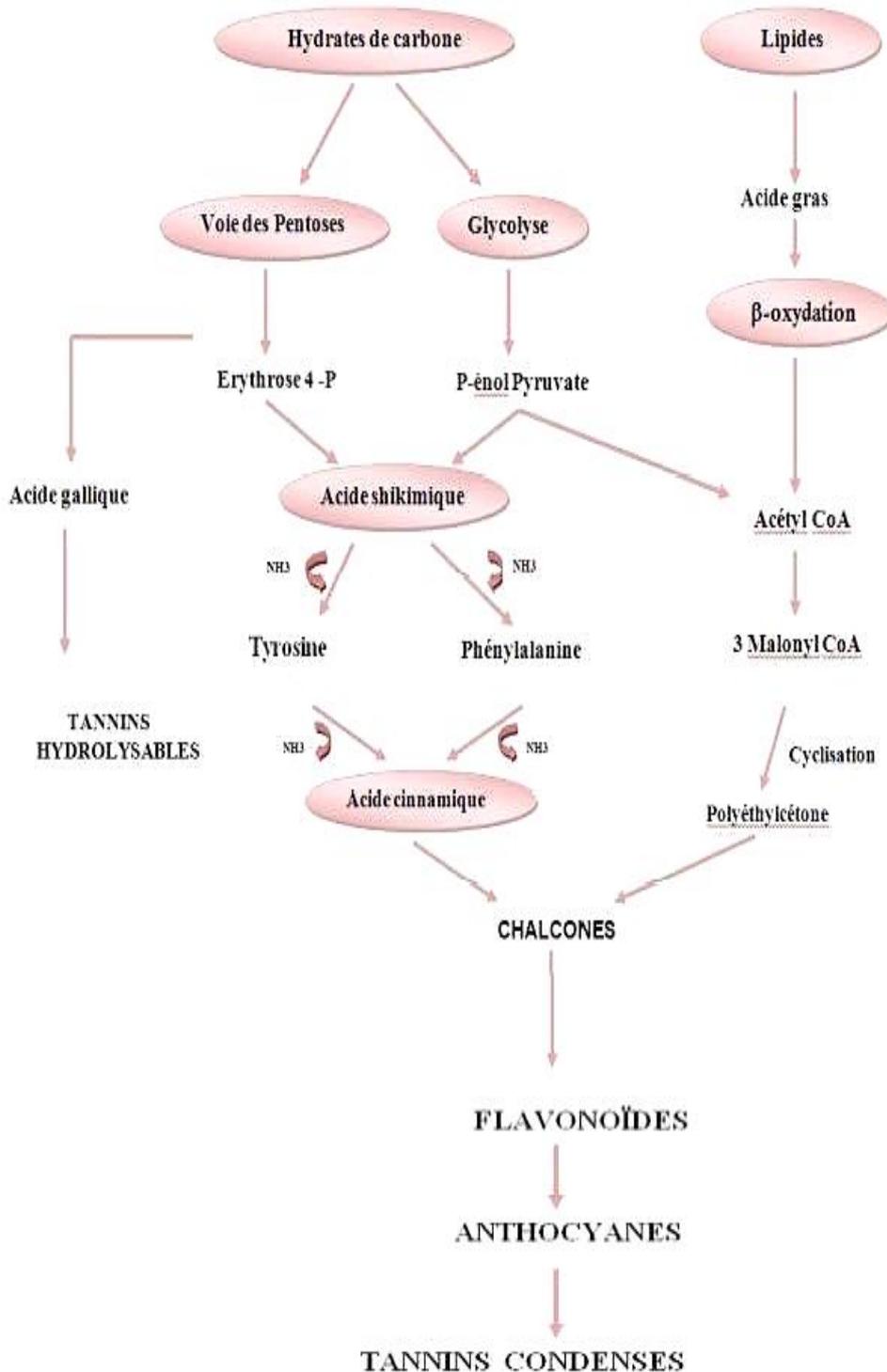


Figure 8 : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (BRUNETON, 2009).

1.5 Intérêts et propriétés biologiques des polyphénols

1.5.1 Intérêts des polyphénols

a) Chez les végétaux

D'après MACHEIX *et al.* (2005) ; RENAULT-ROGER *et al.* (2008) ; BIDEL *et al.* (2011), les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV).

b) Chez l'Homme

MACHEIX *et al.* (2005) ainsi que WATSON *et al.* (2013) expliquent que le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes, c'est pour quoi, selon MIDDLETON *et al.* (2000) et KSOURI *et al.* (2007), les recherches récentes sur les composés phénoliques en général et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques. Les effets biologiques de quelques composés polyphénols sont récapitulés dans le tableau III.

Tableau III : Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme

Polyphénols	Activités biologiques	Références bibliographiques
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes, anti-ulcéreuses,	(SANNOMIYA <i>et al.</i> , 2005)
	Antiparasitaires, antifongiques, Antioxydantes.	(GURBUZ <i>et al.</i> , 2009)
Coumarines	Protectrices vasculaires, antiinflammatoires, anti parasitaires	(ITO <i>et al.</i> , 2005)
	analgésiques et anti oedémateuses	(SMYTH <i>et al.</i> , 2009)
Flavonoïdes	Antitumorales, antiparasitaires, vaso, dilatoires, antibactériennes, anti carcinogènes, anti-inflammatoires,	(WOLGAST et ANKLAM, 2000)
	analgésiques, hypotenseurs,	(SHON <i>et al.</i> , 2004)
	antivirales, diurétiques, ostéogène, antioxydantes, anti-atherogéniques,	(TRIPOLI <i>et al.</i> , 2007)
	antithrombotique, anti-allergique	(HITARA <i>et al.</i> , 2009)

Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux, antioxydant	(BRUNETON, 1993 ; HENNEBELLE <i>et al.</i> , 2007 ; HABAUZIT et HORCAJADA, 2008 ; BONDIA-PONS <i>et al.</i> , 2009 ; GRESELLE <i>et al.</i> , 2011)
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydantes, antitumorales, antifongiques et anti-inflammatoires	(MASQUELIER <i>et al.</i> , 1979)
Tannins galliques et catéchique	Antioxydantes	(HENNEBELLE <i>et al.</i> , 2007 ; HABAUZIT et HORCAJADA, 2008 ; BONDIA-PONS <i>et al.</i> , 2009 ; GRESELLE <i>et al.</i> , 2011)
Lignanes	Anti-inflammatoires, analgésiques.	(KIM <i>et al.</i> , 2009)

c) En industrie

Compte-tenu du large éventail d'activités biologiques qu'ils présentent, les polyphénols ont été exploités et trouvent des applications dans de nombreux domaines industriels tels l'industrie agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique.

D'après DAGLIA (2012), il est désormais possible, grâce aux propriétés antimicrobiennes de certains polyphénols comme les flavan-3-ols, les flavanols et les tanins, de développer des conservateurs alimentaires et de nouvelles thérapies dans de nombreuses maladies infectieuses en considérant la résistance microbienne face à certains traitements antibiotiques.

En effet, la capacité antioxydante de composés comme les polyphénols est utilisée dans l'alimentation pour lutter contre la peroxydation lipidique et ainsi permettre une meilleure stabilisation des denrées alimentaires (MOURE *et al.*, 2001). Selon le même auteur, les polyphénols sont également préconisés pour améliorer la stabilité de pigments de jus colorés et d'arômes alimentaires.

PELLI et LYLY (2003) rapportent que les polyphénols sont également destinés pour les applications cosmétiques : rendus lipophiles par estérification avec des acides gras, les polyphénols dérivés, libérés par action des estérases, pénètrent l'épiderme où ils exercent l'activité antioxydante et piègent les radicaux libres. Les polyphénols du cacao sont concentrés en un extrait à 85 % pour des applications cosmétiques.

1.5.2 Propriétés biologiques des polyphénols

1.5.2.1 Activité antimicrobienne

Selon TIM et ANDREW (2005), il a été rapporté que les extraits de plantes et beaucoup d'autres préparations phytochimiques riches en flavonoïdes ont possédé une activité antimicrobienne. Grâce à leur structure caractérisée par la présence de groupe phénolique, et d'autres fonctions chimiques, les flavonoïdes sont considérés comme étant de très bons agents antimicrobiens (HARBONE et WILLIAM, 2000).

De nombreuses études ont rapporté les activités antimicrobiennes des CP :

- Il a été rapporté par YAKHLEF *et al.* (2011) que les extraits bruts de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis* ont témoigné une forte activité antimicrobienne vis-à-vis de souches multirésistantes aux antibiotiques. Leur effet inhibiteur sur la levure *Candida albicans* est spectaculaire, il est beaucoup plus important que celui de la nystatine (antifongique) ;
- BASLI *et al.* (2012), dans leur étude ont démontré que tous les flavonoïdes d'*Origanum glandulosum* ont un effet inhibiteur plus prononcé sur les bactéries Gram positif que sur les Gram négatif.
- les tanins extraits des feuilles de *Marrubium vulgare L.* semblent posséder un pouvoir antibactérien important sur les germes responsables des maladies infectieuses (DJAHRA *et al.*, 2013) ;
- l'étude faite par GHAZI *et al.* (2015), a mis en évidence une activité antifongique des extraits bruts d'*Artemisia mesatlantica* sur différents souches de *Candida albicans* ;
- une activité antifongique des extraits de *Punica granatum* Linn sur *Candida albicans* et *Rhodotorula spp.* a été démontrée par KANOUN *et al.* (2016) ;
- il a été montré que les catéchines des feuilles du thé inhibent la croissance de microorganismes en altérant des fonctions membranaires des pathogènes, les détruisant à plus ou moins long terme (MORAND, 2013).

Le mécanisme d'action des polyphénols est sans doute très complexe, parmi les hypothèses avancées :

- l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes ;
- la séquestration du substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer ;
- l'inhibition du métabolisme microbien (MILA et SCALBERT, 1994).

1.5.2.2 Activité antivirale

La stratégie de recherche d'un composé antiviral consiste à mesurer la réduction de l'infection virale des cellules en culture, une substance peut donc agir à différents niveaux du cycle viral :

- au niveau de l'adsorption du virus sur la cellule hôte ;
- au niveau de la pénétration du virus dans la cellule hôte ;
- au niveau de la de réplication du virus et la synthèse des protéines virales ;
- au niveau de l'assemblage et de la sortie du virus hors de la cellule hôte (HARRAR, 2012).

A titre d'exemple, le jus de grenade contient des inhibiteurs d'entrée du HIV-1 qui peuvent être isolés par adsorption sur de l'amidon de maïs. L'étude de ce complexe montre qu'il bloque la liaison du virus avec certains récepteurs cellulaires. L'extrait de grenade pourrait donc être utilisé pour la production d'un microbicide efficace et bon marché (NEURATH *et al.*, 2004).

D'après BYLKA *et al.* (2004), l'activité antivirale des flavonoïdes contre le HIV peut être directement liée, suite à leurs effets sur les enzymes responsables de sa réplication (HIV-1 reverse transcriptase ou HIV-1 integrase). TAPAS *et al.* (2008) ont rapporté que la quercétine, l'apigénine, la catéchine et l'hespéridine sont parmi les flavonoïdes caractérisés par leurs propriétés antivirales contre onze types de virus.

1.5.2.3 Activité antioxydante

Les antioxydants d'origine alimentaire contribuent vraisemblablement à la défense de l'organisme contre le stress oxydant et ses conséquences. A ce titre, les polyphénols, particulièrement abondants dans une alimentation riche en produits végétaux, pourraient jouer un rôle protecteur important (PELLI et LYLY, 2003 ; MEDART, 2009).

D'après BLOIS (1958) ; BRAND-WILLIAMS *et al.* (1995) et MAATAOUI *et al.* (2006), une étude marocaine évalue l'activité anti-oxydante des jus de fruits de figuier de barbarie, *in vitro*, par le test au DPPH•. Les résultats obtenus ont montré que les composés phénoliques, flavonoïdes et pigments de types bétalaines, possèdent des activités anti-radicalaires plus importantes que celle de la vitamine C. Les jus bruts présentent des activités plus élevées que celles des composés qui les constituent. Les jus issus de couleur pourpre

possèdent des activités anti-oxydantes plus élevées que ceux issus des fruits de couleur jaune orange (MAATAOUI *et al.*, 2006).

1.5.2.4 Activité anticancéreuse

PINCEMAIL *et al.* (1998) expliquent que le cancer se présente habituellement comme une tumeur formée d'une masse cellulaire qui est l'aboutissement d'une série de transformation pouvant se dérouler pendant plusieurs années, donc la cancérogénèse est un processus complexe multi-séquentiel menant une cellule de l'état sain à un état précancéreux et finalement à un stade précoce de cancer.

Depuis longtemps, on associe le cancer et le type d'alimentation, de nombreux chercheurs ont étudié le rôle des nutriments dans le développement des cancers. Plus récemment des recherches expérimentales suggèrent que les flavonoïdes sont parmi les substances susceptibles de retarder voire d'empêcher l'apparition de certains cancers, tout en réduisant d'une manière spécifique les risques d'en avoir chez les sujets humains (DECLOITRE, 1993 ; HERTOOG, 1996).

Les travaux réalisés par MAHMOUD *et al.* (2000) in DEPEINT *et al.* (2002) montraient que la curcumine permet de prévenir la formation des tumeurs spontanées induites génétiquement, ce même flavonoïde réduit l'apparition des tumeurs de la peau induites chimiquement. La quercétine et la rutine sont les deux flavonoïdes les plus conseillés pour prévenir l'apparition du cancer de l'appareil gastro-intestinal tandis que l'apigénine avec la quercétine ont la capacité à inhiber la phase de métastase. Toutefois, CALTAGIRONE *et al.* (2000) in DEPEINT *et al.* (2002) signalaient que l'inhibition des différents stades de développement de cancer est plutôt assurée par tous les flavonoïdes.

L'activité anticancéreuse des flavonoïdes est assurée par l'intervention de plusieurs mécanismes :

- Piégeage des radicaux libres ;
- Inhibition du métabolisme d'acide arachidonique ;
- Formation d'un complexe inactif avec le carcinogène (HERTOOG, 1996).
- Prévention de l'activation des métabolites carcinogènes ;
- Inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses ;

- Arrêt du cycle cellulaire des cellules cancéreuses ;
- Induction de l'apoptose ;
- Inhibition des processus d'angiogenèse (REN *et al.*, 2003).

CHAPITRE 2

Stress Oxydatif

2 Chapitre II : Stress oxydatif

2.1 Stress oxydatif

MORELLE et ISRAEL (2003) définissent le stress oxydatif comme étant un état au cours duquel les substances oxydantes interviennent sur la capacité de défense antioxydative de la cellule. Conséquemment, il peut s'en suivre un déséquilibre induit non seulement par une production excessive de radicaux libres mais aussi par une diminution de défenses antioxydantes ; on parle alors de stress oxydant à l'origine bien souvent d'altérations moléculaires source d'une physiopathologie incluant l'athérosclérose, l'inflammation, la fibrose, la dégénérescence neuronale... (BAUDIN, 2006).

2.2 Définition d'un radical libre

LESGARDS (2000) explique que l'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques : les radicaux libres organiques.

MORELLE et ISRAEL (2003) ont défini les radicaux libres comme étant des particules chimiques (molécules ou atomes) ayant un électron non apparié dans leur périphérie. Cet électron cherchera à se lier avec un autre électron, en s'arrachant à une autre molécule qui devient alors déséquilibrée donc instable. Selon les mêmes auteurs, un tel mécanisme peut enclencher une réaction en chaîne conduisant à la dégradation des molécules et à leur désintégration en plus petites molécules.

Cependant, PEYNET *et al.* in DELATTRE *et al.* (2005) ont rapporté qu'ils jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire ; la phagocytose et la communication cellulaire. Selon ANDERSON *et al.* (1996), bien que le terme de radical libre ait souvent été assimilé à une espèce réactive ou un oxydant, il est important de signaler que tous les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même que tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres.

2.3 Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Notre organisme a besoin d'énergie pour fonctionner correctement. Les cellules transforment les nutriments apportés par l'alimentation en énergie et en eau. Cette transformation génère environ 2% de molécules d'oxygène (EDEAS, 2005).

D'après HYNES et O'COINCEANAINN (2004), nos cellules convertissent une faible partie d'O₂ en métabolites potentiellement toxiques : les espèces réactives de l'oxygène (ERO).

Selon NOVELLI (1997), l'appellation « espèces réactives de l'oxygène » (ERO) se rapporte aux radicaux libres de l'oxygène (radicaux primaires) :

- Radical superoxyde ($\bullet\text{O}_2^-$) ;
- Radical hydroxyl ($\bullet\text{OH}$)

Il existe d'autres radicaux appelés « secondaires » et pouvant être retrouvés dans les espèces biologiques. Il s'agit en particulier :

- Des radicaux alkyle ($\text{R}\bullet$) ;
- alkoxy ($\text{RO}\bullet$) ;
- alkyle peroxy ($\text{ROO}\bullet$).

LINARD *et al.* (1976) rapportent qu'il existe plusieurs types d'ERO, radicalaires ou non-radicalaires (tableau IV).

Tableau IV : Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote selon VALKO *et al.* (2007).

Radicaux libres	Non radicaux libres
Superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$)	Oxygène singulet ($^1\text{O}_2$)
Radical Hydroxyle ($\text{OH}\bullet$)	Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)
Monoxyde d'azote ($\text{NO}\bullet$)	Ozone (O_3)
Dioxyde d'azote ($\text{NO}_2\bullet$)	Acide hypochloreux (HOCl)
Peroxyde, alkoxy ($\text{ROO}\bullet, \text{RO}\bullet$)	Peroxynitrite (ONOO^-)
Peroxyde lipidique ($\text{LOO}\bullet$)	Peroxyde lipidique (LOOH)

2.4 Principales sources des ERO

Il a été rapporté par HALLIWELL et GUETTERRIDGE (1989) que les espèces radicalaires sont naturellement synthétisées dans les organismes vivants. Cette synthèse peut être morbide et elle va généralement de pair avec le métabolisme cellulaire de l'oxygène ainsi que les réactions d'oxydoréduction ; en outre elle est susceptible de s'avérer endogène ou exogène (Figure 9).

Selon SUMAYA-MARTINEZ (2004), l'environnement et le mode de vie sont également responsables de la création et de l'accumulation de radicaux libres dans l'organisme. Ces facteurs environnementaux incluant des agents cancérigènes non génotoxiques peuvent directement, ou indirectement, être impliqués dans la génération de radicaux libres

(xénobiotiques, activation des leucocytes.). Les rayonnements UV induisent la synthèse de $O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , O_2 et $d'H_2O_2$.

L'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO_2) présents dans notre mode de vie (tabagisme, radiations ionisantes, champs électriques, polluants industriels..), ainsi qu'une alimentation chimique (raffinée, riche en graisses saturées et en sucre, consommation d'alcool...), sont autant d'éléments favorisant la genèse de radicaux libres (MENA *et al.*, 2009).

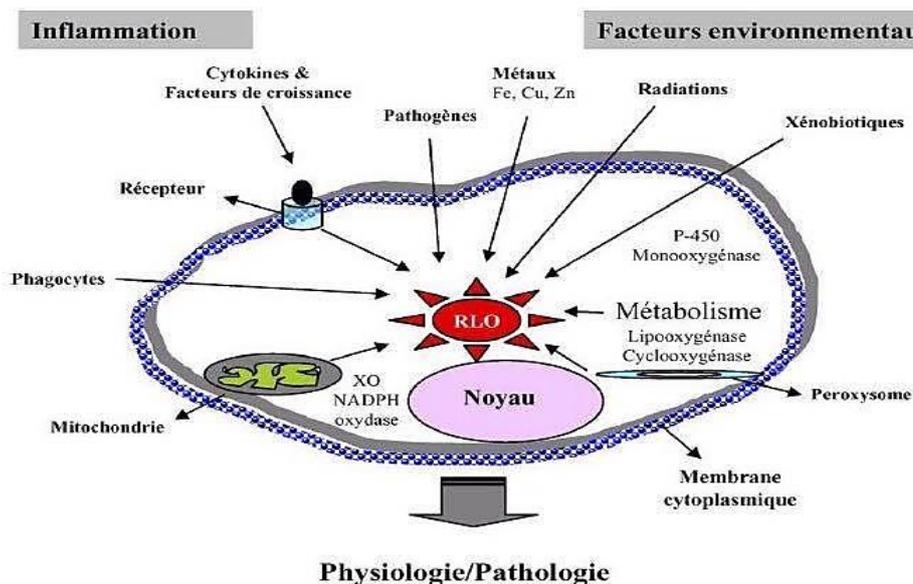


Figure 9 : Schéma représentant l'origine extra- et intracellulaire des radicaux libres oxygénés (RLO) (XO : xanthine oxydase ; P-450 : cytochrome P-450) (GHOSH et SCHEEPENS, 2009).

2.5 Cible des agents oxydants

D'après ALEXANDROVA et BOCHEV (2007) la rupture de l'équilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production des ERO entraîne des lésions biochimiques au niveau cellulaire du fait de leurs effets sur le plan moléculaire. Cette rupture peut être due soit à la surproduction des radicaux libres (oxydants) et/ou par un déficit en antioxydants.

2.5.1 Les lipides

Pour cause de stress oxydatif, certains radicaux deviennent tellement incontrôlables qu'ils risquent d'attaquer les cibles cellulaires, sans discernement sommes-nous tentés d'ajouter. Ces particules au demeurant très réactives provoquent la peroxydation des lipides membranaires, endommageant du coup la perméabilité des membranes ainsi que la structure

des lipoprotéines. De plus, les radicaux libres provoquent aussi une augmentation de la perméabilité cellulaire en la rendant moins flexible (VERGELY et ROCHETTE, 2003).

2.5.2 Les protéines

VERGELY et ROCHETTE (2003) expliquent que l'électron libre des radicaux libres peut réagir avec la structure de certaines protéines, celles notamment qui sont dotées d'un groupement sulfhydryle (-SH). Il peut s'agir par exemple de nombreuses enzymes cellulaires et des protéines de transfert qui vont alors subir une oxydation, le résultat étant soit la formation de ponts entre protéines, soit simplement une désagrégation. Ces réactions peuvent finalement modifier très sensiblement le métabolisme cellulaire en changeant la fonction biologique de ces protéines.

2.5.3 L'acide désoxyribonucléique (ADN)

VERGELY et ROCHETTE (2003) ont rapporté que les acides nucléiques sont très sensibles aux radicaux libres et que l'action de ces derniers dans la molécule d'ADN peut entraîner des disjonctions de brins et des mutations ponctuelles. Ces altérations risquent d'affecter le processus de synthèse des protéines et de transmission du patrimoine génétique dans son ensemble.

Ces derniers temps, l'action nuisible des radicaux libres sur les acides nucléiques est souvent incriminée dans de nombreux troubles pathologiques : cancers, maladies cardiovasculaires, maladie de Parkinson etc. (MORELLE et ISRAEL, 2003).

2.6 Maladies engendrées par le stress oxydant

Selon NEGRE-SALVAYRE et SALVAYRE (2005), l'équilibre pro/antioxydants est primordial pour l'homéostasie de la cellule : une toxicité maximale favorise l'effet morbide du stress oxydant sur la cellule.

FAVIER (1997) et BAUDIN (2006) rapportent que d'innombrables maladies sont imputées au stress oxydant : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, vieillissement accéléré. Il est un des facteurs déterminant dans l'apparition de maladies plurifactorielles telles la maladie d'Alzheimer, Parkinson, diabète, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires.

2.7 Les antioxydants

D'après ANTOLOVICH *et al.* (2002), un antioxydant peut être défini comme toute substance, qui présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable d'atténuer l'oxydation de ce substrat. HALLIWELL (1990) rappelle que le terme de substrat oxydable inclut toutes sortes de molécules *in vivo*.

Selon VERGELY et ROCHETTE (2003), on distingue :

- 1) (selon leur cible et leur mécanisme d'action) : les antioxydants primaires et les antioxydants secondaires.
- 2) (selon leur origine) : les antioxydants naturels (synthétisés dans l'organisme ou amenés par l'alimentation) ou synthétiques.

2.8 Défenses antioxydantes

Au-delà de l'importance du dioxygène dans les processus vitaux (respiration par exemple) des milieux biologiques, cette molécule peut s'avérer dangereuse par ses dérivés activés lesquels sont physiologiquement inévitables. Néanmoins, cette toxicité est contrôlée par la présence de systèmes de défenses efficaces veillant à minorer la concentration en radicaux libres (VERGELY et ROCHETTE, 2003).

2.8.1 Antioxydants endogènes

2.8.1.1 Antioxydants enzymatiques

D'après MATES *et al.* (1999) et SHARMA *et al.* (2012), les principaux systèmes enzymatiques antioxydants (Figure 10) les plus efficaces chez l'homme ainsi que chez les plantes sont la superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase.

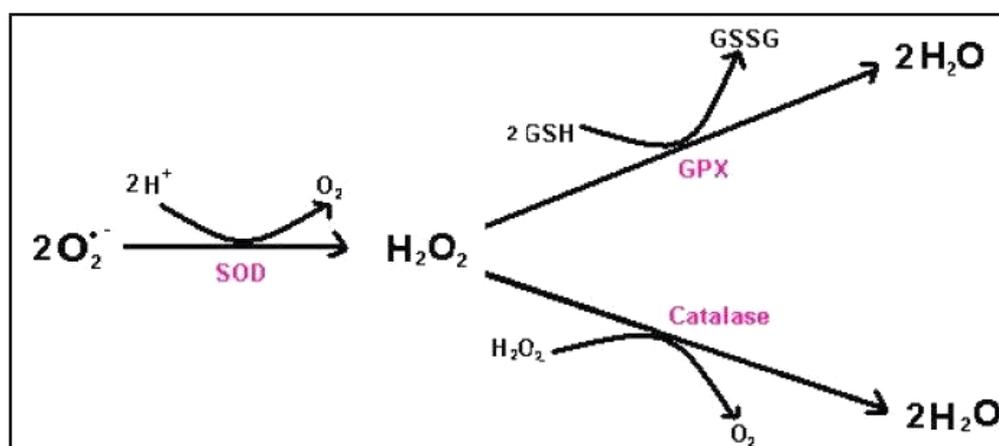


Figure 10 : Réaction de détoxification du radical-anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène (HENNEBELLE, 2006).

- Le rôle majeur du superoxyde dismutase ou SOD est de catalyser la dismutation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire.
- La catalase, essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes, est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire.

- L'activité du glutathion peroxydase, ou GPx, est de détoxifier le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes d'origine lipidique en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur (DELATTRE *et al.*, 2005).

2.8.1.2 Antioxydants non-enzymatiques

L'action protectrice enzymatique est renforcée par celle de différents composés réducteurs d'origine métabolique. Ces composés antioxydants sont produits dans les cellules de l'organisme et parmi lesquels on peut citer le glutathion, l'acide lipoïque, L-arginine, ubiquinone, l'acide urique, la mélatonine, la transferrine etc. (PHAM-HUY *et al.*, 2008).

De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion qui protège, non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le monoxyde d'azote (FAVIER, 2003).

2.8.2 Antioxydants exogènes

En plus des substances propres à l'organisme, l'alimentation et les plantes sont également d'importantes sources d'antioxydants (PHAM-HUY *et al.*, 2008 ; KALAM *et al.*, 2012). D'après LEGER (2006), les antioxydants d'origine alimentaire sont multiples :

- Certains sont liposolubles : tocophénols, β - carotène, lycopène ... ;
- d'autres sont hydrosolubles : acide ascorbique ;
- et d'autres sont plus hydrosolubles que liposolubles : polyphénols.

2.8.2.1 Tocophénols (Vitamine E)

La vitamine E appartient à la famille des tocophénols, molécules naturelles lipophiles, apportées par l'alimentation TOUSSAINT *et al.* (2003), et existe sous quatre formes α , β , γ et δ - tocophénols (CAUSSE, 2005).

D'après CAUSSE (2004), l'alpha-tocophérol est la forme majoritaire dans le sang humain. Mais le gamma-tocophérol est la forme que l'on trouve le plus souvent dans l'alimentation. Le même auteur a rapporté que cette vitamine est un antioxydant qui protège toutes les graisses du rancissement. Elle protège ainsi les membranes et notamment la paroi des vaisseaux sanguins diminuant ainsi le risque de maladies cardiovasculaires. Elle diminue aussi les inflammations en s'opposant à la production de composés inflammatoires ; elle fluidifie le sang et stimule l'immunité.

2.8.2.2 Acide ascorbique (Vitamine C)

VERGELY et ROCHETTE (2003) affirment que la vitamine C (ou acide ascorbique) est considérée presque à l'unanimité comme l'antioxydant hydrosoluble le plus efficace dans le plasma humain. D'après FAIN (2004), la vitamine C est sensible à la chaleur, aux ultraviolets et à l'oxygène. Après ingestion, elle passe rapidement dans le sang puis diffuse de façon variable dans tous les tissus. Un apport quotidien minimal d'origine alimentaire est donc nécessaire, celui-ci provient essentiellement des fruits et légumes frais.

La vitamine C est nécessaire pour de nombreuses fonctions physiologiques de la biologie humaine (NAIDU, 2003). CARR et FREI (1999) ainsi que CESARINI (2004) expliquent qu'elle est un antioxydant puissant hydrosoluble, capable de piéger / neutraliser à des concentrations très faibles les espèces réactives de l'oxygène. Selon HALLIWELL et GUETTERRIDGE (1986) et GREFF (2012) elle est un réducteur susceptible de limiter la peroxydation lipidique et intervient dans la régénération des autres antioxydants tels que les α -tocophénols.

2.8.2.3 Antioxydants phénoliques

Les composés phénoliques sont capables d'agir comme des antioxydants qui peuvent neutraliser les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène (LAUGHTON *et al.*, 1989 et APAK *et al.*, 2007). D'après MACHEIX *et al.* (2005), les sources les plus intéressantes sont les épices et les herbes aromatiques telles que le thym, le clou de girofle, le gingembre, le romarin et la sauge. On y relève des teneurs importantes en acides phénoliques (notamment en acide rosmarinique). Leurs huiles essentielles sont riches en monophénols et sont par ailleurs dotées de propriétés antiseptiques.

2.8.2.4 Sélénium

GREFF (2012) définit le sélénium comme un oligo-élément essentiel qui joue un rôle clé pour la santé de l'organisme, il est réputé pour son action antioxydante, indispensable à la protection des défenses naturelles de l'organisme. Il interviendrait également dans le processus de fabrication des hormones thyroïdiennes et jouerait, à cet effet, un rôle pour la santé de la glande thyroïde

CAUSSE (2005) rapporte que cet oligo-élément est plus efficace lorsqu'il est associé à d'autres antioxydants comme la vitamine E. L'étude NPC (Nutritional Prevention of Cancer) a montré qu'une supplémentation en sélénium réduit la mortalité par le cancer de 50%.

2.8.2.5 Zinc

Le zinc est un oligo-élément qui joue un rôle essentiel dans de nombreux processus vitaux : synthèse de l'ADN, coagulation sanguine, défenses immunitaires, croissance, régulation de l'humeur... (MEDART, 2009).

D'après GREFF (2012), le zinc exerce une action antioxydante par le biais de plusieurs mécanismes :

- il protège de l'oxydation les groupes sulfhydryls de certaines protéines (enzymes) ;
- il peut avoir un effet antioxydant direct en captant les radicaux OH● ;
- il a une action antioxydante directe en entrant en compétition avec le fer et le cuivre;
- il joue aussi un rôle fondamental dans la structure d'enzymes antioxydantes comme la superoxyde dismutase. Le zinc associé au cuivre fait partie du site actif de cette enzyme.

2.9 Mécanismes d'action d'un antioxydant

Les principaux mécanismes d'activité antioxydante (BOUZID *et al.*, 2011) sont :

- le piégeage direct des EOR ;
- l'inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydant et la chélation des traces métalliques responsables de la production des EOR ;
- la protection des systèmes de défense antioxydants.

CHAPITRE 3

Résistance aux antibiotiques

3 Chapitre III : Résistance aux antibiotiques

3.1 Généralités

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutanéomuqueux. Pour résister à ces micro-organismes de nombreux moyens sont mis en jeu (KAUFMANN, 1997). BILLING et SHERMAN (1998) rapportent que la thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques.

Les antibiotiques ont été la révolution du vingtième siècle pour le traitement des maladies infectieuses bactériennes. Ils sont indispensables et personne ne songerait à discuter leurs indications pour le traitement des infections (GASTMEIER-PETRA *et al.*, 2000). Selon CARBON (2000), les antibiotiques figurent parmi les médicaments les plus prescrits et constituent une des sources majeures de dépenses de santé liée aux médicaments. Leur utilisation a donc des incidences économiques qui dépassent largement la médecine humaine. En effet, on admet que 50% du tonnage antibiotique utilisé de par le monde sont liés aux prescriptions chez l'homme, les autres 50% étant liés à l'utilisation dans le domaine animal. S'agissant des prescriptions humaines, il est généralement admis que 20% sont liés à l'utilisation hospitalière, les 80% restants représentant les prescriptions dans la communauté.

Or, d'après GASTMEIER-PETRA *et al.* (2000) il est clair que leur facilité d'utilisation, l'habitude de traiter des maladies supposées infectieuses a conduit à la généralisation de l'usage des antibiotiques dans des circonstances cliniques qui ne se justifient pas. VANDAËLE (2012) explique bien que si l'utilisation d'antibiotique n'est pas le facteur déclenchant l'apparition des résistances, c'est bien elle qui permet de sélectionner les souches résistantes et qu'une utilisation bonne ou mauvaise est à l'origine de cette sélection et que les antibiotiques les plus utilisés présentent les plus grands taux de résistances.

3.2 Les antibiotiques des médicaments pas comme les autres.

3.2.1 Qu'est-ce qu'un antibiotique ?

En 1941, WAKSMAN, découvreur de la streptomycine, a proposé le mot antibiotique pour désigner toute substance produite par un micro-organisme et qui a le pouvoir d'inhiber la croissance d'autres micro-organismes et même de les détruire. Par extension, toute substance naturelle ou synthétique susceptible d'empêcher le développement des microorganismes est appelée antibiotique (MAZRI, 2015).

3.2.2 Classification et mécanismes d'action des antibiotiques

Les différents antibiotiques exploités en médecine thérapeutique peuvent être classés par famille chimique et par leurs modes d'action. Les cibles décrites jusqu'à présent sont la paroi, la membrane, l'acide nucléique et les ribosomes des micro-organismes que la figure 1 met bien en évidence (ABOYA-MOROH, 2013).

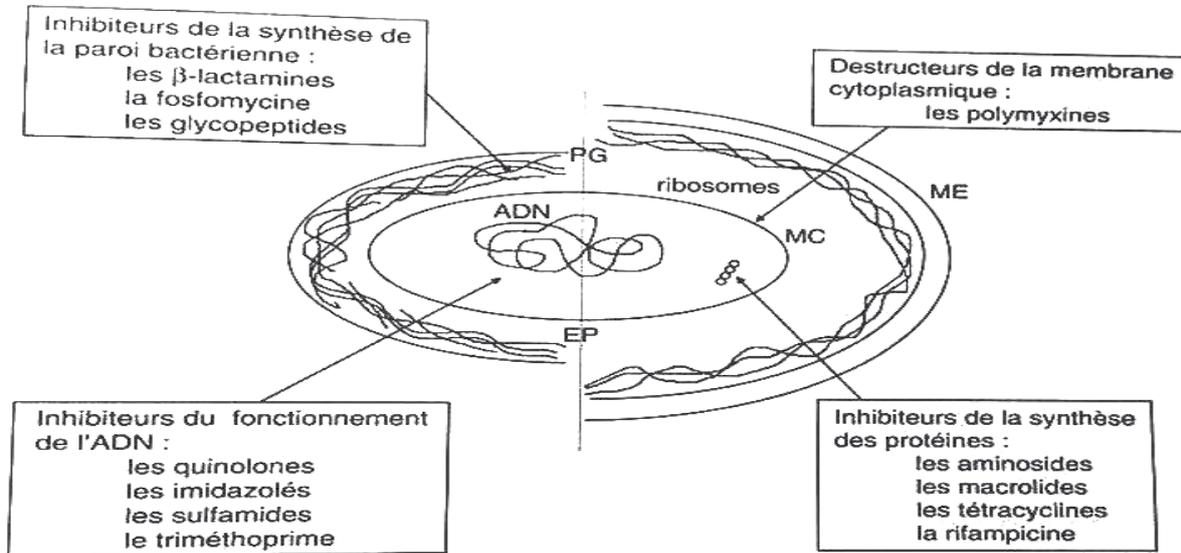


Figure 11 : Schéma représentatif des mécanismes d'action des principales familles d'antibiotiques sur une bactérie à Gram positif (gauche) et à Gram négatif (droite). EP : espace périplasmique ; ME : membrane externe ; MC : membrane cytoplasmique ; PG : peptidoglycane (TANDÉ, 2005 in : « GAUDY et BUXERAUD, 2005 »).

3.3 Résistance aux antibiotiques : le revers de la médaille.

3.3.1 Résistance bactérienne

De nombreux auteurs à savoir GARCIA-RUIZ *et al.*, 2008 ; KEMPF et ZEITOUNI, 2009, affirment que l'utilisation des antibiotiques conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes.

3.3.1.1 Notion de résistance

La résistance bactérienne aux antibiotiques est un phénomène aussi ancien que leur apparition. L'ANSM (2012), définit la résistance bactérienne comme étant la capacité des bactéries à résister aux effets des antibiotiques ou des biocides censés les contrôler ou les tuer.

L'ANSM (2012) explique alors que pour être efficace, un antibiotique doit pénétrer dans la bactérie sans y être détruit ni modifié mais doit aussi se fixer à sa cible et perturber ainsi

la physiologie bactérienne. Si l'une des conditions n'est pas remplie, l'antibiotique, même correctement administré, se révèle inefficace. Ce phénomène est appelé « résistance ».

TORTORA *et al.* (2011) suggèrent à leur tour qu'un micro-organisme est considéré résistant, lorsque sa concentration minimale inhibitrice CMI est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce.

3.3.1.2 Types de résistance

Comme indiqué précédemment, l'antibiorésistance est une réponse physiologique de la bactérie. Cette réponse peut donc être naturelle ou acquise au cours du temps.

3.3.1.2.1 Résistance naturelle

Certaines bactéries sont résistantes à des antibiotiques de manière innée. On parle de résistance « naturelle » (DEMORE *et al.*, 2012). La résistance naturelle ou intrinsèque d'une espèce ou d'un genre est une caractéristique innée, stable appartenant à l'ensemble des souches de cette espèce ou de ce genre. Elle est transmissible à la descendance car portée par le chromosome (transmission verticale) mais n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à une autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes) (FRENEY *et al.*, 2007), à ce titre, elles constituent un critère d'identification (DEMORE *et al.*, 2012).

3.3.1.2.2 Résistance acquise.

Plus inquiétante, la résistance acquise entraîne la résistance à un ou plusieurs antibiotiques auxquels la bactérie était sensible auparavant. Cette résistance peut survenir via une mutation (directement sur le chromosome bactérien) ou plus fréquemment par acquisition de matériel génétique mobile (plasmide, transposon, intégron ... etc) permettant dans les deux cas de contourner l'effet délétère de l'antibiotique (SCOTT, 2009).

Elle ne concerne que quelques souches d'une même espèce mais peut s'étendre à d'autres bactéries : sa fréquence varie dans le temps mais aussi dans l'espace (région, ville, hôpital ou même service). Elle constitue un marqueur épidémiologique (CALGAGNO et LACROIX, 2011).

3.3.1.3 Supports génétiques de la résistance acquise

Le cas qui nous intéresse ici est celui de la résistance acquise. Ces gènes de résistance peuvent provenir de chromosomes d'autres espèces, ou être portés par des éléments mobiles (transposons, plasmides, intégrons) et être acquis par conjugaison surtout, mais également par

transformation, transduction, transposition. L'acquisition de la résistance peut également être la conséquence d'une mutation chromosomique (CALGAGNO et LACROIX, 2011).

3.3.1.3.1 Résistance par mutation chromosomique

LAVIGNE *et al.* (2007) désigne la résistance par mutation chromosomique comme étant un évènement rare : il s'agit d'une mutation chromosomique occasionnant le remplacement d'une base de l'ADN par une autre et conférant une résistance spontanée à une famille d'antibiotique. Cette mutation aura pour conséquence la modification ou la perte d'un gène pouvant entraîner soit une modification de la perméabilité à un ou plusieurs antibiotiques, soit une modification de la cible pariétale ou intracellulaire de l'antibiotique (CALGAGNO et LACROIX, 2011). Il est cependant à noter que cet évènement est stable c'est-à-dire que cette résistance va passer aux générations suivantes de bactéries, donc à la descendance. On parle alors de transmission verticale.

3.3.1.3.2 Résistance par acquisition de gènes de résistance

D'après BAUDRY et BREZELLE (2006), il s'agit ici de la résistance par un gain d'ADN extra-chromosomique le plus souvent un plasmide. A travers ce mécanisme, on se trouve face à une facilité d'acquisition de résistance et même de multi-résistance contrairement à celle acquise par mutation d'ADN chromosomique. Ce mode d'acquisition de résistance peut se faire selon trois mécanismes différents dont la transduction (avec un bactériophage comme vecteur), la transformation (capture d'ADN par la bactérie) et la conjugaison (transfert de plasmide d'une bactérie à une autre qui peut être d'espèce différente). La figure 12 illustre différentes voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques.

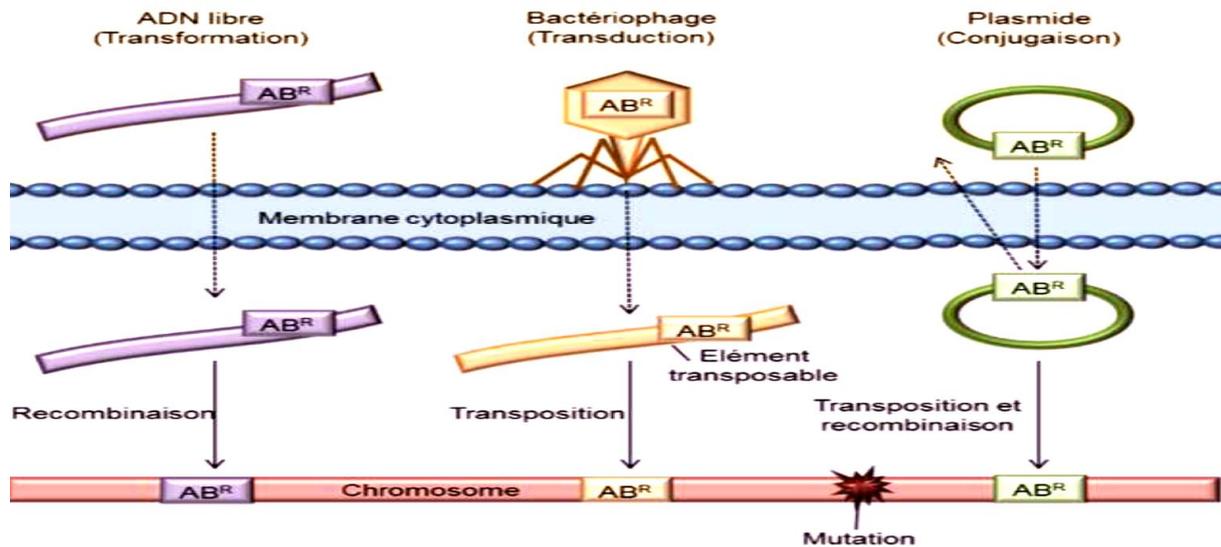


Figure 12 : Voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques
(ALEKSHUN et LEVY, 2007).

3.3.2 Résistance aux antifongiques

PFALLER (2012) rapporte que la résistance aux antifongiques continue à croître et à évoluer, compliquant ainsi la prise en charge des malades. Différents mécanismes de résistance aux antifongiques azolés peuvent coexister au sein d'un même isolat chez *Candida spp.* (COSTE *et al.*, 2007), les principaux sont : diminution de la concentration intracellulaire en antifongique, modification ou surproduction de la cible, contournement (by-pass) métabolique et altérations chromosomiques.

Parmi les stratégies proposées pour pallier à la résistance des champignons, on peut citer la recherche de nouvelles molécules, l'étude approfondie de la relation champignon-hôte et l'étude génomique. Ceci peut mettre en évidence de nouvelles possibilités de traitements, et permet par la même occasion la détection de nouvelles cibles (VANDEPUTTE *et al.*, 2011).

3.3.3 Résistance aux antiviraux

Pour les agents antiviraux, le traitement qui est déjà de longue durée crée un climat favorable pour le développement des résistances et conduit le plus souvent à l'échec des thérapies. Un moyen pour pallier à cette éventualité est la pratique de test de sensibilité avant la prescription des traitements ou lorsqu'on constate l'absence d'amélioration après l'administration d'un traitement donné. Une autre solution pour vaincre la résistance est l'association de plusieurs molécules antivirales efficaces et dirigées contre des cibles cellulaires différentes.

Ces résistances sont plus élucidées lorsqu'il s'agit de virus impliqués dans des maladies endémiques. Par ailleurs, l'HIV-1 reste le virus où la résistance est un défi pour l'intelligence humaine. Des chercheurs signalent que parmi les risques majeurs induits par l'émergence de la résistance est celui lié à la continuation dans un traitement de première ligne qui a échoué. Il s'agit de l'accumulation des mutations virales qui vont même compliquer la prise en charge par les thérapies de deuxième ligne (SIGALOFF *et al.*, 2012).

3.4 Résistance aux antibiotiques : stratégies de lutte

Dans cette partie il est question d'aborder les solutions mises en place pour tenter de freiner le phénomène d'antibiorésistance menant à la multiplication des situations pouvant conduire à des impasses thérapeutiques, et ce en proposant différentes alternatives aux antibiotiques actuels.

3.4.1 Promouvoir la recherche de nouvelles cibles

Selon ANDREMONT et TIBON-CORNILLOT (2007), la recherche en antibiothérapie n'est plus un investissement compétitif car, les cibles moléculaires au sein d'une bactérie deviennent de plus en plus difficiles à identifier. En attendant le développement et l'optimisation d'autres voies de lutte contre les pathogènes, il est clair qu'anticiper sur l'adaptation des bactéries ne peut se définir que par le renouvellement de l'arsenal thérapeutique des molécules antimicrobiennes (ABOYA-MOROH, 2013).

TAYGAT *et al.* (2009), affirment que les biologistes caractérisent sans cesse de nouveaux gènes ou enzymes essentiels à la survie des bactéries ou à leur virulence, et que c'est à partir de ces cibles moléculaires que les laboratoires de recherche envisagent les antibiotiques du futur, qu'il s'agisse des modifications de molécules actuelles ou de molécules radicalement nouvelles.

FALCONER et BROWN (2009) expliquent que l'exploration des processus métaboliques essentiels des bactéries et la caractérisation des enzymes qui les catalysent constituent donc des voies importantes pour la recherche de nouveaux points d'attaque potentiels. Cela permet d'espérer la mise au point de nouveaux antibiotiques contre lesquels les bactéries n'ont encore développé aucune résistance.

3.4.2 Promouvoir la recherche de composés non antibiotiques

KIPNIS *et al.* (2012) assurent qu'une des stratégies efficaces permettant de limiter l'apparition de la résistance serait d'utiliser des composés «attaquant» les bactéries

différemment. C'est l'exemple des anticorps mono puis polyclonaux qui représente une piste thérapeutique majeure avec le développement d'anticorps dirigés contre les systèmes de virulence spécifiques. La modulation du quorum-sensing (QS) et des facteurs de virulence en dépendant est une approche en plein développement en pathologie aiguë comme dans les infections chroniques. RUIMY et ANDREMONT (2004) expliquent qu'à la différence des antibiotiques, l'inhibition du QS n'a pas d'action directe sur la croissance bactérienne, mais sur la virulence. Il est ensuite nécessaire que le système immunitaire du patient élimine les microorganismes rendus moins virulents (GEDDES, 2005).

3.4.3 Plantes médicinales et lutte contre la résistance aux antibiotiques

Il est connu que le traitement des infections bactériennes se base principalement sur l'utilisation des antibiotiques. Hélas, la consommation à grande échelle de ces « médicaments » a entraîné la sélection de souches multirésistantes (ALI-SHTAYEH *et al.*, 1998).

Ces résistances ont conduits à chercher de nouveaux agents antimicrobiens possédant une efficacité plus importante que les drogues synthétiques d'une part et bien acceptés par l'organisme d'autre part (sans exercer des effets délétères sur la santé humaine) (GARCIA-RUIZ *et al.*, 2008 ; KEMPF et ZEITOUNI., 2009). D'après JÜRGEN *et al.* (2009), beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que fenouil (*Foeniculum vulgare*), menthe poivrée (*Mentha piperita*), 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.

HUANG *et al.* (2008) rapportent que 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 de plantes. Selon le même auteur cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industrie pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle. En effet, MACHEIX *et al.* (2005) expliquent que ces métabolites agissent selon plusieurs mécanismes à savoir, la formation de complexes avec des macromolécules telles que les protéines et les polysaccharides inhibant ainsi leurs fonctions (polyphénols), la rupture de membranes microbiennes (flavonoïdes lipophiles, terpénoïdes, défensines) et l'inhibition de l'adhésion de protéines microbiennes aux récepteurs polysaccharidiques de l'hôte (polypeptides).

CHAPITRE 4

Généralités sur le
figuier de Barbarie

4 Chapitre IV : Le figuier de barbarie : *Opuntia ficus indica*

4.1 Généralités

Les cactacées sont des angiospermes dicotylédones dialypétales caliciflores de l'ordre des caryophyllacées (WALLACE et GIBSON, 1997). D'après SALGADO et MAUSETH (1997), elles font parties des plantes xérophytes et succulentes. Le même auteur explique que les xérophytes sont des plantes qui ont réussi à développer une aptitude à se contenter de peu d'eau et qui peuvent donc survivre à de longues périodes de sécheresse, telles que celles que l'on rencontre dans les régions arides et péri-désertiques. Ces adaptations se présentent sous diverses formes morphologiques et physiologiques. L'une d'entre elles réside dans la faculté d'emmagasiner de l'eau dans les tissus végétatifs qui prennent un aspect spongieux. Ce phénomène est appelé « succulence » (succus = sève)

GUZMAN *et al.* (2003) in REYES-AGUERO *et al.* (2006), rapportent que la famille des Cactacées renferme environ 1600 espèces avec le centre de la diversité maximale au Mexique qui abrite 669 espèces. La tribu des Opuntieae comprend le genre *Opuntia*, subdivisé à son tour en quatre sous-genres : *Platyopuntia*, *Cylindropuntia*, *Tephrocactus* et *Brasiliopuntia*. Le sous genre *Platyopuntia* comprend 150 à 300 espèces, parmi lesquelles figure *Opuntia ficus indica*. Cette espèce est la cactée qui a la plus grande importance agronomique, tant pour les fruits comestibles que pour les raquettes qui peuvent être utilisées comme fourrage ou comme légumes (DUBEUX *et al.*, 2006).

4.1.1 Position systématique du figuier de barbarie

D'après la Classification de VON LINNÉ et MILLER en 1768, la position systématique du figuier de barbarie est la suivante :

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Caryophyllidae

Ordre : Caryophyllales

Famille : Cactaceae

Sous-famille : Opuntioideae

Tribu : Opuntieae

Genre : *Opuntia*

Sous-genre : *Platyopuntia*

Espèce : *Opuntia ficus indica*

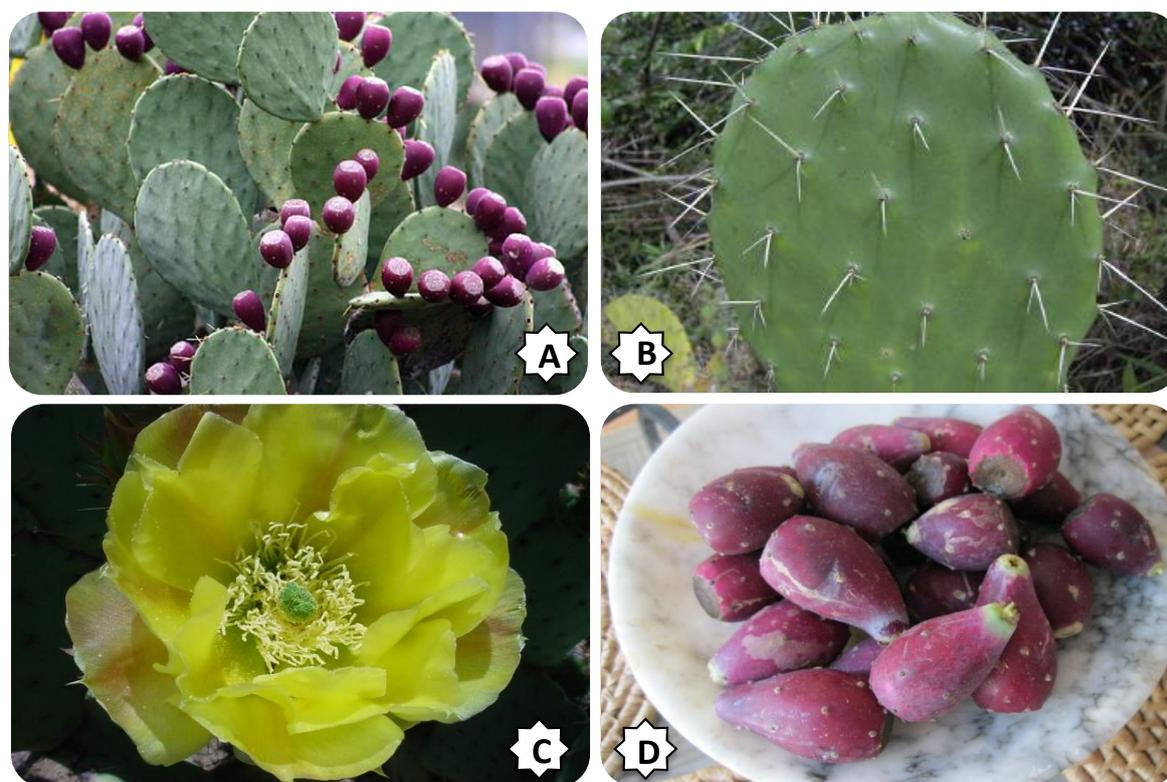


Figure 13 : Différentes parties du figuier de barbarie : A) la plante entière, B) les cladodes, C) la fleur, D) le fruit. (NEKRASOV, 2011)

4.2 Biologie d'*Opuntia ficus indica*

Selon SUTTON *et al.* (1981) et LEUTTGE (1993), le figuier de barbarie est une plante robuste, qui peut mesurer jusqu'à 5 mètres de hauteur (Figure 13-A), avec un tronc épais et ligneux. Ses articles aplatis sous forme de raquettes (cladodes) (Figure 13-B) de couleur vert mat, ayant une longueur de 30 à 50 cm et une largeur de 15 à 30 cm. D'après les mêmes auteurs, les cladodes assurent la fonction chlorophyllienne et sont recouvertes d'une cuticule cireuse (la cutine) qui limite la transpiration et les protège contre les prédateurs.

Les feuilles sont de forme conique et ont quelques millimètres de long, éphémères, apparaissant sur les cladodes jeunes. A leur base, se trouvent les aréoles (environ 150 par cladodes) qui sont des bourgeons axillaires modifiés, typiques des Cactacées. Il a été rapporté par REYES-AGUIRO *et al.* (2006) que leurs méristèmes produisent des épines, des glochides, des racines adventives, de nouvelles cladodes ou des fleurs. Les épines sont blanchâtres, sclérifiées, solidement implantées et longues de 1 à 2 cm.

Ses fleurs, marginales sur le sommet des cladodes, sont hermaphrodites, de couleur jaune et deviennent rougeâtres à l'approche de la sénescence de la plante (Figure 13-C). Ses fruits sont des baies charnues ovoïdes ou piriformes pourvus d'épines (Figure 13-D). Ils sont généralement verdâtres ou jaunes à maturité. La pulpe est toujours juteuse, de couleur jaune-orangé, rouge ou pourpre, parsemée de nombreuses petites graines (SUTTON *et al.*, 1981 et LEUTTGE, 1993).

4.3 Origine et distribution géographique d'*Opuntia ficus indica*

ORWA *et al.* (2009) rapportent que le genre *Opuntia* est originaire du Mexique. Sa distribution géographique est très large (Figure 14) : Mexique, Sicile, Chili, Brésil, Turquie, Corée, Argentine et Afrique du Nord (BARBERA *et al.*, 1992 et NERD et MIZRAHI, 1994).

D'après LE HOUEROU (1996), il a été introduit d'abord en Espagne et plus tard au 16^{ème} siècle au Nord et au Sud de l'Afrique. Il est par essence développé sur la partie Ouest de la Méditerranée : Sud de l'Espagne, le Portugal et l'Afrique du Nord (Tunisie, Algérie et Maroc) (BEN SALEM *et al.*, 2002), au point de devenir un élément caractéristique du paysage.



Figure 14 : Distribution géographique du figuier de Barbarie (ORWA *et al.*, 2009).

4.4 Ethnopharmacologie d'*Opuntia ficus indica*

Le figuier de barbarie appartient depuis toujours aux plantes médicinales les plus utilisées. La recherche médicale moderne redécouvre avec un intérêt grandissant la plante et ses propriétés. Elle étudie les molécules actives qui la composent et lui permettent de lutter efficacement contre quelques-unes des affections les plus graves de notre temps : réduire le taux de sucre et de cholestérol dans le sang (FERNANDEZ *et al.*, 1990).

D'après PIMIANTA-BARRIOS *et al.* (1993), utilisée comme régulateur diurétique et comme remède au dysfonctionnement de la prostate, cette plante a aussi un effet comme remède aux douleurs gastro-intestinales, à l'anxiété, l'artériosclérose, la spasmophilie, le stress, les brûlures et coups de soleil. Selon la même source, les scientifiques ont récemment observé les effets anticancéreux de la bétanine isolée d'*Opuntia ficus-indica* sur la lignée de cellules K562 de la leucémie myéloïde chronique et sur des mélanomes (cancer de la peau) chez la souris.

COSKUNER et TEKIN (2003) ainsi que ENNOURI *et al.* (2005) ont rapporté que l'huile essentielle des graines des fruits du cactus est riche en acides gras polyinsaturés, en stérols et en vitamines, elle est utilisée comme antiride naturel et pour la fabrication des crèmes dermiques antirides.

4.5 Utilisation du figuier de barbarie

4.5.1 Utilisation du fruit

Selon ASKAR et EL SAMAHY (1981) et STINTZING *et al.* (2001), les fruits du figuier de barbarie sont plus ou moins gros (30 à 150g), bacciformes ou piriformes (4-9 cm), verdâtres et deviennent jaune à rouge à maturité, à pulpe molle juteuse, sucrée, contenant dans un mucilage de nombreuses petites graines.

Récemment, dans certains pays (Italie, Mexique, Chili,...), le fruit est conditionné industriellement et stabilisé par différentes méthodes (froid, séchage, chaleur) ou transformé en jus, miel (miel de tuna), boissons alcoolisées, confiture, colorant alimentaire (pourpre de barbarie) (DOMINGUEZ, 1995 ; MOHAMED-YASSEEN *et al.*, 1996 ; HAMDI, 1997).

- **Production du jus et autres produits**

Les fruits sont appréciés et donnent lieu à plusieurs produits, dont quelques-uns sont connus et d'autres sont récemment développés ou en cours de recherche. La pulpe et le jus sont les utilisations les plus communes et domestiques du figuier de barbarie (SAENZ, 2000). D'après le même auteur, plusieurs études ont été faites sur le jus et ont montré que ce produit a

un goût et un parfum agréables. Une autre possibilité est la production des jus concentrés qui manifestent une bonne stabilité microbiologique. La pulpe peut être utilisée pour préparer des gels comme les gels de pomme et cognassiers. La confiture est un autre produit qui peut être préparé à partir du fruit. Elle présente une bonne qualité sensorielle et une stabilité microbiologique. Les fruits déshydratés sont une autre forme comestible du produit, ils peuvent être aussi conservés en boîtes ou congelés. ESPIRAD (2002) rapporte, que le figuier de barbarie est également utilisé dans la préparation des boissons alcoolisées à partir de la pulpe tamisée.

- **Colorant alimentaire**

La couleur des figues de barbarie est due à des bétalaines et aux pigments azotés de couleur rouge ou jaune. Ces pigments peuvent être extraits et utilisés comme additifs dans les préparations alimentaires, dans les domaines pharmaceutiques et cosmétiques (PIGA, 2004).

D'après FERNANDEZ-LOPEZ *et al.* (2002), les pigments naturels rouges ou bétacyanines extraites à partir des plantes sont d'un intérêt croissant comme substituant des teintures rouges synthétiques dans l'industrie agro-alimentaire et pharmaceutique. De plus, selon CASTELLAR *et al.* (2003), les bétacyanines sont reconnues comme colorants alimentaires naturels et contrairement aux autres pigments rouges naturels, elles sont stables dans un large domaine de pH variant de 4 à 7. Cette propriété en fait des pigments idéaux pour la coloration des denrées alimentaires à acidité faible

Il a été rapporté par FERNANDEZ-LOPEZ *et al.* (2002) que dans l'industrie agro-alimentaire, la betterave rouge est la seule source des bétalaines exploitée pour l'obtention des colorants naturels des denrées alimentaires, produisant plusieurs nuances du rouge violet. Cependant, d'après la même source, les préparations de la betterave rouge sont obtenues à partir des racines. De ce fait, des caractéristiques défavorables du goût peuvent affecter leur commercialisation. L'utilisation de figuier de barbarie comme source de bétalaines est très intéressante, ceux-ci sont fortement parfumés et montrent des propriétés nutritives meilleures que les racines de betterave rouge.

4.5.2 Utilisation des raquettes

- **Utilisations médicinales**

En Australie et en Afrique du sud, l'effet hypoglycémique des « *Nopalitos* » est utilisé dans le traitement des diabètes non dépendants de l'insuline. Le mucilage isolé des raquettes permet de réduire le cholestérol total dans le sang (PIMIENTA-BARRIOS, 1993).

- **Utilisations culinaires**

Les raquettes sont peu utilisées en consommation humaine, excepté les jeunes raquettes tendres qui sont consommés comme légumes depuis des siècles au Mexique. Les raquettes sont préparés sous différentes formes : comme composantes de salades, cuites avec de la viande et des œufs. La valeur nutritive des Nopals est similaire à de nombreux légumes à feuilles tels la laitue et les épinards. Ils sont considérés comme une source importante de vitamines et de minéraux principalement le calcium et le fer (PNTTA, 2000).

- **Source de mucilage**

D'après SAENZ *et al.* (2004), la famille des cactacées est caractérisée par sa production de mucilage. Le mucilage est un hydrate de carbone complexe, faisant partie de la fibre diététique. Pour ceci, c'est un composant avec d'excellentes perspectives comme additif non seulement pour l'industrie alimentaire, mais également pour d'autres usages industriels.

- **Colorant**

Les femelles des cochenilles *Dactylopius coccus costa* ou *Dactylopius opuntiae cockerell*, qui prolifèrent sur des raquettes de l'*Opuntia ficus indica*, sont utilisées pour la production d'un colorant rouge « le carmin » ou l'acide carminique (PIMIENTA-BARRIOS, 1993). Le même auteur explique que ce colorant (E-120), est très utilisé par les industries alimentaires, cosmétiques et médicinales. Récemment au Mexique et en Afrique du Sud, des producteurs ont adopté des systèmes de production intensifs en micro-tunnels pour la culture des cochenilles.

4.5.3 Utilisation des fleurs

PIMIENTA-BARRIOS (1993) rapporte, qu'avec un calendrier apicole qui dure 7 mois (mars-septembre), l'activité des abeilles a lieu sur les fleurs de l'*Opuntia ficus indica* pendant 3 mois (avril-juin), ce qui permet de développer l'apiculture en parallèle. Les rendements des ruches sont de 1 à 4 litres de miel.

Les fleurs sont aussi utilisées à des fins médicinales. En effet, les capsules des corolles des fleurs séchées sont utilisées comme remède au dysfonctionnement de la prostate (hypertrophie bénigne de la prostate), et aussi comme régulant diurétique. En Sicile, le thé préparé avec les fleurs de l'*Opuntia ficus indica* est utilisé comme traitement contre les douleurs rénales (PARK *et al.*, 2001).

PARTIE II

EXPÉRIMENTATION

CHAPITRE 1

Matériels et méthodes

1 Matériels et méthodes

La partie expérimentale de notre étude a été réalisée au sein des laboratoires communs I et II d'analyses physico-chimiques ainsi qu'au niveau du laboratoire pédagogique de microbiologie de la faculté des sciences biologiques et agronomiques de l'université MOULOUD MAMMARI de Tizi-Ouzou, et ce durant la période allant du mois de Février au mois de Juillet de l'année 2017.

1.1 Matériels

1.1.1 Matériel végétal

Les fruits de l'*Opuntia ficus indica* étudiés ont été collectés dans la ville de Sousse située à 143km au sud de Tunis (Tunisie) en Décembre 2016. Ces échantillons ont été conservés à l'abri de la lumière, dans un endroit sec et aéré et à température ambiante pendant 30 jours afin de préserver au maximum l'intégrité de leur composition chimique, et ce en vue d'utilisations ultérieures.



Figure 15 : Fruit de l'*Opuntia ficus indica*

1.1.2 Produits de laboratoire

Tableau V : Produits et réactifs chimiques

	Produit	Référence	Utilisation
Solvants	Ethanol	Sigma Aldrich Allemagne	Extraction des polyphénols
	Méthanol	Sigma Aldrich Allemagne	Solubilisation et conservation des extraits
	diméthyle sulfoxyde (DMSO)	Sigma Aldrich Allemagne	Diffusion des extraits sur le milieu de culture
Réactifs chimiques	Folin-Ciocalteu	Sigma Aldrich Allemagne	Dosage des Polyphénols totaux
	Carbonate de Sodium (Na ₂ CO ₃)	Sigma Aldrich Allemagne	
	Acide gallique C ₇ H ₆ O ₅	Biochem Chemopharma Québec	Polyphénol standard
	Acide trichloracétique C ₂ HCl ₃ O ₂	Biochem Chemopharma Québec	Activité antioxydante
	Acide ascorbique	Biochem Chemopharma Québec	Antioxydant standard
	1-1-diphenyl-2- picrylhydrazyl (DPPH)	Sigma Aldrich Allemagne	Activité antioxydante
	Tampon phosphate	-----	Activité antioxydante
	Chlorure de Sodium (NaCl)	Fluka Analytical Allemagne	Préparation de l'eau Physiologique
	Chlorure ferrique FeCl ₃	Biochem Chemopharma France	Activité antioxydante
	Chlorure d'aluminium (AlCl ₃)	-----	Dosage des Flavonoïdes totaux
	Nitrite de sodium NaNO ₂	-----	
	Hydroxyde de sodium NaOH	-----	
	Quercétine C ₁₅ H ₁₀ O ₇	-----	Dosage des Flavonoïdes standard
Ferricyanure de potassium	Prolabo (France)	Activité antioxydante	

Tableau VI : Milieux de cultures utilisés

	<i>Produit</i>	<i>Référence</i>	<i>Utilisation</i>
<i>Milieux de culture</i>	Brain Heart Infusion Broth (BHIB)	HIMEDIA M210 (Inde)	Revivification des souches
	Gélose nutritive (GN)	HIMEDIA M001 (Inde)	Repiquage des souches
	Mueller-Hinton Agar (MH)	HIMEDIA M173 (Inde)	Antibiogramme
	Sabouraud dextrose Agar	HIMEDIA M063 (Inde)	Repiquage des souches fongiques
<i>Milieux sélectifs</i>	Sabouraud + Chloramphénicol	MMDEC Tizi-Ouzou	Isolement d' <i>A. Niger</i> et <i>C.albicans</i>
	Gélose Chapman	MMDEC Tizi-Ouzou	Isolement de <i>Staphylococcus</i>
	Gélose Cétrimide	HIMEDIA M024 (Inde)	Isolement de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Milieu Mossel BK	CONDA pronadisa	Isolement de <i>Bacillus cereus</i>
	Gélose Hektoen	MMDEC Tizi-Ouzou	Isolement des GRAM négatif

Tableau VII : Antibiotiques et antifongique

	Nom	Abréviation	compagnie
Antibiotiques	Rifampicine	RA	Bioanalyse (Inde)
	Imipineme	I	
	sulfamétozazole-triméthoprime	SXT	
	Neomycine	N	
	Céfoxitine	FOX	
	Céfotaxime	CTX	
	Benzylpénicilline	P	
	Colistine	CS	
	Céfazoline	CZ	
	Ampicilline	AM	
Oxacilline	OX		
Antifongique	Amphotéricine B Fungizone®	/	Haupt Pharma Allemagne

1.1.3 Appareillage

Tableau VIII : Appareils utilisés.

Appareillage	Marque	Provenance
Spectrophotomètre	Vis-7220G. Biotech Engineering Management CO.LTD	Royaume-Unis
Etuve	BINDER-MEMMERT	Allemagne
Balance de précision	KERN 770	Allemagne
Centrifugeuse	HettichUniversal / K2S.	Allemagne
Autoclave	WEBECO	Allemagne
Four Pasteur	BINDER	Allemagne
Bain Marie	MEMMERT	Allemagne
Agitateur à barreau magnétique non chauffant	GERHARDT	Allemagne
Broyeur électrique	KRUPS 75	Allemagne
Réfrigérateur	ENIEM	Algérie

1.1.4 Microorganismes testés

Le choix des microorganismes s'est porté sur dix souches fréquentes en pathologie humaine regroupées dans le tableau IX.

Tableau IX: Souches microbiennes utilisées.

	La souche		Provenance
Souches Bactériennes	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	Gram négatif	Laboratoire pédagogique de microbiologie de la FSBSA de Tizi-Ouzou
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 43300)	Gram positif	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	Gram négatif	
	<i>Escherichia coli</i>	Gram négatif	Laboratoire d'analyse microbiologique CHU Tizi-Ouzou
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram positif	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Gram négatif	
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Gram négatif	
	<i>Bacillus Cereus</i> (ATCC 10876)	Gram positif	
Souches fongiques	<i>Aspergillus niger</i>	Moisissure	Laboratoire pédagogique de microbiologie de la FSBSA de Tizi-Ouzou
	<i>Candida albicans</i>	Levure	Laboratoire de parasitologie CHU Tizi-Ouzou

1.2 Méthodes

1.2.1 Extraction des composés phénoliques

La préparation des échantillons est d'une importance capitale pour toute analyse fiable. C'est pourquoi selon STALIKAS (2007), il existe de nombreuses étapes permettant d'extraire les substances bioactives d'un végétal, comme la mouture, le broyage, l'homogénéisation et l'extraction. Parmi ces dernières, l'extraction est la principale étape permettant la récupération et l'isolement des substances phytochimiques provenant des matériaux végétaux.

Pour ce faire le matériel végétal est broyé, ainsi sous cette forme la plante présentera une plus grande surface de contact avec les solvants extracteurs, ce qui permet d'améliorer le rendement des extractions.

Dans le but d'extraire les composés phénoliques (CP) des fruits d'*Opuntia ficus indica*, nous avons opté pour la méthode de macération décrite par MAHMOUDI *et al.* (2013) en y apportant de légères modifications : 20g de matière végétale broyée ont été introduits dans un erlenmeyer et macérés sous agitation magnétique pendant 3h à température ambiante (25°C) dans 100 ml d'eau distillée et d'éthanol 70% V/V, séparément. Le mélange est filtré une première fois sur tissu mousseline, les filtrats obtenus sont centrifugés pendant 20 min à 4000rpm à température ambiante, et ainsi filtrés une seconde fois sur papier filtre N°1 puis conservés à 4 °C, et enfin reconstitués dans de l'eau distillée juste avant utilisation.

Le rendement de l'extraction désignant la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction selon la formule décrite par (MAHMOUDI *et al.*, 2013) :

$$R (\%) = (M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}}) \times 100$$

Où :

R désigne le rendement en % ;

M_{ext} : La masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg ;

M_{éch} : La masse de la matière végétale broyée en mg.

1.2.2 Analyse quantitative des composés phénoliques

1.2.2.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux (PPT) est effectué pour les deux extraits de figes de barbarie, éthanolique et aqueux selon le protocole décrit par (TALBI *et al.*, 2015) auquel quelques modifications ont été apportées.

Dans des tubes à essai nous introduisons successivement 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué), 200 µl d'extrait végétal ou standard (préparés dans de l'eau distillée) avec des dilutions convenables. Après 4 min, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 75 mg/ml sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2h d'incubation à température ambiante et à l'obscurité l'absorbance est mesurée à 760 nm.

La teneur en polyphénols totaux des extraits d'*Opuntia ficus indica* a été déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard à différentes concentrations (20- 160 µg/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes que le dosage. Les résultats sont alors exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g extrait). Il est à noter que toutes les mesures sont réalisées en triplicata.

La formule suivante permet le calcul de la teneur en phénols totaux

$$T = C \cdot V / M$$

Où :

T : Total des composés phénoliques (mg EAG / g d'extrait sec de la plante) ;

C : Concentration de l'extrait équivalente à l'acide gallique, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml) ;

V : Volume de l'extrait (ml) ;

M : Poids sec de l'extrait de la plante (g).

1.2.2.2 Dosage des flavonoïdes totaux

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits éthanoliques et aqueux d'*Opuntia ficus indica* est réalisée par la méthode de ZHISHEN *et al.* (1999).

1 ml de l'échantillon ou standard (convenablement dilués dans le méthanol) est introduit dans une fiole jaugée de 10 ml contenant au préalable 4 ml d'eau distillée. A un temps t=0, on y introduit 0,3 ml de nitrite de sodium (NaNO₂) à 5% (P/V). Après 5 minutes on y ajoute 0,3 ml de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 10%. Finalement après 6 minutes, 2 ml de NaOH sont

à 1M sont incorporés et le volume total a été amené jusqu'à 10 ml avec de l'eau bi distillée (soit 2,4 ml d'eau bi distillée sont ajoutés). La solution de couleur rose est agitée vigoureusement et son absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 510 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits de figes de barbarie a été déterminée à partir de l'équation de régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétrine comme standard à différentes concentrations (20-100 mg/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes que le dosage. Les résultats sont alors exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g extrait). Toutes les mesures sont réalisées en triplicata.

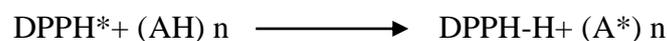
1.2.3 Activités biologiques

1.2.3.1 Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des extraits d'*Opuntia ficus indica*

L'activité antioxydante est évaluée en utilisant deux méthodes différentes : la méthode du test DPPH et la méthode du test FRAP.

1.2.3.1.1 Mesure du pouvoir anti radicalaire par piégeage du radical DPPH

Le Diphényle picryl-hydrazyle (DPPH), un radical stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons) (SANCHEZ-MORENO, 2002). On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



Où : **(AH)** représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet)

pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune) (BRAND-WILLIAM *et al.*, 1995)

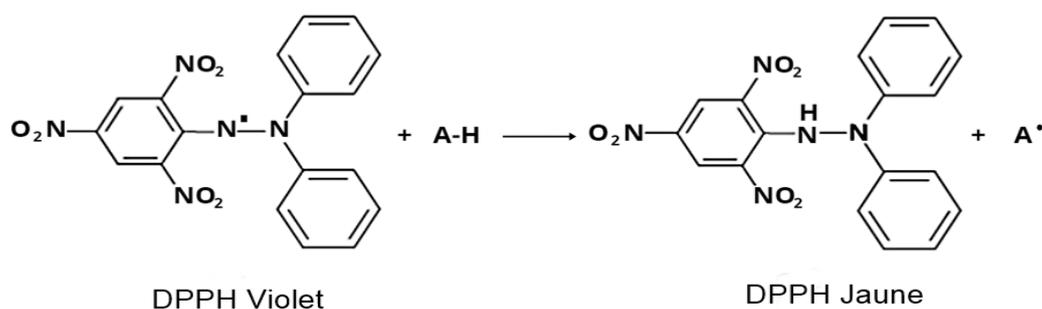


Figure 16 : Réduction du radical DPPH par un antioxydant (BRAND-WILLIAM *et al.*, 1995)

L'activité antioxydante a été évaluée selon la méthode de BLOIS (1958), en y apportant de légères modifications.

1ml de la solution méthanolique de DPPH (0,1 mM) est ajouté à 50µl de la solution d'extraits et standard, le mélange est vigoureusement agité, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes. Le blanc est représenté par le méthanol, le témoin négatif est composé de 1 ml de la solution méthanolique de DPPH. Le témoin positif est représenté par une solution méthanolique d'un antioxydant standard : l'acide ascorbique. Il est cependant à noter que durant cette expérimentation seuls les extraits aqueux sont testés et ce en raison de la quantité infime de DPPH mise à notre disposition.

Les résultats obtenus pour l'extrait aqueux testé sont comparés à ceux obtenus pour l'acide ascorbique. L'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité antiradicalaire en pourcentage % RSA (Radical Scavenger Activity) et est estimée selon l'équation décrite par (TALBI *et al.*, 2015) :

$$\% \text{ RSA} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}) \times 100$$

Où : « **Abs** » est l'absorbance des échantillons à 517 nm.

Les résultats sont la moyenne de deux mesures séparées \pm écart type.

Pour s'affranchir de l'influence de la concentration, dans la majorité des études, la réactivité est estimée par l'IC₅₀ (Concentration inhibitrice 50), appelée également EC₅₀ (Efficient concentration 50), qui correspond à la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés et du standard (TORRES *et al.*, 2006).

1.2.3.1.2 Mesure du pouvoir réducteur du fer (Test FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power)

En parallèle au test de piégeage du radical DPPH, le pouvoir réducteur du fer (Fe³⁺) dans les extraits éthanoliques et aqueux de figues de barbarie a été évalué en utilisant la méthode FRAP suivant le protocole décrit par OYAIKU (1986). Ce test est un essai simple, rapide et reproductible (BENZIE et STRAIN, 1996), il est selon LI *et al.* (2008) universel et peut être appliqué aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux, il est basé sur la réaction chimique de réduction du fer ferrique Fe (III) en fer ferreux Fe(II).

Cette réduction est observée par le passage de la couleur jaune du fer ferrique (Fe^{+3}) au bleu vert du fer ferreux (Fe^{+2}), dont l'intensité mesurée à 700 nm, est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits testés (JAYAPRAKASH *et al.*, 2001).

Le mélange réactionnel est composé de 400 μl d'extrait aqueux ou éthanolique, 400 μl de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 400 μl de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN}_6)$ à 1%. Une fois incubé pendant 20 minutes à 50°C, ce dernier est additionné de 400 μl d'acide trichloracétique TCA à 10% puis centrifugés 10 minutes à 3000 rpm. Par la suite, 400 μl du surnageant sont récupérés et complétés de 400 μl d'eau distillée et de 80 μl de chlorure ferrique FeCl_3 à 0,1%. Et enfin, la lecture de l'absorbance se fait à 700nm.

Les lectures de la densité optique à 700 nm, des solutions ainsi préparées ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Vitamine C).

1.2.4 Evaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne d'*Opuntia ficus indica*

1.2.4.1 Activité antibactérienne

1.2.4.1.1 Préparation des milieux de culture

La préparation des milieux de culture appropriés à cette étude est mentionnée dans la section réservée aux annexes.

1.2.4.1.2 Stérilisation du matériel

L'eau distillée, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave pendant 15 minutes à 120°C.

1.2.4.1.3 Préparation des dilutions des extraits d'*Opuntia ficus indica*

Les différents extraits d'*Opuntia ficus indica* ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO). La concentration de chaque extrait est de 10000 $\mu\text{g/ml}$ (10mg/ml).

1.2.4.1.4 Repiquage et purification des souches

Avant la réalisation des tests antibactériens, trois repiquages consécutifs sont effectués pour chaque souche. En premier lieu, dans le but d'évaluer l'activité antibactérienne réalisée sur une culture jeune de 18 à 24h (phase exponentielle de croissance), nous avons effectué une revivification des souches en bouillon BHIB pendant 24h à 37°C.

Le second repiquage est ensuite effectué sur milieu sélectif afin de permettre la dominance absolue et la croissance d'un seul et unique germe microbien.

Après incubation à 37°C pendant 24h, la coloration de Gram et l'examen microscopique au grossissement x1000 ont été réalisés. Ils permettent l'observation du mode de regroupement, la forme des cellules bactériennes ainsi que le type de Gram.

La coloration de Gram a été effectuée selon la méthode décrite par DELARRAS (2007)

- Préparer un frottis de la souche à tester ;
- Recouvrir le frottis de violet de gentiane, laisser agir 1 minute puis rincer à l'eau distillée ;
- Verser du lugol et laisser agir pendant 1 minute, rincer à l'eau distillée ;
- Décolorer à l'alcool à 95°, entre 15 et 30 secondes, rincer à l'eau distillée ;
- Recolorer avec de la fuchsine pendant 10 à 30 secondes, rincer à l'eau distillée ;
- Sécher au-dessus de la flamme d'un bec bunsen ;
- Observation au microscope optique à l'objectif x 100 à l'immersion.

Les bactéries colorées en violet sont des bactéries à Gram positif, et celles colorées en rose sont des bactéries à Gram négatif.

Le troisième et dernier repiquage est effectué sur milieu solide (Gélose nutritive) la veille de la réalisation du test antibactérien. L'ensemble a été incubé à 37°C pendant 18h pour avoir des cellules bactériennes à leur phase exponentielle de croissance.

1.2.4.1.5 Préparation de l'inoculum

Les suspensions bactériennes sont préparées à partir des souches préalablement repiquées sur Gélose Nutritive.

On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester, on décharge ensuite l'anse dans 10 mL d'eau distillée stérile. Après homogénéisation des suspensions, la densité optique est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 625nm. Cette densité optique doit être comprise entre 0.08 et 0,1 soit équivalente à 0,5 Mc Farland, ce qui correspond à une concentration de 10^6 à 10^7 germes/ml. Il est à noter que l'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

1.2.4.1.6 Ensemencement et dépôt des disques

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes Pétri (figure 17), un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum de la suspension. Ce dernier est étalé sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon

une dernière fois sur toute la surface gélosée, il est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche.

Des disques stériles en papier Wattman de 6 mm de diamètre ont été imprégnés respectivement avec 15 μ L des différents extraits d'*Opuntia ficus indica* (extraits aqueux et éthanoliques préalablement reconstitués dans de l'eau distillée) puis déposés délicatement au centre de la gélose MH à l'aide d'une pince stérile, chaque essaie est répété trois fois.

Un disque de papier Wattman imprégné de 15 μ L de DMSO à 5% a servi de témoin négatif.

Le témoin positif est représenté par les différents antibiotiques standards utilisés.

Les boîtes de Pétri sont maintenues pendant 2 h à 4 °C pour une meilleure diffusion des substances bioactives, puis incubées à 37 °C/ 24 heures.

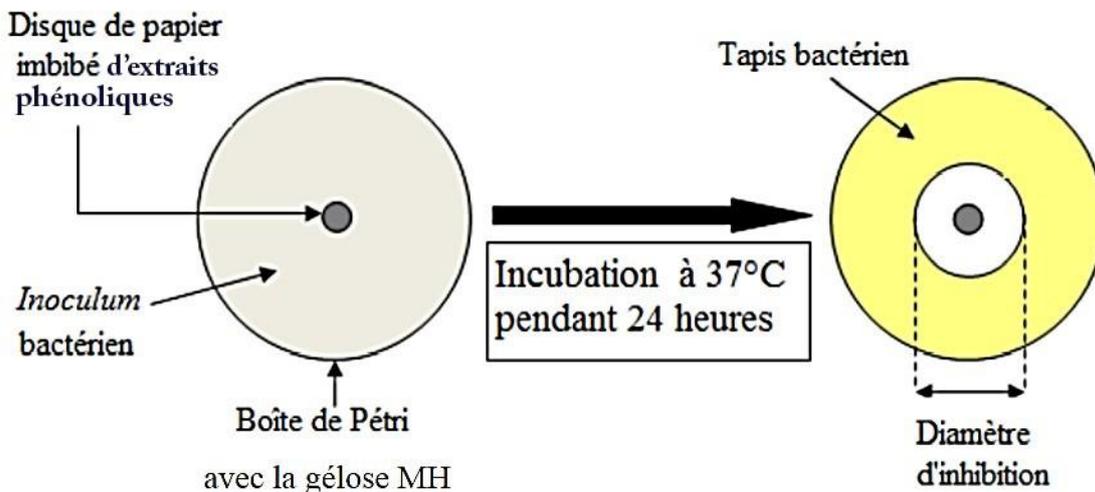


Figure 17 : Illustration de la méthode d'antibiogramme (ZAIKA, 1988).

1.2.4.1.7 Lecture des résultats

L'activité antibactérienne est mesurée par la mesure des diamètres des zones claires (en millimètres) qui se forment autour des disques. Le diamètre de ces zones d'inhibition inclut le diamètre du disque.

D'après MOREIRA *et al.* (2005), la sensibilité des bactéries cibles envers les différents composés est classée selon les diamètres des halos d'inhibition : $\emptyset < 8$ mm : bactérie non sensible ; $9 < \emptyset < 14$ mm : bactérie sensible ; $15 < \emptyset < 19$ mm : bactérie très sensible et $\emptyset > 20$ mm : bactérie extrêmement sensible.

1.2.4.2 Activité antifongique

La même technique a été entreprise pour *Candida albicans* et *Aspergillus niger* avec l'utilisation du milieu Sabouraud + Chloramphénicol. La standardisation de l'inoculum fongique a été effectuée en utilisant une cellule de comptage (cellule de Mallassez). L'incubation est faite à 28 °C pendant 24 à 48 h pour *Candida* et 7 jours pour *Aspergillus niger*.

1.2.5 Analyse statistique

Les résultats ont été présentés par la moyenne suivie de l'écart-type (n=2) ou (n=3) pour chaque extrait en utilisant le test de Student pour échantillons appariés et de Student pour échantillons indépendants.

L'analyse statistique a été réalisée par le logiciel Statistica version 7.1 en utilisant le test de l'analyse de la variance (ANOVA) à un facteur. Ce test nous permet de vérifier si les échantillons sont issus de la même population ou présentant des différences significatives.

S'il existe une différence significative, le test de l'ANOVA est suivi par le test complémentaire de Newman-Keuls afin d'établir les différents groupes homogènes. Le niveau de signification était de 5 %.

CHAPITRE 2

Résultats et discussion

2 Rendement d'extraction des composés phénoliques

L'étude quantitative des extraits bruts des fruits d'*Opuntia ficus indica* au moyen des dosages spectrophotométriques avait pour objectif la détermination de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux. Notre choix d'étude s'est porté sur ces substances du fait que la majorité des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des plantes leur sont attribuées.

Les figues de barbarie broyées ont été soumises à deux types d'extraction selon la méthode décrite par MAHMOUDI *et al.* (2013) en y effectuant quelques légères modifications. Cette extraction a permis d'obtenir deux extraits : aqueux (Aq) et éthanolique (Et-OH).

Il est à noter que chaque essai a été répété trois fois ainsi, chaque valeur rapportée dans ce tableau est une moyenne. Les différents rendements de l'extraction (en moyenne \pm Standard Errors « SD ») obtenus en pourcentage (%), la couleur ainsi que l'aspect des deux extraits sont mis en évidence dans le tableau X.

Tableau X : Aspect, couleur et rendement des deux extraits d'*Opuntia ficus indica*. (n=3)

Extrait	Couleur	Aspect	Rendement D'extraction (%)
Aq	Pourpre	Pâte collante	6,20 \pm 1,47
Et-OH	Pourpre	Pâte collante	5,33 \pm 0,58

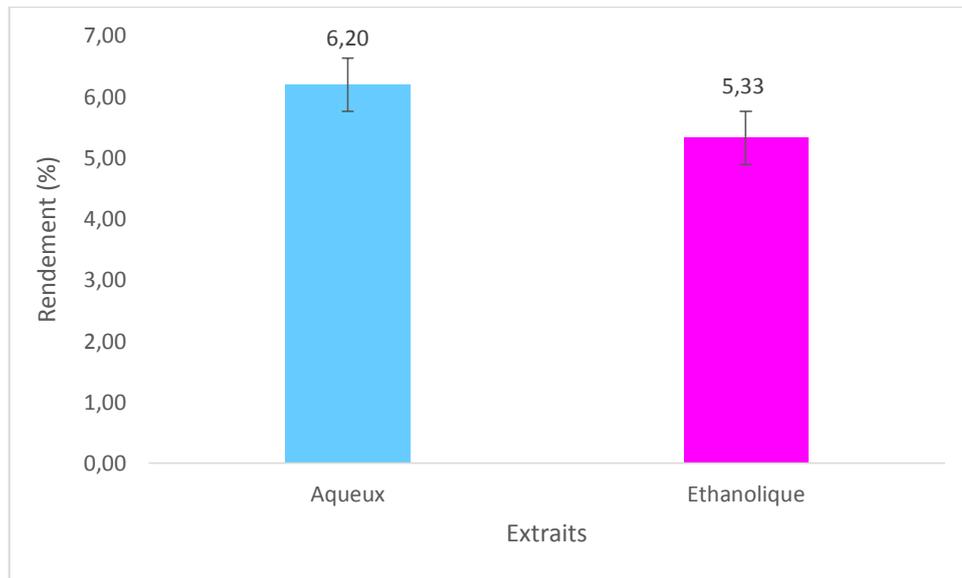


Figure 18 : Rendement d'extraction en (%) des deux extraits d'*Opuntia ficus indica*

De ces résultats illustrant les rendements d'extraction en figure 18, nous constatons que les solvants utilisés dans le présent travail ont été capables d'extraire les composés phénoliques de notre échantillon. En effet l'extraction à l'eau montre un meilleur rendement avec une valeur moyenne de $6,2 \pm 1,47$ % contre $5,33 \pm 0,58$ % pour l'extrait d'éthanol.

Le test de Student pour échantillons appariés a donné une p-value $< 0,05$, donc il existe une différence significative, ce qui veut dire que le solvant utilisé influence le rendement d'extraction.

Nos résultats semblent être en contradiction avec les travaux menés par DO *et al.* (2013), démontrant l'effet du solvant d'extraction sur la teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux ainsi que sur l'activité antioxydante de *Limnophila aromatica*. Cela implique d'une part que l'augmentation de la concentration en eau dans les solvants améliore le rendement d'extraction. D'autre part, des composés autres que les composés phénoliques peuvent avoir été extraits et contribueraient ainsi à un rendement plus élevé. D'après ZIELIŃSKI et KOZŁOWSKA (2000), cela peut être attribuable à une grande solubilité des protéines et des hydrates de carbones dans l'eau et le méthanol plutôt que dans l'éthanol et d'acétone.

Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif, et semble être lié à bon nombre de paramètres tels que : l'origine géographique, les propriétés génétiques, la période de récolte, les conditions et la durée de conservation, la taille des particules des échantillons, la nature chimique des particules

bioactives, la nature du solvant utilisé, les méthodes d'extraction appliquées et enfin la présence de substances interférentes.

3 Teneur en polyphénols totaux des extraits de figue de barbarie

Le dosage des PPT des fruits d'*Opuntia ficus indica* a été effectué par la méthode spectrophotométrique au réactif de Folin-Ciocalteu décrite par TALBI *et al.* (2015). Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de coloration jaune. Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) (RIBEREAU-GAYON, 1968). La coloration bleue produite possède une absorption maximale aux environs de 760 nm et est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

La teneur en polyphénols totaux des fruits d'*Opuntia ficus indica* est estimée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (Annexe 2) ($y = 0,0116x + 0,0204$). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par un gramme de matière sèche (mg EAG/g MS). Ces derniers ont permis de donner des estimations sur les quantités des polyphénols totaux contenus dans les figues de barbarie (fractions éthanoliques et fractions aqueuses). Chaque essai a été répété trois fois ainsi que, chaque valeur reportée dans le tableau XI est une moyenne (moyenne \pm Standard Errors « SD »).

Tableau XI : Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits exprimées en mg EAG/g MS (n=3)

Extrait	Teneur des polyphénols mg EAG/g MS
Aq	6,05 \pm 0,06
Et-OH	2,86 \pm 0,59

Le test de Student pour échantillons appariés a donné une p-value $< 0,05$, ce qui révèle une différence significative : le type de solvant utilisé influence la teneur en polyphénols totaux des différents extraits.

L'histogramme représenté en figure 20 illustre les teneurs en PPT des différents extraits d'*Opuntia ficus indica*.

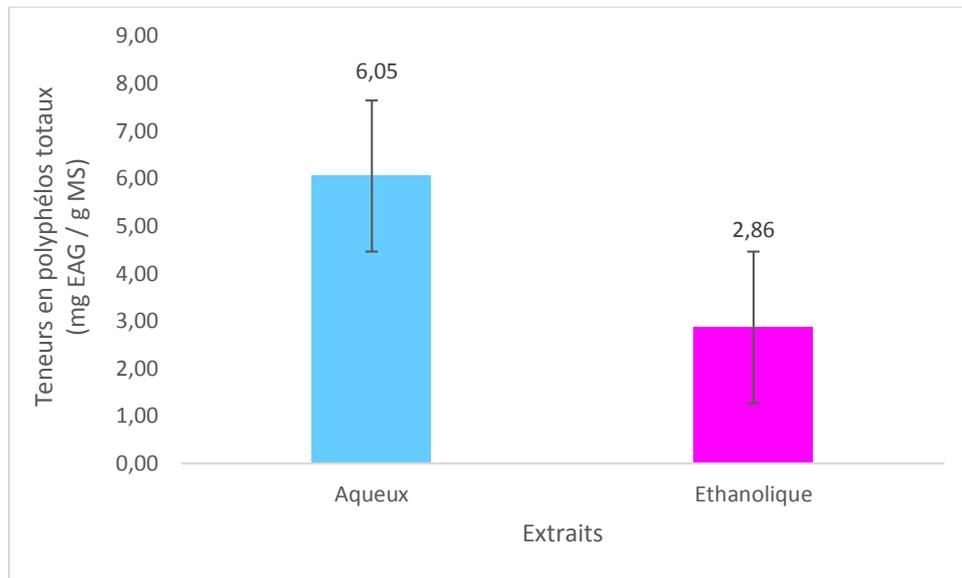


Figure 19 : Teneur en polyphénols totaux des deux extraits étudiés

Les résultats du dosage des PPT (tableau XI et figure 19) montrent que les teneurs varient entre $6,05 \pm 0,06$ et $2,86 \pm 0,59$ mg EAG/g MS et que les taux les plus élevés ont été détectés dans l'extrait aqueux ($6,05 \pm 0,06$ mg EAG/g MS) tandis que, les teneurs les plus basses sont attribuées à l'extrait éthanolic ($2,86 \pm 0,59$ mg EAG/g MS).

Notons que la teneur en composés phénoliques des deux extraits varie dans le même sens que leurs rendements.

Il apparait dans cette étude que la grande majorité des polyphénols sont hydrosolubles. Cependant, les travaux de certains auteurs ne semblent pas être de cet avis. C'est le cas des travaux conduits par JUN *et al.* (2013) sur les raquettes d'*Opuntia ficus indica* indiquant que l'extrait d'acétate d'éthyle renferme la plus grande teneur en polyphénols totaux.

Les teneurs rapportées par MABROUKI *et al.* (2015) dans leur étude portant sur l'évaluation de la capacité antioxydante et du contenu en polyphénols et en flavonoïdes d'*Opuntia streptacantha* et d'*Opuntia ficus indica* sont très basses par rapport aux résultats obtenus au cours de notre étude.

Ces mêmes auteurs ont signalé une différence significative quant au contenu des composés phénoliques appartenant aux deux espèces. En effet, l'extrait méthanolique de la pulpe d'*Opuntia ficus indica* présentait $54,33 \pm 2,51$ mg EAG/100 g d'extrait (soit 0,543 mg EAG/g d'extrait) tandis que la teneur en PPT était estimée à $106,66 \pm 1,52$ mg EAG/ 100 g d'extrait (soit 1,066 mg EAG/ g d'extrait) pour *Opuntia streptacantha*.

Les résultats obtenus dans la présente étude suggèrent que la teneur en PPT de notre extrait peut attribuer un potentiel antioxydant aux fruits d'*Opuntia ficus indica*. Or, comme

déclaré précédemment les solvants d'extraction jouent un rôle clé dans la dans la détermination de la teneur en composés phénoliques, et ce soit en augmentant ou en diminuant la teneur de ceux-ci. Ajouté à cela, la faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. D'après GOMEZ-CARAVACA *et al.* (2006), le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines.

Par conséquent, afin d'obtenir des fractions plus riches en polyphénols, il est préférable d'employer des mélanges solvant(s) organique(s)/eau à des proportions bien définies, car l'addition d'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des composés phénoliques.

3.1 Teneur en flavonoïdes totaux des extraits de figue de barbarie

Notre choix s'est orienté vers l'étude de cette classe de polyphénols, du fait que les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (GOMEZ-CARAVACA *et al.*, 2006).

La détermination quantitative des flavonoïdes a été effectuée selon la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) décrite par ZHISHEN *et al.* (1999), celle-ci est la plus employée car elle se base sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium ayant une absorbance maximale à 510 nm

La teneur en flavonoïdes totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage ($y = 0,0018x + 0,0173$) établie avec différentes concentrations de la quercétine, un flavonoïde très connu dans la famille des flavonols (Annexe 2). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par un gramme de matière sèche (mg EQ/g MS). Ces résultats ont permis de donner des estimations sur les quantités des flavonoïdes totaux contenus dans les fruits d'*Opuntia ficus indica* (extraits éthanoliques et extraits aqueux). Il est à noter que chaque essai a été effectué en triplicata ainsi que, chaque valeur exprimée dans le tableau XII est une moyenne (moyenne \pm Standard Errors « SD »).

Tableau XII : Teneurs en flavonoïdes totaux des différents extraits exprimées en mg EAG/g MS (n=3)

Extrait	Teneur des Flavonoïdes mg EQ/g MS
Aq	2,75 \pm 0,03
Et-OH	1,00 \pm 0,08

Le test de Student pour échantillons appariés a donné une p-value < 0,05, ce qui révèle une différence significative : le type de solvant utilisé influence la teneur en flavonoïdes totaux des différents extraits.

L'histogramme représenté en figure 22 illustre les teneurs en FVT des différents extraits d'*Opuntia ficus indica*.

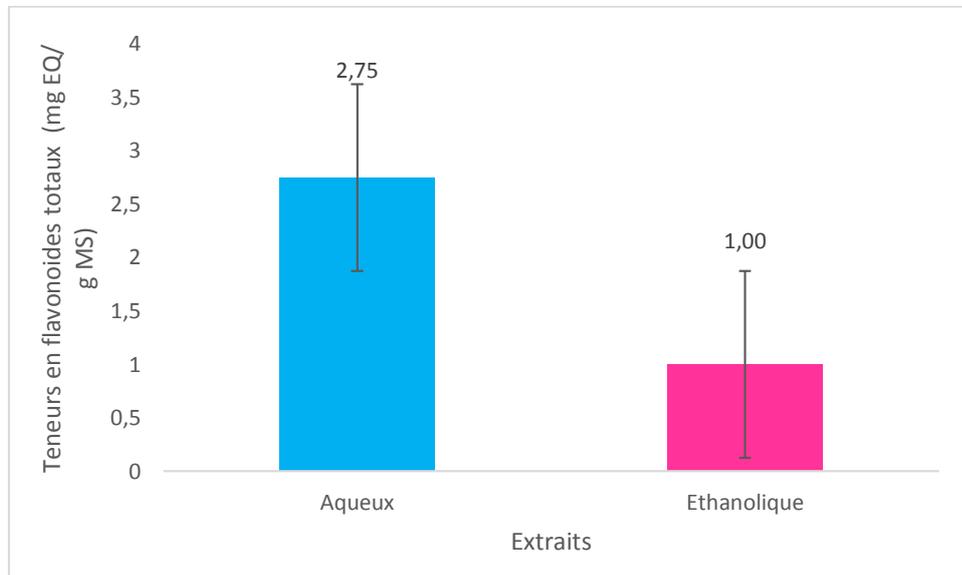


Figure 20 : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits d'*Opuntia ficus indica*

Les résultats obtenus lors du dosage des FVT (tableau XII et figure 20) montrent que les teneurs balancent entre $2,75 \pm 0,03$ mg EAG/g MS pour les fractions aqueuses et $1,00 \pm 0,08$ mg EAG/g MS pour les fractions éthanoliques. En comparant les teneurs en flavonoïdes à celles des composés phénoliques dans les deux extraits, nous remarquons qu'elles sont toutes plus faibles, ce qui suggère que les extraits contiennent d'autres composés phénoliques possédant d'autres structures chimiques que celles des flavonoïdes (acides phénoliques, tanins...).

Les teneurs en flavonoïdes totaux rapportées par MABROUKI *et al.* (2015) sur les extraits méthanoliques d'*Opuntia streptacantha* ($34,75 \pm 1,89$ mg ER/100 g d'extrait soit 0,347 mg ER/100 g d'extrait) étaient supérieures à l'extrait méthanolique d'*Opuntia ficus indica*, et sont à leur tour nettement inférieures aux résultats obtenus au cours de notre étude.

Cependant, dans l'étude conduite par YEDDES *et al.* (2014), portant sur la comparaison du pouvoir antioxydant, des polyphénols, des flavonoïdes et de bêta-cyanines de la pelure et de la pulpe de de trois formes d'*Opuntia* tunisiennes, il a été démontré d'une part que la majeure partie des flavonoïdes est concentrée dans la pelure du fruit plutôt que dans la pulpe.

D'autre part, les extraits méthanoliques de la pelure des fruits d'*Opuntia ficus indica* dépourvus d'épines renferment plus de flavonoïdes que les fruits d'*Opuntia ficus indica* pourvus d'épines. Et enfin, la teneur en flavonoïdes totaux de l'espèce *Opuntia ficus indica* est supérieure à celle d'*Opuntia streptacantha*.

En comparant les résultats de cette étude aux notre nous constatons que la teneur de nos extraits aqueux est légèrement supérieure aux teneurs des extraits méthanoliques de la pulpe et de la pelure des fruits d'*Opuntia ficus indica* pourvus d'épines (0,60 mg ER/g d'extrait et 1,30 mg ER/g d'extrait, respectivement), mais également supérieure à ceux d'*Opuntia streptacantha* (0,90 mg ER/g d'extrait et 1,40 mg ER/ g d'extrait) et aux extraits méthanoliques de la pulpe d'*Opuntia ficus indica* dépourvue d'épines (0,7 mg ER/g d'extrait). Cependant, l'extrait aqueux de notre échantillon présente la même teneur en flavonoïdes que l'extrait méthanolique de la pelure des fruits d'*Opuntia ficus indica*. Quant à notre extrait éthanolique, il semble renfermer une quantité en flavonoïdes légèrement supérieure à celle contenue dans la pulpe des deux espèces étudiées *Opuntia streptacantha* et *Opuntia ficus indica* (pourvu et dépourvu d'épines). Ces résultats nous permettent de constater que cette différence dans les teneurs trouve probablement son explication dans le choix du standard utilisé pour le dosage des flavonoïdes

Afin de mettre l'accent sur l'effet qu'exerce le solvant sur les teneurs en PPT et en FVT, les différentes fractions (aqueuse et éthanolique) ont été classés par ordre décroissant en teneur de composés phénoliques. Les différentes valeurs du contenu en polyphénols et en flavonoïdes totaux pour chaque extrait sont consignées dans le tableau XIII et l'histogramme ci-dessous.

Tableau XIII : Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans les deux extraits du fruit d'*Opuntia ficus indica*

Extrait	Polyphénols (mg/g MS)	Flavonoïdes (mg/g MS)
Aq	6,05 ± 0,06	2,75 ± 0,03
Et-OH	2,86 ± 0,59	1,00 ± 0,08

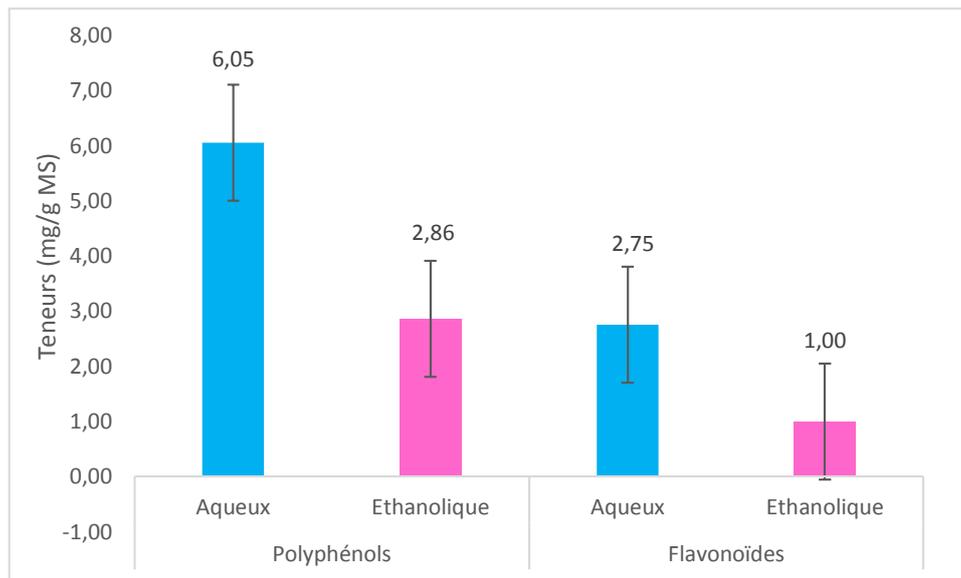


Figure 21 : Comparaison de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans les deux extraits du fruit d'*Opuntia ficus indica*

A la lumière des résultats des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes rapportés dans le tableau XIII et la figure 21, il en ressort que les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes sont largement supérieures dans les fractions aqueuses, et beaucoup moins importantes dans les fractions éthanoliques. Ces différences en teneurs peuvent être expliquées par l'influence qu'exercent les standards utilisés dans la calibration, les méthodes d'extraction ainsi que la nature des solvants utilisés. Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études.

A l'issue de ces résultats de la caractérisation quantitative, la figue de barbarie à travers ces constituants en polyphénols et en flavonoïdes constitue une source prometteuse en composés bioactifs bénéfiques à la santé humaine.

3.2 Activité antioxydante des composés phénoliques

Comme déclaré précédemment, la surproduction des radicaux libres dans l'organisme et le déficit du système de défense endogène peuvent engendrer diverses pathologies dont le cancer, le vieillissement...etc. Actuellement, les travaux de recherche visent à renforcer ces défenses endogènes, et ce par la valorisation de substances naturelles issues de végétaux qui sont douées des propriétés antiradicalaires. L'intérêt croissant porté à ces substances résulte des effets bénéfiques de leur pouvoir antioxydant sur la santé, ce qui a d'ailleurs mené au développement d'un grand nombre de procédés expérimentaux visant à déterminer leurs

capacités antioxydantes. C'est notamment le cas du test DPPH et FRAP qui figurent parmi les tests les plus cités dans la littérature. Les résultats diffèrent sensiblement selon le test utilisé. L'utilisation de tests différents nous a permis d'avoir une meilleure lecture de l'activité anti-radicalaire de nos extraits.

3.2.1 Réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

L'activité antioxydante des deux fractions de fruit d'*Opuntia ficus indica* (aqueuse et éthanolique) a été évaluée par la méthode du test FRAP. La présence des réducteurs (AH) dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} / complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyan dans le milieu réactionnel à 700 nm (CHUNG *et al.*, 2002). En effet, le système $\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination «semi-quantitative» des concentrations des antioxydants, qui participent à la réaction redox (AMAROWICZ *et al.*, 2004).

Les résultats obtenus lors de cette expérimentation sont illustrés en figure 22.

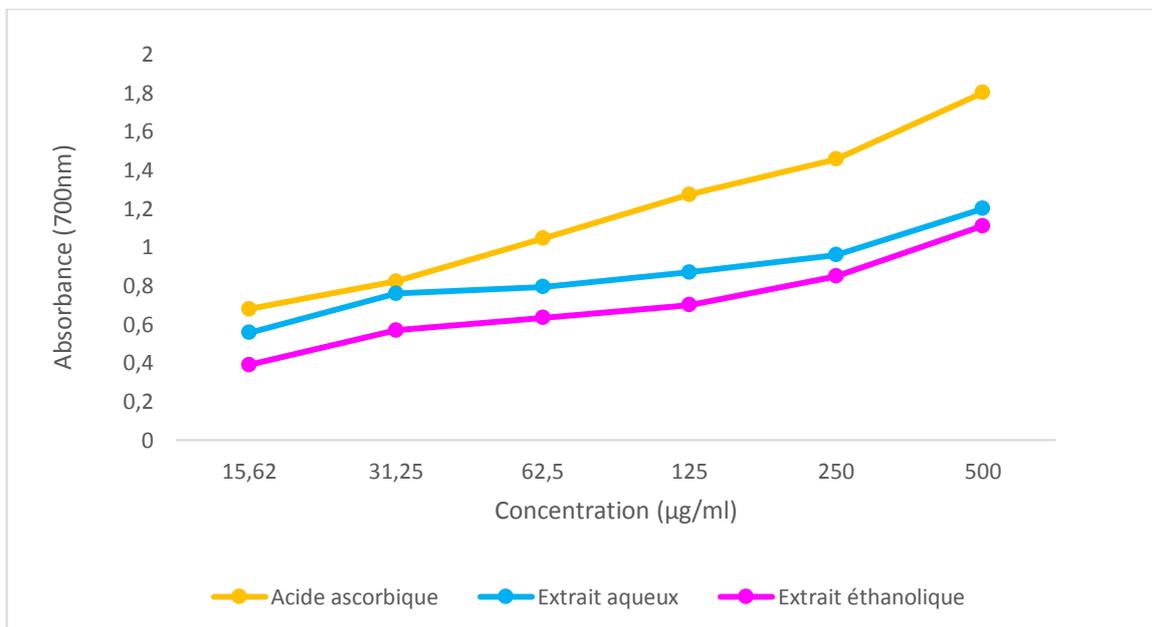


Figure 22 : Réduction du fer chez les différents extraits de fruits d'*Opuntia ficus indica*.

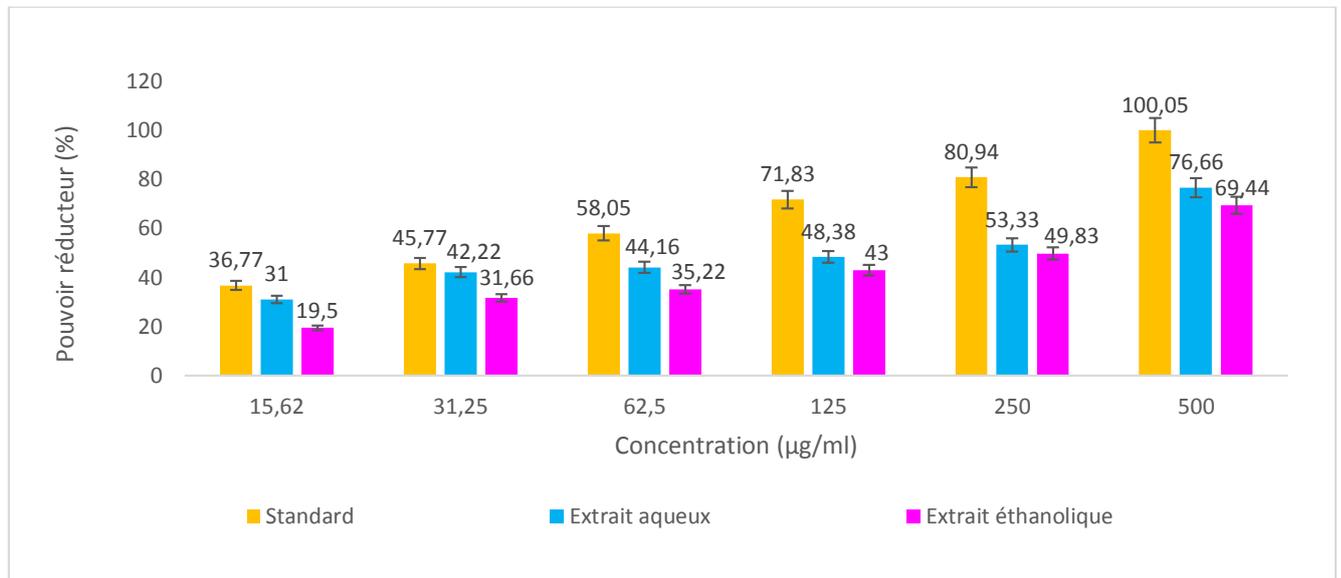


Figure 23 : Pouvoir réducteur des extraits d'*Opuntia ficus indica* et du standard

Au vu des résultats obtenus, nous remarquons qu'au niveau de chaque extrait la réduction du $\text{Fe}^{(3+)}$ en $\text{Fe}^{(2+)}$ est plus importante au fur et à mesure que l'on augmente la concentration en extrait. A titre d'exemple, à la concentration 500 µg/ml, le pouvoir réducteur de l'extrait aqueux d'*Opuntia ficus indica* est légèrement supérieur à celui de l'extrait éthanolique, mais légèrement inférieur à celui de l'acide ascorbique (figure 22 et figure 23). Nous concluons donc que l'augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel indique une activité accrue du pouvoir réducteur.

Le test de l'analyse de la variance (ANOVA) a donné une p-value > 0,05. Statistiquement il n'existe pas de différence significative ce qui implique que le pouvoir réducteur de l'extrait aqueux est égal au pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.

Le pouvoir réducteur des extraits d'*Opuntia ficus indica* est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (SIDDHURAJU et BECKER, 2007).

Plusieurs études se sont intéressées au pouvoir réducteur du fer, dont les travaux conduits par CHAALAL *et al.* (2012) ayant pour objet l'extraction des composés phénoliques et la capacité antioxydante *in vitro* des graines d'*Opuntia ficus indica*, dans cette étude il était question de déterminer les meilleures conditions d'extraction. Ces auteurs ont alors constaté que chaque paramètre étudié variait en fonction des conditions expérimentales, c'est notamment

le cas du pouvoir réducteur de fer (FRAP) de l'extrait d'acétone des graines d'*Opuntia ficus indica* ayant exprimé une capacité réductrice maximale de 237 mg EAA/100 g soit 2,37 mg/g.

Dans leur étude sur les propriétés phytochimiques, nutritionnelles et antioxydantes de deux cultivars de figues de barbarie ayant poussé en Arabie Saoudite, ABD EL-HAMEED *et al.* (2014), ont rapporté que les jus d'écorce et de pulpe du cactus rouge présentaient une forte pouvoir réducteur de fer de l'ordre de 149,49 et 123,23 mg EAA/ 100ml de jus soit 1,494 et 1,232 mg EAA/ ml de jus, respectivement, comparés aux jus d'écorce et de pulpe du cactus jaune (83,12 et 81,38 mg EAA/100ml de jus soit 0,831 et 0,813 mg EAA/ ml de jus, respectivement).

Les résultats obtenus dans la présente étude illustrant le pouvoir réducteur en mg/ g MS sont mis en évidence dans le tableau ci –dessous.

Tableau XIV : Pouvoir réducteur des extraits d'*Opuntia ficus indica* et du standard

Extrait	Pouvoir réducteur (mg /g MS)
Aq	0,163 ± 0,003
Et-OH	0,154 ± 0,006
Standard (Acide ascorbique)	0,165 ± 0,002

Ces résultats sont largement inférieurs à ceux trouvés dans des travaux antérieurs, cette différence trouve probablement son explication dans le choix de la procédure expérimentale, le standard utilisé ainsi que le choix du matériel végétal qui diffère d'une région à une autre c'est-à-dire les différences de teneurs en polyphénols sont en relation avec les conditions pédoclimatiques. Il semblerait également que nos résultats ne concordent pas avec ceux trouvés par CHAALAL *et al.* (2012) et ABD EL-HAMEED *et al.* (2014), car les fractions aqueuses et éthanoliques des figues de barbarie, ont montré un pouvoir réducteur relativement plus bas.

3.2.2 Pouvoir anti radicalaire par piégeage du radical DPPH

La méthode de piégeage du radical libre (DPPH) a été retenue pour évaluer l'activité antioxydante des extraits des plantes, car elle est reconnue comme étant simple, rapide et efficace en raison de la grande stabilité du radical (BOZIN *et al.*, 2008).

La mesure de l'absorbance (ou densité optique DO) a été effectuée par spectrophotométrie à 517 nm. A partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition (RSA) en utilisant la formule donnée auparavant.

La figure 26 regroupe les différents pourcentages de piégeage du radical libre DPPH après une heure d'incubation pour différentes concentrations de l'extrait d'*Opuntia ficus indica* et de l'acide ascorbique utilisé comme standard.

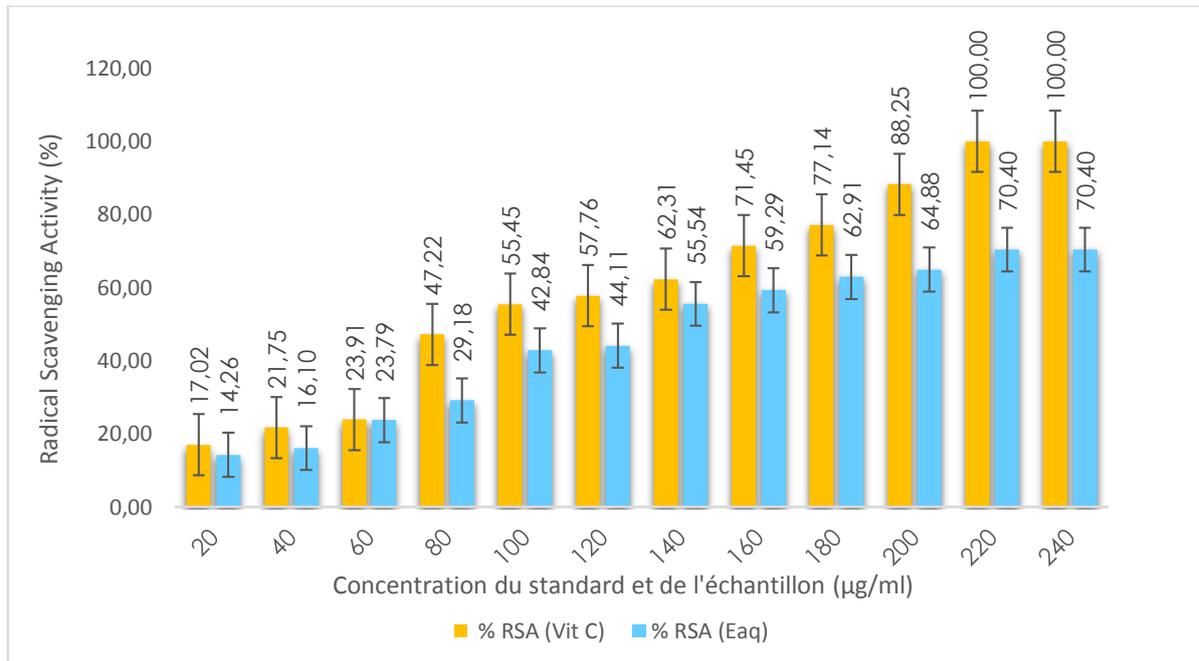


Figure 24 : Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations du standard et de l'extrait aqueux d'*Opuntia ficus indica* (n=2)

Le test de Student pour échantillons indépendants a montré une p-value < 0,05, donc statistiquement il n'existe pas de différence significative. Le pourcentage RSA de l'extrait aqueux est égal à celui du standard.

L'activité anti radicalaire de notre extrait et du standard est exprimée en IC₅₀. Pour chaque extrait l'IC₅₀ est déduite de la droite d'étalonnage correspondante. Notons qu'une valeur d'IC₅₀ faible correspond à une activité antioxydante élevée. Le pouvoir antiradicalaire des différents extraits et du standard est illustré dans la figure ci-dessous :

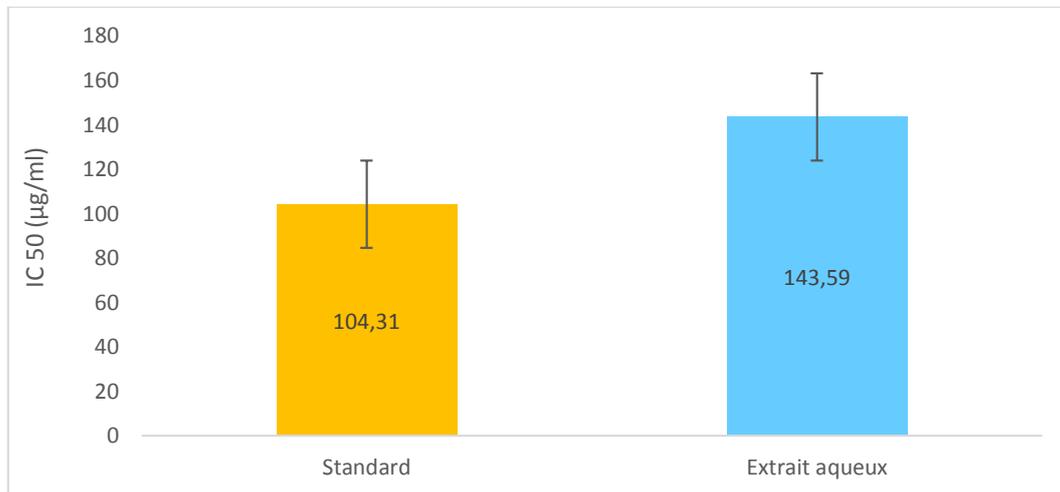


Figure 25 : Valeurs d'IC₅₀ de l'extrait aqueux et du standard

Comme illustré dans la figure ci-dessus l'antioxydant standard (Acide ascorbique) a montré une activité antioxydante puissante avec une IC₅₀ de l'ordre de 104,31 µg/ml contre 143,59 µg/ml pour l'extrait aqueux.

Il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, tocophérol, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (DE POOTER et SCHAMP, 1986). Les polyphénols contenus dans les extraits d'*Opuntia ficus indica* sont probablement responsables de l'activité antioxydante de ces extraits. (ALIMI *et al.*, 2013), cela est en accord avec les travaux menés sur les extraits de *S. montana*, espèce riche en composés phénoliques qui sont responsables de nombreuses activités biologiques notamment l'activité antioxydante et antimicrobienne (ĆETKOVIĆ *et al.*, 2007).

En comparaison des résultats d'autres études les notre sont relativement bas, c'est le cas des travaux dirigés par LEE *et al.* (2002). Ces auteurs se sont intéressés à l'activité antioxydante des extraits ethniques du tronc d'*Opuntia ficus indica*, leurs résultats ont montré que cet extrait inhibe significativement l'activité du radical DPPH et que la concentration requise pour obtenir une réduction de 50% du radical DPPH (IC₅₀) calculée à l'aide de la courbe du pourcentage d'inhibition était estimée à 9,3 µg/ml contre 3,2 µg/ml pour l'acide ascorbique. A l'issu de ces résultats ces auteurs ont conclu que l'*Opuntia ficus indica* est un puissant antioxydant naturel.

La comparaison de nos résultats à ceux rapportés dans la littérature nous permet de constater que la valeur d'IC₅₀ trouvée par ALIMI *et al.* (2013) de l'extrait méthanolique, pour la variété inerme d'*Opuntia ficus indica* (0,68 ± 0,49 mg/ml soit 680 µg/ml) est largement plus élevée que la nôtre (0,143 ± 0,004 mg/ml soit 143,59 ± 0,004 µg/ml), ce qui nous mène à

conclure que notre extrait aqueux a montré une activité antioxydante plus puissante que l'extrait méthanolique testé par (ALIMI *et al.*, 2013).

Le mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le radical DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant (KOURI *et al.*, 2007). Ce dernier réagit avec le radical DPPH en réduisant un nombre égal des groupements hydroxyles portés par la molécule de l'antioxydant (BONDET *et al.*, 1997).

Des études montrent que l'activité anti-radicalaire est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes médicinales (MARIOD *et al.*, 2009 ; LOCATELLI *et al.*, 2010). Ceci mène à suggérer que l'effet antioxydant de différents extraits de notre plante peut être dû à un synergisme entre les polyphénols et d'autres composants.

3.3 Activité antimicrobienne

Les plantes contiennent de nombreux composés doués d'une action antimicrobienne, ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes, les huiles essentielles et les triterpénoïdes ROJAS *et al.* (1992), le pouvoir antimicrobien des extraits de plantes est tributaire de leurs compositions chimiques. D'après BASLI *et al.* (2012), l'effet antibactérien des polyphénols est l'une des activités biologiques les plus étudiées.

Ce travail a pour objectif de mettre en évidence la présence ou l'absence d'un potentiel antimicrobien dans les extraits de fruits d'*Opuntia ficus indica*, notre choix d'étude s'est porté sur dix souches microbiennes étant donné que chacune d'elles possède des structures cellulaires et un métabolisme particulier. Il s'est en suivi et d'une comparaison entre le potentiel antimicrobien des extraits et celui des antibiotiques standards utilisés. Dans ce dernier, la sensibilité des souches se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques.

La sensibilité des bactéries aux extraits est déterminée selon le diamètre du halo d'inhibition autour de chaque disque. Ainsi le degré de sensibilité des souches bactériennes testées est déterminé par comparaison de leurs diamètres d'inhibition aux diamètres référencés (tableaux XV, XVI).

Tableau XV : Antibiogramme des germes étudiés en présence des différents antibiotiques
(Diamètre de la zone d'inhibition en mm)

	Souche bactériennes	ATB										
		RA	I	SXT	N	FOX	CTX	P	CS	CZ	AM	OX
Les diamètres des zones d'inhibition en millimètre (mm)	<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	22	38	R	NT	NT	NT	R	14	R	R	NT
	<i>E. coli</i>	20	40	R	NT	NT	NT	R	14	R	10	NT
	<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	18	35	R	NT	NT	NT	R	14	R	R	NT
	<i>Staph.aureus</i> (ATCC 43300)	54	60	40	27	R	R	R	NT	NT	NT	NT
	<i>Staphylococcus aureus</i>	49	34	25	16	R	R	R	NT	NT	NT	NT
	<i>K. pneumoniae</i>	20	40	23	NT	10	R	NT	07	NT	NT	R
	<i>Acinétobacter baumannii</i>	13	R	NT	NT	NT	09	13	14	NT	R	R
	<i>Bacillus Cereus</i> (ATCC 10876)	20	40	R	17	R	R	R	NT	NT	NT	R
Souche fongique	Amphotéricine B											
	Fungizone®											
	<i>Aspergillus niger</i>	10										
	<i>Candida albicans</i>	15										

NT : Non testé ; R : Résistante

RA : Rifampicine ; I : Imipineme SXT : Sulfamethoxazole-trimethoprim ; N : Neomycine ;

FOX : Céfoxitine ; CTX : Céfotaxime ; P : Benzylpénicilline ; CS : Colistine ;

CZ : Céfazoline ; AM : Ampicilline ; OX : Oxacilline.

Les observations effectuées sur les effets des extraits de fruits d'*Opuntia ficus.indica* sur la croissance des souches microbiennes testées sont représentées dans le tableau XVI et la figure 31. Les deux extraits d'*Opuntia ficus indica* se sont révélés actifs sur toutes les souches bactériennes testées mais avec des degrés différents.

Tableau XVI : Activité antimicrobienne des extraits bruts d'*Opuntia ficus indica* (diamètre des zones d'inhibition en mm) (n=3)

Microorganismes	<i>Opuntia ficus indica</i>	
	10 mg/mL	
	Aqueux	Ethanolique
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	16,33 ± 3,21	10,33 ± 0,58
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 43300)	13,33 ± 2,52	12,67 ± 2,31
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	15,33 ± 4,51	11,00 ± 1,00
<i>Escherichia coli</i>	12,00 ± 1,00	11,33 ± 0,58
<i>Staphylococcus aureus</i>	13,33 ± 3,21	19,67 ± 13,32
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14,00 ± 7,00	13,00 ± 2,00
<i>Acinetobacter baumannii</i>	13,33 ± 1,53	09,67 ± 0,58
<i>Bacillus Cereus</i> (ATCC 10876)	14,00 ± 6,93	12,33 ± 2,31
<i>Aspergillus niger</i>	10,00 ± 0,00	06,00 ± 0,00
<i>Candida albicans</i>	10,00 ± 0,00	13,67 ± 2,31

Notons que les valeurs exprimées dans le tableau ci-dessus représentent la moyenne de 3 mesures ± Standard Errors « SD ». Les mesures des halos d'inhibition (diamètre du disque inclus) nous ont permis de classer les microorganismes suivant leur degré de sensibilité aux différents extraits :

- $\emptyset < 8$ mm : bactérie non sensible ;
- $9 < \emptyset < 14$ mm : bactérie sensible ;
- $15 < \emptyset < 19$ mm : bactérie très sensible ;
- $\emptyset > 20$ mm : bactérie extrêmement sensible (MOREIRA *et al.*, 2005).

Onze (11) antibiotiques standards sont testés sur huit souches bactériennes Gram (+) et Gram (-), nous avons observé que les différentes souches réagissent différemment aux antibiotiques étudiés (figure 26). En plus des onze antibiotiques testés s'ajoutent deux antifongiques testés sur les deux souches fongiques (figure 27).

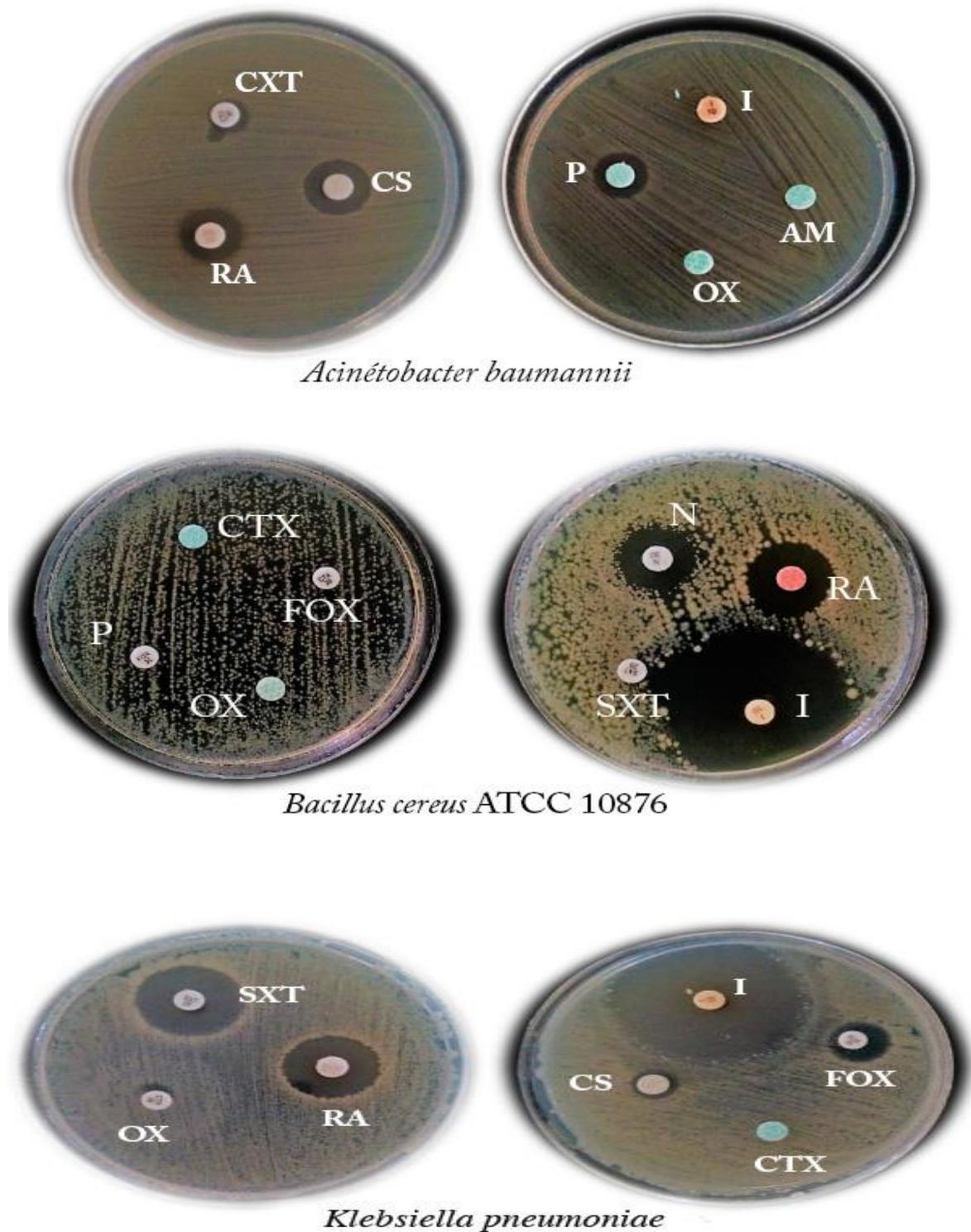
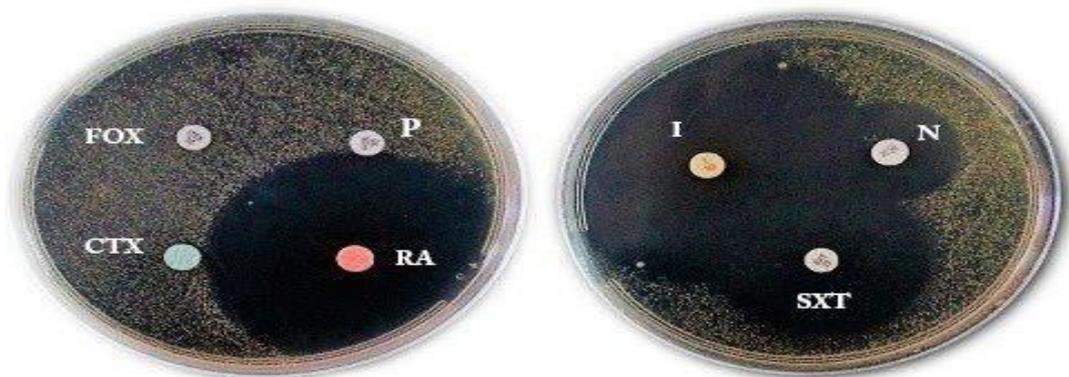


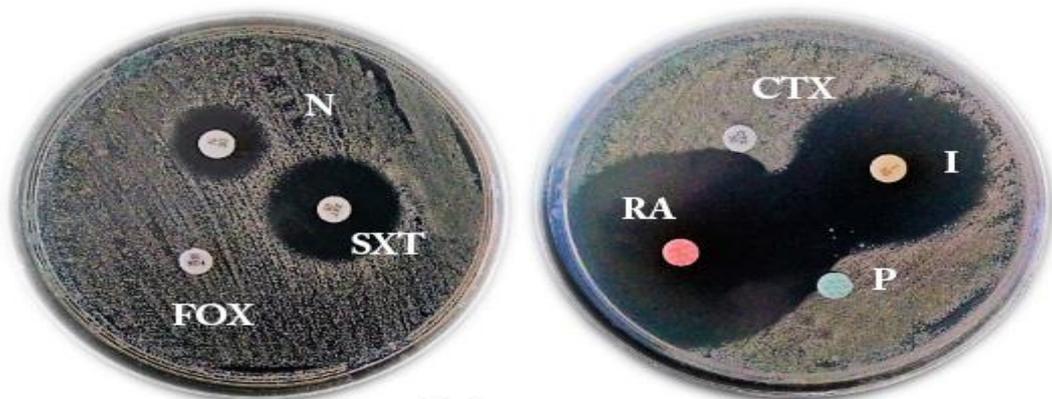
Figure 26 : A) Témoins positifs réalisés avec les antibiotiques : RA : Rifampicine, I : Imipenème, SXT : sulfaméthoxazole-triméthoprimine, N : Néomycine, FOX : Céfoxitine, CTX : Céfotaxime, P : Colistine, CS : Céfazoline, AM : Ampicilline, OX : Oxacilline sur *A. baumannii*, *B. cereus* ATCC 10876 et *K. pneumoniae*.



Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853



Staphylococcus aureus ATCC 43300



staphylococcus aureus

Figure 26 : B) Témoins positifs réalisés avec les antibiotiques : **RA** : Rifampicine, **I** : Imipenème, **SXT** : sulfaméthoxazole-triméthoprimine, **N** : Néomycine, **FOX** : Céfoxitine, **CTX** : Céfotaxime, **P** : Colistine, **CS** : Céfazoline, **AM** : Ampicilline, **OX** : Oxacilline sur *P. aeruginosa* ATCC, *S.aureus* ATCC et *S. aureus*.

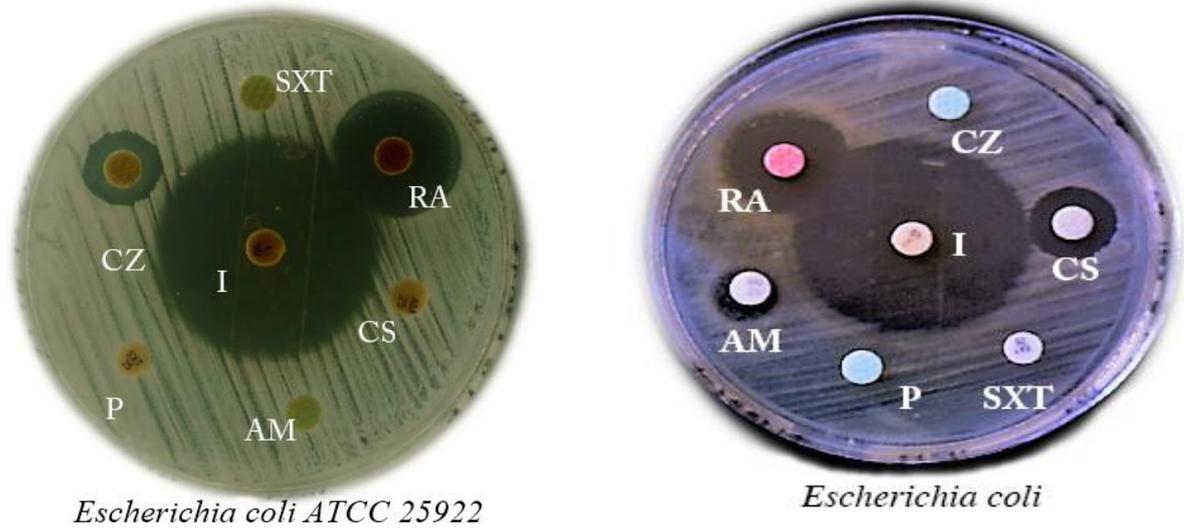


Figure 28 : C) Témoins positifs réalisés avec les antibiotiques : **RA** : Rifampicine, **I** : Imipenème, **SXT** : sulfaméthoxazole-triméthoprimine, **N** : Néomycine, **FOX** : Céfoxitine, **CTX** : Céfotaxime, **P** : Colistine, **CS** : Céfazoline, **AM** : Ampicilline, **OX** : Oxacilline sur *E. coli* ATCC 25922 et *E. coli*.

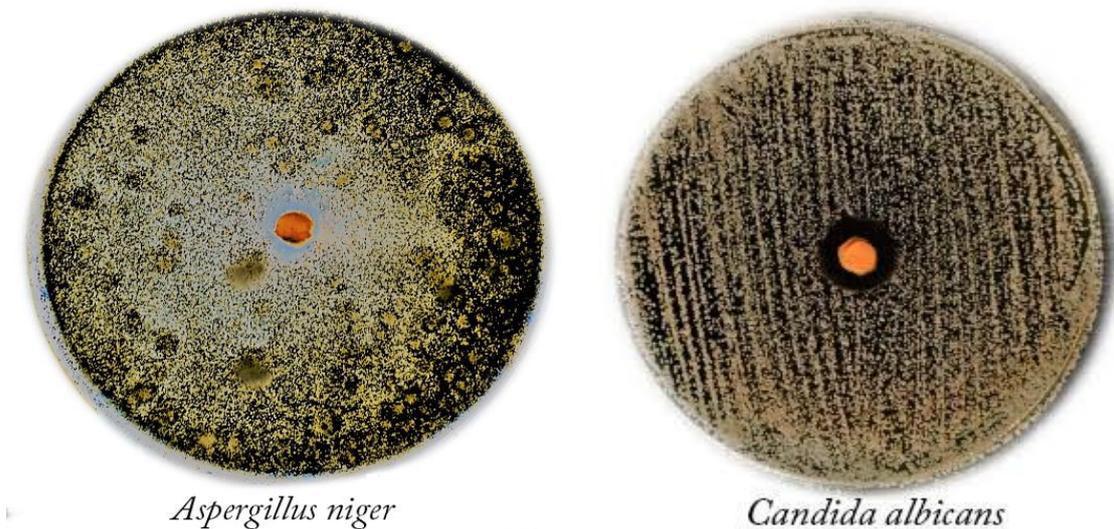


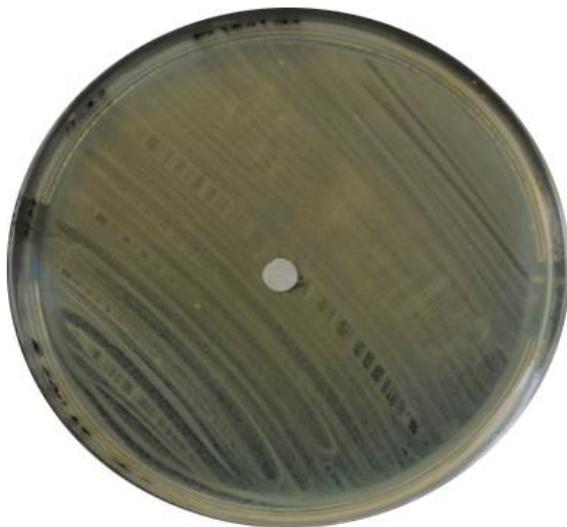
Figure 27: Témoins positifs réalisés par l'antifongique (Amphotéricine B) sur les deux souches fongiques testées.



Acinetobacter baumannii



Bacillus cereus ATCC 10876



Escherichia coli

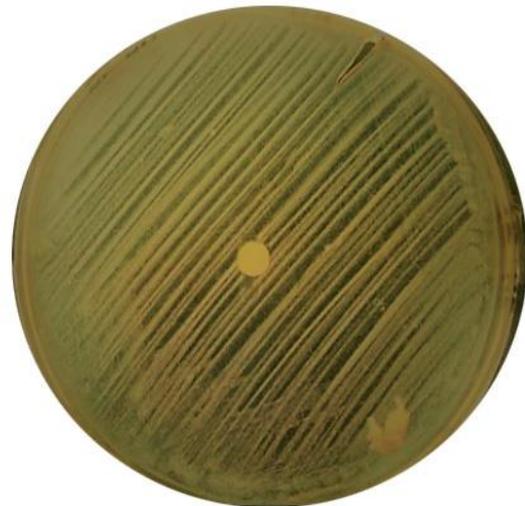


Escherichia coli ATCC 25922

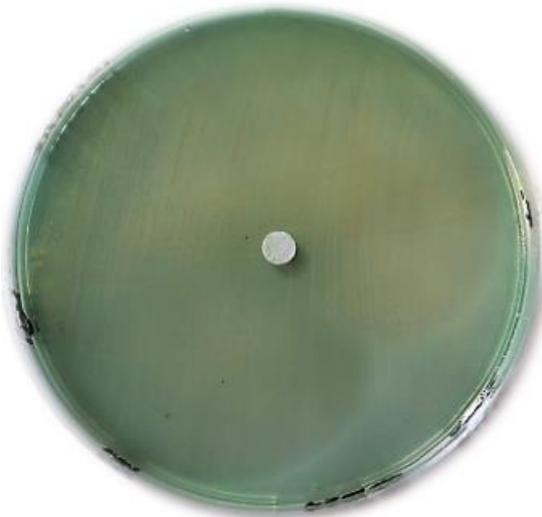
Figure 28 : A) Témoins négatifs réalisés avec le méthanol sur *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Escherichia coli* et *Escherichia coli* ATCC 25922.



staphylococcus aureus



staphylococcus aureus ATCC 43300



Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853



Klebsiella pneumoniae

Figure 28 : B) Témoins négatifs réalisés avec le méthanol sur *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Klebsiella pneumoniae*.



Figure 28 : C) Témoins négatifs réalisés avec le méthanol sur *A. niger* et *C. albicans*.

La figure 29 met en évidence les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus avec les deux extraits à une concentration de l'ordre de 10mg/ml pour les différentes souches microbiennes testées.

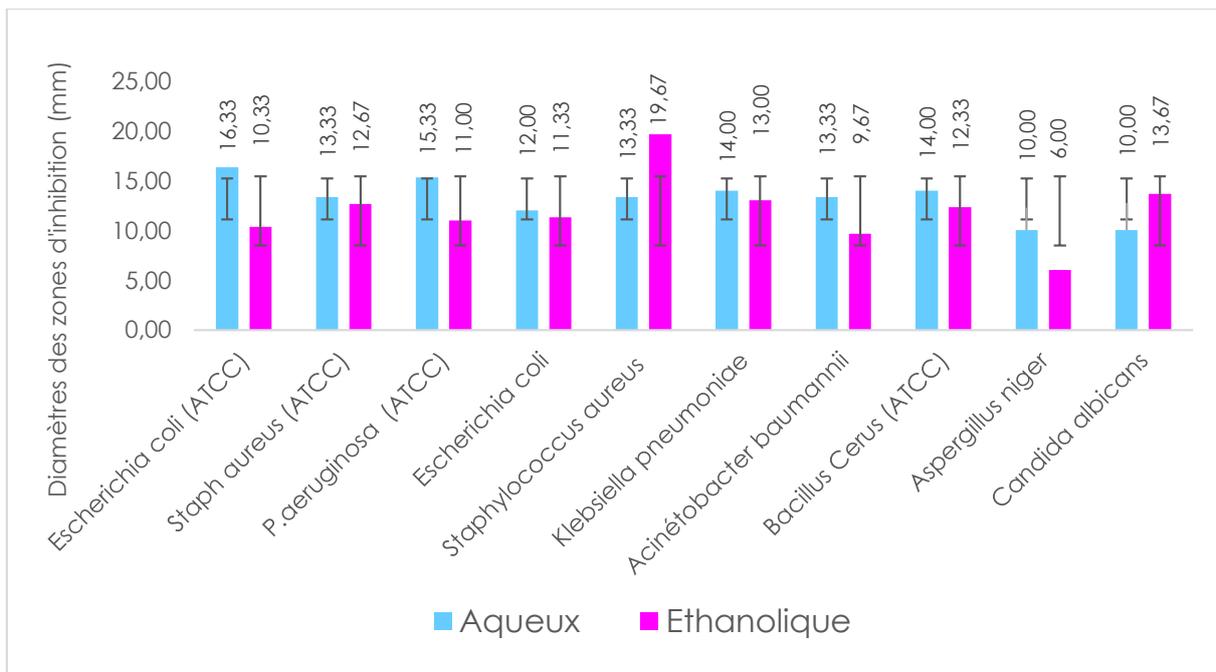


Figure 29 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition en (mm) exprimées par les extraits d'*Opuntia ficus indica* à la concentration de 10 mg/ml.

Au vu des résultats obtenus, il en ressort que tous les extraits de fruits d'*Opuntia ficus indica* se sont avérés actifs sur la plupart des microorganismes testés. En effet, ces derniers semblent présenter une sensibilité modérée vis-à-vis des deux extraits d'*Opuntia ficus indica* (aqueux et éthanolique) et ce, à une concentration estimée à 10 mg/ml.

Ces résultats montrent également que l'extrait éthanolique s'est avéré inactif contre *Aspergillus niger* ce qui suggère que cette moisissure possède un potentiel de résistance très élevé (figure 30). En revanche, une sensibilité importante est détectée chez quelques microorganismes dont :

- *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de $19,67 \pm 13,32$ mm pour l'extrait éthanolique (figure 31), ce diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à celui obtenu avec l'un des antibiotiques testés N : Néomycine ($\emptyset = 16$ mm) ce résultat est en accord avec les résultats illustrant l'activité antimicrobienne des extraits de solvants de la pelure de fruits d'*Opuntia stricta* obtenus par KOUBAA *et al.* (2015), montrant que l'activité la plus importante a été détectée contre *Staphylococcus aureus*.
- *Escherichia coli* (ATCC 2592) avec une zone d'inhibition de $16,33 \pm 3,21$ mm pour l'extrait aqueux (figure 32), ce diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à l'un des antibiotiques testés CS : Colistine ($\emptyset = 14$ mm).
- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) avec une zone d'inhibition de $15,33 \pm 4,51$ mm pour l'extrait aqueux (figure 33), ce diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à l'un des antibiotiques testés CS : Colistine ($\emptyset = 14$ mm).



Figure 30 : Effet de l'extrait éthanolique sur *Aspergillus niger*



Figure 31 : Effet de l'extrait aqueux sur *Staphylococcus aureus*



Figure 32 : Effet de l'extrait aqueux sur *E. coli* (ATCC 25922)

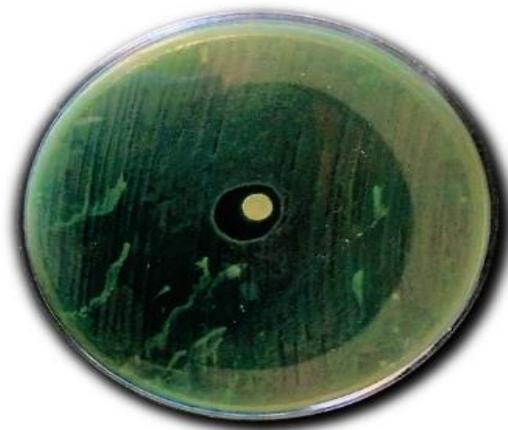


Figure 33 : Effet de l'extrait aqueux sur *P. aeruginosa* (ATCC 27853)

Le test de Student pour échantillons appariés a donné une p-value $< 0,05$, donc statistiquement il existe une différence significative, c'est-à-dire que la nature du solvant utilisé n'influence pas le diamètre des zones d'inhibition en l'occurrence l'activité antimicrobienne.

A l'issu de ces résultats il semble que tous les extraits ont réagi positivement sur au moins une des souches microbiennes testées, ce qui confirme que le fruit d'*Opuntia ficus indica* est doué de propriétés antimicrobiennes.

Au vu des résultats de l'activité antimicrobienne des extraits d'hexane des fleurs d'OFI rapportés par ENNOURI *et al.* (2014), il apparait qu'à l'exception de *Bacillus subtilis* (CTM 50077) et de *Candida lipolytica* (CTM 30027), tous les microorganismes testés auraient présenté une sensibilité variable aux extraits d'hexane d'*Opuntia ficus indica* (pleine et post-floraison) et que les diamètres d'inhibition enregistrés lors de cette étude semblent légèrement supérieurs aux diamètres enregistrés au cours de notre étude, et ce pour les deux extraits, aqueux et éthanolique. Cependant, notre extrait aqueux à une concentration de 10 mg/ml a montré une activité modérée vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* ($13,33 \pm 3,21$ mm) inférieur à celle de l'extrait « pleine floraison » d'hexane ($15,7 \pm 0,4$) mais supérieur à celle de l'extrait d'hexane « post-floraison » ($12,9 \pm 0,7$ mm).

Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram (-) (TURKMEN *et al.*, 2007 ; FALLEH *et al.*, 2008), ceci peut s'attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries Gram (-) et Gram (+). Les bactéries Gram (-), indépendamment de la membrane des cellules, possèdent une couche additionnelle, la membrane externe, qui se compose de phospholipides, de protéines et de lipopolysaccharides, cette membrane est imperméable à la plupart des molécules. Néanmoins, la présence des porines dans cette couche permettra la diffusion libre des molécules avec une masse moléculaire en-dessous de 600 Da. Cependant, l'inhibition de la croissance des bactéries Gram (-) a été rapportée, particulièrement en combinaison avec les facteurs qui peuvent déranger l'intégrité de la cellule et/ou la perméabilité de la membrane, telle que les basses valeurs du pH et les concentrations accrues en NaCl (GEORGANTELIS *et al.*, 2007).

La zone d'inhibition augmente considérablement avec la concentration des extraits, ce qui a été constaté aussi par DORDEVIC *et al.* (2007). Les auteurs ont révélé des zones d'inhibition de l'ordre de ($20,5 \pm 1,8$ mm), ($12,8 \pm 0,5$ mm) et ($16,3 \pm 0,5$ mm), respectivement pour les souches *Staphylococcus aureus* ATCC, *Escherichia coli* ATCC, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC pour une dilution au 2%, ces zones sont augmentées de l'ordre de : ($21,8 \pm 0,9$ mm), ($13,5 \pm 0,5$ mm) et ($19,3 \pm 0,5$ mm) pour une dilution au 4%.

La charge du disque influe l'activité antimicrobienne, RASOOLI *et al.* (2008) ont remarqué que l'inhibition de la croissance est forte lorsque le disque est plus chargé. Nous avons employé une quantité moyenne de 15 µl d'extrait par disque, par rapport à BARI *et al.* (2012) qui ont employé des fractions plus riches : 100 µl par disque.

La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne influe aussi sur les résultats. NATARAJAN *et al.* (2005) et FAZELI *et al.* (2007) ont constaté que la méthode de diffusion à partir des puits sur gélose est plus adaptée pour étudier l'activité des extraits aqueux et organiques que la méthode de diffusion en milieu gélosé.

BRANTNER *et al.* (1996) rapportent que les composés phénoliques, les flavonoïdes et les stéroïdes à une certaine concentration peuvent inhiber la croissance des microorganismes. Selon FALLEH *et al.* (2008), l'activité antimicrobienne ne dépend pas seulement de la présence des composés phénoliques, mais également de la présence de divers métabolites secondaires, de l'emplacement et le nombre des groupes d'hydroxyles.

CONCLUSION

Conclusion

Les plantes médicinales demeurent à ce jour la source la plus fiable des principes actifs connus pour leurs propriétés thérapeutiques, pharmacologiques, cosmétologiques et agricoles. Au cours de ces dernières années, de nombreux chercheurs se sont intéressés aux composés biologiquement actifs isolés des extraits de plantes, qui sont considérés comme de véritables usines chimiques dont il faut tirer le maximum de profit afin de pallier aux composés d'origine synthétique.

Cette étude pouvant être perçue comme une ébauche à une étude à venir plus approfondie, avait pour objectif l'estimation de la teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux ainsi que les activités *in vitro* antioxydante et antimicrobienne des extraits aqueux et éthanolique des fruits d'*Opuntia ficus indica*.

La détermination des rendements en extraits a montré une rentabilité qui diffère en fonction des solvants utilisés : $6,20 \pm 1,47\%$ pour l'extrait aqueux contre $5,33 \pm 0,58\%$ pour l'extrait éthanolique.

L'estimation quantitative des polyphénols totaux a été réalisée par le réactif de Folin-Ciocalteu et a montré que l'extrait aqueux est considéré comme l'extrait le plus riche en polyphénols comparé à l'extrait éthanolique, les valeurs respectives étaient comme suit : $6,05 \pm 0,06$ et $2,86 \pm 0,59$ mg EAG/g de matière sèche.

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), pour l'extrait aqueux et éthanolique les valeurs respectives étaient comme suit : $2,75 \pm 0,03$ et $1,00 \pm 0,08$ mg EQ/g de matière sèche.

L'activité antioxydante *in vitro* des deux extraits d'*Opuntia ficus indica* a été évaluée par deux méthodes distinctes, à savoir la méthode de piégeage des radicaux 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) et la méthode pouvoir réducteur du fer (FRAP).

A l'issue des résultats obtenus nous avons constaté que la fraction aqueuse renferme de puissants composés actifs capables de réduire ce radical libre, puisqu'ils agissent à des faibles concentrations, néanmoins, cette valeur demeure largement inférieure à celle enregistrée pour l'acide ascorbique (standard). Les valeurs les plus basses des IC_{50} ont été enregistrées et sont de l'ordre de $143,59 \pm 0,004$ μ g/ml pour l'extrait aqueux contre $104,31 \pm 0,012$ μ g/ml pour le standard (acide ascorbique).

Les résultats obtenus pour la mesure de l'activité antioxydante en utilisant la méthode du pouvoir réducteur du fer (FRAP) ont montré une fois de plus que l'extrait aqueux est plus actif

que l'extrait éthanolique $163,21 \pm 0,003 \mu\text{g/g}$ d'extrait sec contre $154,00 \pm 0,006 \mu\text{g/g}$ d'extrait sec, cependant légèrement moins actif que l'acide ascorbique utilisé en guise de standard ($165,5 \pm 0,002 \mu\text{g} / \text{g}$ d'extrait sec)

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur huit souches bactériennes et deux souches fongiques, selon la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Les résultats indiquent que les deux extraits possèdent une activité antimicrobienne au moins sur une souche microbienne, ce qui laisse penser qu'*Opuntia ficus indica* est doué de propriétés antimicrobiennes.

Au vu des résultats obtenus au cours de cette étude, des perspectives à venir s'imposent :

- élargir le spectre d'étude en étudiant la plante d'autres régions à des fins comparatives ;
- réaliser un screening phytochimique complet afin de révéler la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires (flavonoïdes, tanins, saponosides, cires...etc) ;
- caractériser les composés actifs dans les différents extraits (étude qualitative) en vue d'identifier les différentes molécules responsables des différentes activités biologiques de cette plante ;
- effectuer une étude à l'échelle moléculaire afin de déterminer d'une part les composés des fruits d'*Opuntia ficus indica* (notamment ce qui concerne l'identification et la purification des composés phénoliques) qui peuvent être responsables de tels effets et d'autre part, le mécanisme absolu par lequel ces composés accomplissent leurs effets antioxydants.
- réaliser une étude toxicologique de cette plante ;
- étendre l'éventail des tests antioxydants et antimicrobiens et pourquoi pas tester les activités anti-inflammatoire, antidiabétique, anticancéreuses et antiviellissement...etc.

BIBLIOGRAPHIE

A

- **ABD EL-HAMEED E.S., NAGATY M.A., SALMAN M.S. et BAZAID S.A. (2014).** Phytochemicals, nutritionals and antioxidant properties of two prickly pear cactus (*Opuntia ficus indica* Mill.) growing in Taif, KSA. *Food Chemistry.*, 160: 31-38.
- **ABOYA-MOROH J.L. (2013).** Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides*. Thèse de doctorat. Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, Bretagne Occidentale, France.
- **ADLERCREUTZ H. et MAZUR W. (1997).** Phyto-oestrogens and western diseases. *Annals of Medicine.*, 29: 95-120.
- **Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM). (2012).** Les antibiotiques, un médicament pas comme les autres in : « Dossier thématique : Bien utiliser les antibiotiques ».
- **Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM). (2012).** Dix ans d'évolutions de la consommation des antibiotiques en France
- **AKOWAUH G.A., ZHARI I., NORGYATI I., SADIKUN A. et KHAMSAH S.M. (2004).** The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food chemistry.*, 4 (87) : 559-566.
- **ALEKSHUN M.N. et LEVY S.B. (2007).** Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell.*, 128 (6): 1037-1050.
- **ALEXandrova M.L et BOCHEV P.G. (2007).** Oxidative Stress in Stroke; in: «Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders». 1st ed. Elsevier BV. Amsterdam. 313-368.
- **ALIMI H., BOUONI Z., FERIANI A., HFAEIDH N., SAKLY M. et BEN RHOUMA K., (2013).** Preliminary characterization, antioxidant activities and ulcer curative effect of *opuntia ficus indica f. inermis* roots polysaccharides in rats. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research.*, 2 (4): 42-51.
- **ALI-SHTAYEH M.S., YAGHMOUR R.M.R., FAIDI Y.R., SALEM K. et AL-NURI M.A. (1998).** Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology.*, 3 (60): 265-271.

- **ALTIOK E., DENIZ B., OGUZ B. et SEMRA U. (2008).** Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea*. L) by adsorption on silk fibroin. *Separation and Purification Technology.*, 2 (62): 342-348.
- **AMAROWICZ R., PEGG R.B., RAHIMI-MOGHADDAM P., BARL B., et WEIL J.A. (2004).** Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry.*, 84: 551-562.
- **ANDERSON C.M., HALLBERG A., et HOGBERG T. (1996).** Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Advances in Drug Research.*, 28 : 65-180.
- **ANDREMONT A. T. et TIBON-CORNILLOT M. (2007).** Le triomphe des bactéries : La fin des antibiotiques ? Max Milo Editions. Paris. 204-218
- **ANTOLOVICH M., PRENZLER P.D., PATSALIDES E., MC DONALD S., et ROBARDS K. (2002).** Methods for testing antioxidant activity. *Analyst.*, 127 (1): 183-198.
- **APAK R., GÜCLÜ K., DEMIRATA B., ÖZYÜREK M., ÇELİK S.E., BEKTASOĞLU B., BERKER K. I. et ÖZYURT D. (2007).** Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules.*, 12 (7): 1496-1547.
- **ARBA M. (2009).** Le cactus opuntia, une espèce fruitière et fourragère pour une agriculture durable au Maroc. Symposium International « Agriculture durable en région Méditerranéenne (AGDUMED) ». 215-223.
- **ASKAR A. et EL SAMAHY S.K. (1981).** Chemical composition of prickly pear fruits. *Deutsche Lebensmittel –Rundschau.*, 77 (8) : 279-281.

B

- **BAHAZ M. et RACHDI H. (2010).** Quantification des principes actifs (Les composés phénoliques) de *Rhetinolepis Lonadoides* Coss (Tichert). Mémoire d'ingénieur. Université Kasdi Merbah, Ouargla, Algérie.
- **BARBERA G., CARIMI F. et INGELESE P. (1992).** Past and role of the Indian-fig prickly pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, Cactaceae) in the agriculture of Sicily. *Economic Botany.*, 1 (46): 10-20.
- **BARI M.N., ZUBAIR M., RIZWAN K., RASOOL N., BUKHARI I.H., AKRAM S., BOKHARI T.H., SHAHID M., HAMEED M. et VIQAR U.A. (2012).** Biological

Activities of *Opuntia Monacantha* Cladodes. *Journal of the Chemical Society of Pakistant.*, 4 (34): 990-995.

- **BASLI A., CHIBANE M., MADANI K. et OUKIL N. (2012).** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf., *Phytothérapie.*, 1 (10) : 2-9.
- **BAUDIN B. (2006).** Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *MT cardio.*, 1 (2) : 43-52.
- **BAUDRY C. et BREZELLE C. H. (2006).** Cahiers du préparateur en pharmacie : Microbiologie-Immunologie. 2^{ème} édition. Editions Porphyre. Paris. 35- 46.
- **BELKHIRI F. (2009).** Activité antimicrobienne et antioxydante des extraits du *Tymus communis* L. et *Carthamus caeruleus* L. Mémoire de Magister. Université Ferhat Abbas. Sétif, Algérie.
- **BELYAGOUBI-BENHAMMOU N. (2011).** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie, Université Aboubakr Belkaïd, Tlemcen, Algérie.
- **BEN SALEM H., NEFZAOUI A. et BEN SALEM L. (2002).** Supplementing spineless cactus (*Opuntia ficus indica* f. inermis) based diets with urea-treated straw or oldman saltbush (*Atriplex nummularia* L.). Effects on intake, digestion and growth. *The Journal of Agricultural Science.*, 138: 85–92.
- **BENZIE I.F.F. et STRAIN J.J. (1996).** The ferric reducing ability of plasma as a measure of "antioxidant power" the FRAP assay. *Analytical Biochemistry.*, 239 (1) : 70-76.
- **BIDEL L., COUMANS M., BAISSAC Y., DOUMAS P. et ALLEMANT C.J. (2011).** Biological activity of phenolics in plant cells; in: « Recent Advances in Polyphenol Research». Volume2. Wiley-Blackwell. Singapore. 163-190.
- **BILLING J. et SHERMAN P. W. (1998).** Antimicrobial Functions of Spices: Why some like it hot. *The Quarterly Review of Biology.*, 73 (1): 3-49.
- **BLOIS M.S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature.*, 181: 1199-1200.
- **BONDET V., BRAND-WILLIAMS W. et BERSET C. (1997).** Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Journal of Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie.*, 30: 609-615.

- **BONDIA-PONS I., AURA A-M., VUORELA S., KOLEHMAINEN M., MYKKANEN H. et POUTANEN K. (2009).** Rey phenolics in nutrition and health. *Journal of Cereal Science.*, 3 : 1-14.
- **BOUZID W., YAHIYA M., ABDAIDDEM M., ABERKANE M.C. et AYACHI A. (2011).** Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'*Aubépine monogyne*. *Lebanese Science Journal.*, 1(12): 1-8.
- **BOZIN B., MIMICA-DUKIC N., SAMOJLIK I., GORAN A. et IGIC R. (2008).** Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chemistry.*, 4 (11): 925–929.
- **BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M.E. et BERSET C. (1995).** Use of free-radical method to evaluate anti-oxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie et Food Science and Technology (LEB).*, 28: 25-30.
- **BRANTNER A., MALES Z., PEPELJNJAK S. et ANTOLIC A. (1996).** Antimicrobial activity of *Paliurus spina-christi* Mill (Christ's thorn). *Journal of Ethnopharmacology.*, 52 (2) : 119-122.
- **BRUNETON J. (1993).** Pharmacognosie et phytochimie plantes médicinales. Editions Lavoisier. Paris, 278 – 279.
- **BRUNETON J. (1999).** Pharmacognosie : Phytochimie Plantes Médicinales. Techniques et Documentation, 3^{ème} Ed, Lavoisier, Paris. 107- 394
- **BRUNETON J. (2009).** Pharmacognosie : Phytochimie. Lavoisier, 4^{ème} édition. Paris. 901-904.
- **BYLKA W., MATHAWKA I. et PILEWSKI N.A. (2004).** Natural flavonoids as antimicrobial agents. *Journal of the American Nutraceutical Association.*, 7 (2): 24-26.

C

- **CALGAGNO F. et LACROIX R. (2011).** Pharma-memo : Infectiologie. Editions Vernazobres-Greco. Paris, France. 119-130.
- **CALTAGIRONE S., ROSSI C., POGGI A., RANELLETTI F.O., NATALI P.G., BRUNETTI M., AIELLO F.B. et PIANTELLI M (2000).** Flavonoids apigenin and quercetin inhibit melanoma growth and metastatic potential. *Intrnational Journal of Cancer.*, 87: 595-600.

- **CARBON C. (2000).** L'usage judicieux des antibiotiques: une arme essentielle pour contrôler la résistance bactérienne. *Médecine et Hygiène.*, 58 : 1963-1964.
- **CARR A. et FREI B. (1999).** Does vitamin C act as pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB Journal.*, 13 (9) : 1007-1024
- **CASSIDY A., HANLEY B. et LAMUELA-RAVENTOS R.M. (2000).** Isoflavones, lignans and stilbenes: origins, metabolism and potential importance to human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture.*, 348: 1230-1238.
- **CASTELLAR R., OBON J.M., ALACID M. et FERNANDEZ-LOPEZ J.A. (2003).** Color properties and stability of betacyanins from *Opuntia* fruits, *Journal of Agricultural and Food chemistry.*, 51 (9): 2772-2776.
- **CAUSSE C. (2004).** Les Secrets De Santé Des Antioxydants. Alpen Editions. Paris. 44-50.
- **CAUSSE C. (2005).** Les secrets de santé des antioxydants. Edition Alpen s.a.m. Paris. 95.
- **CESARINI J.P. (2004).** Le Sélénium: Actualités, Collection pathologie science. John Libbey Eurotext, Paris. 14.
- **ĆETKOVIĆ G.S., ĆANADANOVIĆ-BRUNET J., DJILAS S.M., TUMBAS V.T., MARKOV S.L. et ĆETKOVIĆ D.D. (2007).** Antioxidant Potential, Lipid Peroxidation Inhibition and Antimicrobial Activities of *Satureja montana* L. subsp. *kitaibelii* Extracts. *International Journal of Molecular Sciences.*, 10 (8): 1013-1027.
- **CHAALAL M., TOUATI N. et LOUAILECHE H. (2012).** Extraction of phenolic compounds and in vitro antioxidant capacity of prickly pear seeds. *Acta Botanica Gallica: Botany Letters.*, 4 (159): 467-475.
- **CHUNG Y.C., CHANG C.T., CHAO W.W., LIN C.F. et CHOU S.T. (2002).** Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 50 (8) : 2454-2458.
- **COLLIN S., COUNET C., CALLEMIEN D. et JERKOVIC V. (2011).** Nomenclature et voies de synthèse des principaux polyphénols ; in : « Polyphénols et Procédés : Transformation des polyphénols aux travers des procédés appliqués à l'agroalimentaire ». Editions Lavoisier, Paris. 5-25.

- **COSKUNER Y. et TEKIN A. (2003).** Monitoring of seed composition of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) fruits during maturation period. *Journal of the Science of Food and Agriculture.*, 8 (83): 846-849.
- **COSTE A., SELMECKI A., FORCHE A., DIOGO D., BOUGNOUX M.E., D'ENFERT C., BERMAN J. et SANGLARD (2007).** Genotypic Evolution of Azole Resistance Mechanisms in Sequential *Candida albicans* Isolates. *Eukaryotic Cell Journal.*, 6 (10): 1889–904.
- **CROZIER A., JAGANATH I.B. et CLIFFORD M.N. (2009).** Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports.*, 26: 1001-1043.

D

- **D'ARCHIVIO M., FILESI C. et DI BENEDETTO R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali dell' Istituto Superiore di Sanita.*, 43: 348-361.
- **DAGLIA M. (2012).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology.*, 23 (2): 174-181.
- **DE POOTER H.L. et SCHAMP N. (1986).** Comparaison of the volatils composition of some *Calamintha satureja* species in: "Progress in essential oil research". Editions E-J. Brunk, Walter De Gruyter, Berlin. 39-150.
- **DECLOITRE F. (1993).** Impact des facteurs alimentaires sur les mécanismes de la cancérogénèse : bases d'une prévention des cancers par l'alimentation. *Cahiers de Nutrition et de diététique.*, 28 (2) : 85-95.
- **DELARRAS C. (2007).** Microbiologie pratique pour laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Editions TEC & DOC. Lavoisier, Paris. 51-52.
- **DELATTRE J., BEAUDEUX J.L. et BONNEFONT-ROUSSELOT D. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. Editions TEC & DOC. Lavoisier, Paris. 1-23
- **DEMORE B., GRARE M. et DUVAL R. (2012).** Résistance des bactéries aux antibiotiques, in : « Pharmacie Clinique et Thérapeutique. Association Nationale des Enseignants de Pharmacie Clinique ». 4^{ème} édition. Elsevier-Masson, Paris. 838-844.

- **DEPEINT F., GEE J. M., WILLIAMSON G. et JOHSON I. T. (2002).** Evidence for consistent patterns between flavonoid structures and cellular activities. *Proceeding of the Nutrition Society.*, 61 (1): 97-103.
- **DJAHRA A.B., BORDJIBA O. et BENKHARARA S. (2013).** Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.). *Phytothérapie.*, 6 (11) : 348-352.
- **DO Q.D., ANGKAWIJAYA A.E., TRAN-NGUYEN P.L., HUYNH L.H., SOETAREDJO F.E., ISMADJI S. et JU Y.H. (2013).** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. *Journal of Food and Drug Analysis.*, 3 (22): 296-302.
- **DOMINGUEZ L.A. (1995).** Use of the fruits and stems of the prickly pear cactus (*Opuntia* spp.) into human food. *Food Science and Technology International.*, 2-3 (1): 65-74.
- **DORDEVIC S., PETROVIC S., DOBRIC S., MILENKOVIC M., VUCICEVIC D., ZIZIC S. et KUKIC J. (2007).** Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *Journal of Ethnopharmacology.*, 109 (3): 458 -463.
- **DUBEUX J.R., FERREIRA DOS SANTOS M.V., DE ANDRADE LIRA M., CORDEIRO DOS SANTOS D., FARIAS I., LIMA L.E. et FERREIRA R.L.C. (2006).** Productivity of *Opuntia ficus indica* under different N and P fertilization and plant population in north-east Brazil. *Journal of Arid Environment.*, 3 (67): 357- 372.
- **DUFOUR C. et DANGLES O. (2005).** Flavonoid-serum albumin complexation: determination of binding constants and binding sites by fluorescence spectroscopy. *Biochimica Et Biophysica Acta, General Subjects.*, 1-3 (1721) : 164-173.

E

- **EDEAS, M. (2005).** Les secrets de santé du thé : c'est naturel, c'est ma santé. *Alpen Editions s.a.m.*, Paris. 18.
- **ELQAJ M., AHAMI A. et BELGHYTI D. (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.

- **ENNOURI M., AMMAR I., KHEMAKHEM B. et ATTIA H. (2014).** Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Opuntia Ficus-Indica* F. Inermis (Cactus Pear) Flowers. *Journal of Medicinal Food.*, 17 (8): 908-914.
- **ENNOURI M., BOURRET E., MONDOLOT L. et ATTIA H. (2005).** Fatty acid composition and rheological behaviour of prickly pear seed oils. *Food Chemistry.*, 93: 431-437.
- **ESPIRAD E. (2002).** Introduction à la transformation industrielle des fruits. Editions TEC & DOC. Lavoisier, Paris. 160-161.

F

- **FAIN O. (2004).** Mise au point : Carences en vitamine C. *La revue de médecine interne.*, 12 (25) : 872–880.
- **FALCONER S. B. et BROWN E. D. (2009).** New screens and targets in antibacterial drug discovery. *Current opinion in Microbiology.*, 12 (5):497-504.
- **FALLEH H., KSOURI R., CHAIEB K., KARRAY-BOURAOUI N., TRABELSI N., BOULAABA M. et ABDELLEY C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies.*, 331 (5) : 372-379.
- **FAVIER A. (1997).** Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Annale de biologie clinique.*, 1 (55) : 9-16.
- **FAVIER A. (2003).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique.*, 11-12 : 108-115.
- **FAZELI M.R., AMIN G., AHMADIAN-ATTARI M. M., ASHTIANI H., JAMALIFAR H. et SAMADI N. (2007).** Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. *Food Control.*, 18: 646-649.
- **FERNANDEZ M.L., TREJO A. et MCNAMARA D.J. (1990).** Pectin isolated from Prickly pear (*Opuntia* sp) modifies low density lipoprotein metabolism in cholesterol-fed guinea pigs. *Journal of Nutrition.*, 120 (11) : 1283-1290.

- **FERNANDEZ-LOPEZ J.A., CASTELLAR R., OBON J.M., ALMELA L. (2002).** Screening and mass-spectral confirmation of betalans in cactus pear. *Chromotographia.*, 9-10 (56): 591-595.
- **FRENEY J., RENAUD F., LECLERCQ R. et RIEGELE P. (2007).** Précis de bactériologie clinique, 2^{ème} édition : Eska/Lacassagne. Paris. 78.

G

- **GARCIA-RUIZ A., BARTOLOME B., MARTINEZ-RODRIGUEZ A.J., PUEYO E., MARTIN-ALVAREZ P.J. et MORENO-ARRIBAS M.V. (2008).** Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control.*, 19: 835–841.
- **GASTMEIER-PETRA M.D., SOHR D., FORETER D., SCHULGEN G., SCHUMACHER M., DASCHNER F. et RUDEN H. (2000).** Identifying outliers of Antibiotic Usage in Prevalence Studies on Nosocomial Infections. *Journal of Infection Control and Hospital Epidemiology.*, 5 (21): 324-328.
- **GEDDES A. (2005).** The future of infectious diseases. *Antibiotiques.*, 7: 75-76.
- **GEORGANTELIS D., AMBROSIADIS I., KATIKOU P., BLEKAS G. et GEORGAKIS S.A. (2007).** Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science.*, 76 (1): 172-181.
- **GERHAUSER C. (2008).** Cancer chemopreventive potential of apples, apple juice and apple components. *Planta Medica Journal.*, 74: 1608-1624.
- **GHASEMZADEH A. et GHASEMZADEH N. (2011).** Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research.*, 5 (31) : 6697-6703.
- **GHAZI S., ROUANI M., SEKKAT Z.L., IDRISSE I., ARAHOU M. et HASSIKOU R. (2015).** Activité anticandidosique de divers extraits d'*Artemisia mesatlantica* M. *Phytothérapie.*, 5 (14) : 293-303.
- **GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS M. et ORECCHIONI A.M. (2008).** Le préparateur en pharmacie Dossier 2 : Botanique - Pharmacognosie - Phytothérapie – Homéopathie. Editions TEC & DOC. Paris. 228.
- **GHOSH D. et SCHEEPENS A. (2009).** Vascular action of polyphenols. *Molecular Nutrition & Food Research.*, 53 (3): 322-331.

- **GOMEZ-CARAVACA A.M., GOMEZ-ROMERO M., ARRAEZ-ROMAN D., SEGURA-CARRETERO A., et FERNANDEZ-GUTIERREZ A. (2006).** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.*, 4 (41) : 1220-1234.
- **GRAHAM T.L. (1998).** Flavonoids and flavonal glycoside metabolism in Arabidopsis. *Plant physiology and biochemistry.*, 36 (1-2): 135-144.
- **GREFF M. (2012).** Post'U FMC – HGE. Springer Science & Business Media. Paris. 39.
- **GRESELLE P., CERLETTI C., GUGLIELMINI G., PIGNATELLI P., DE GAETANO G. et VIOLI F. (2011).** Effect of resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: an update. *Journal of Nutritional Biochemistry.*, 3 (22): 201-211.
- **GURBUZ I., YESILADA E. et ITO S. (2009).** An anti-ulcerogenic flavonol diglucoside from Equisetum palustre L. *Journal of Ethnopharmacology.*, 121: 360 -365.
- **GUZMAN U., ARIAS S. et DAVILA P. (2003).** Catalogo de cactaceas mexicanas. Universidad Nacional Autonoma de Mexico y Comision Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Mexico.315

H

- **HABAUZIT V. et HORCAJADA M.N. (2008).** Phenolic phytochemicals and bone. *Phytochemistry Reviews.*, 7: 313-344.
- **HALLIWELL B. (1990).** How to characterize a biological antioxidant. *Free Radical. Research Communication.*, 1 (9): 1-32.
- **HALLIWELL B. et GUETTERRIDGE J.M.C. (1989).** A consideration of atomic structure and bonding. *Free radicals in biology and medicine. Second Edition b,* Clarendon press, Oxford. 504-529.
- **HALLIWELL B. et GUTTERIDGE J. M. C. (1986).** Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problem and concepts. *Archives of Biochemistry and Biophysics.*, 246 (2): 501-514.
- **HAMDI M. (1997).** Prickly pear cladodes and fruits as a potential raw material for the bioindustries. *Bioprocess Engineering.*, 6 (17): 387-391.

- **HARBONE J.B. et WILLIAMS C.A. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry.*, 6 (55): 481-504.
- **HARRAR A.N. (2012).** Activité antioxydante et antimicrobienne d'extrait de *Rhamnus alaternus* L. Mémoire de Magister. Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie.
- **HASLAM E., 1994.** Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. *Journal of Natural Products.*, 1 (11): 41-66.
- **HENNEBELLE T. (2006).** Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de lamiales productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamus* (Lamiacées) et *Lippa alba* (Verbénacées).Thèse de doctorat. Université de Lille 1, France.
- **HENNEBELLE T., SAHPAZ S., SKALTSOUNIS A-L. et BAILLEUL F. (2007).** Phenolic compounds and diterpenoids from *Marrubium peregrinum*. *Biochemical Systematics and Ecology.*, 35: 624-626.
- **HERTOG M. G. (1996).** Epidemiological evidence on potential health properties of flavonoids. *Proceeding of the nutrition society.*, 55 (1B) : 385-397.
- **HITARA T., FUJII M., AKITA K., YANAKA N., OGAWA K., KUROYANAGI M. et HONGO D. (2009).** Identification and physiological evaluation of the components from Citrus fruits as potential drugs for anti-corpulence and anticancer. *Bioorganic and Medicinal Chemistry.*, 17: 25-28.
- **HUANG G., JIANG J. et DAI D. (2008).** Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala* S. Moore. *African Journal of Biotechnology.*, 7 (9): 1335-1338.
- **HYNES M.J. et O'COINCEANAINN M. (2004).** The kinetics and mechanisms of reactions of iron (III) with caffeic acid, chlorogenic acid, sinapic acid, ferulic acid and naringin. *Journal of Inorganic Biochemistry.*, 8 (98): 1457-1464.

I

- **ITO H., GONTHIER M.P., MANACH C., MORAND C., MENNEN L., REMESY C. et SCALBERT A. (2005).** Polyphenol levels in human urine after intake of six different polyphenol-rich beverages. *British Journal of Nutrition.*, 94: 500-509.

J

- **JAYAPRAKASH G.K., SINGH R.P. et SAKARIAH K.K. (2001).** Antioxidant activity of grape seed extracts on peroxidation models in-vitro. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.*, 55: 1018-1022.
- **JULLIAN C., MOYANO L., YANEZ C. et OLEA-AZAR C. (2007).** Complexation of quercetin with three kinds of cyclodextrins: An antioxidant study. *Spectrochimica Acta Part A.*, 1(67): 230–234.
- **JUN H.I., CHA M.N., YANG E.I., CHOI D.G. et KIM Y.S. (2013).** Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of Korean Cactus (*Opuntia humifusa*) Cladodes. *Horticulture Environment and Biotechnology.*, 3 (54): 288-295.
- **JÜRGEN R., PAUL S., ULRIKE S., et REINHARD S. (2009).** Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties— an Overview. *Forschende Komplementarmedizin.*, 2 (16): 79–90.

K

- **KALAM S., SINGH R., MANI A., PATEL J., NAEM K.F. et PANDEY A. (2012).** Antioxidants: elixir of life. *International Multidisciplinary Research Journal.*, 1 (2) : 18-34.
- **KAMRA D.N., AGARWAL N. et CHAUDHARY L.C. (2006).** Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series.*, 1293: 156–163.
- **KANOUN K., ABBOUNI B., BOUDISSA S., BOUHAFS N. et SEDDIKI M. (2016).** Etude de l'activité des extraits de feuilles de *Punica granatum* Linn sur *Candida albicans* et *Rhodotorula spp.* *Phytothérapie.*, 1 (14): 5-16.
- **KAUFMANN S.H.E. (1997).** Host response to intracellular pathogens. Editions Springer et R.G. Landes, New York. 345.
- **KEMPF I. et ZEITOUNI S. (2012).** Coût biologique de la résistance aux antibiotiques : analyse et conséquences. *Pathologie Biologie.*, 2 (60): 9-14.
- **KHANBABAE K. et REE T.R. (2001).** Tannins: Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry.*, 18 : 641-649.

- **KIM J.Y., LIM H.J., LEE D.Y., KIM D.H., JEON R. et RYU J.H. (2009).** In vitro antiinflammatory activity of lignans isolated from *Magnolia fargessii*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.*, 19: 937 -940.
- **KIPNIS E., DESSEIN R., FAURE K. et GUERY B. (2012).** Les thérapeutiques anti-infectieuses non antibiotiques. *Réanimation.*, 3 (21) : 303-316.
- **KOUBAA M., KTATA A., BOUAZIZ F., DRISS D., GHORBEL R.E. et CHAABOUNI S.E. (2015).** Solvent extract from *Opuntia stricta* fruit peels: Chemical composition and Biological activities. *Free Radicals and Antioxydants.*, 2 (5) : 52-59.
- **KOURI G., TSIMOGIANNIS D., BARDOUKI H. et OREOPOULOU V. (2007).** Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies.*, 8: 155-162.
- **KRISHNA D., CHALUVADI M., RAJ N. et SRIPAL R. (2001).** Bioflavonoid's classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology.*, 1 (33): 2-16.
- **KSOURI R., MEGDICHE W., DEBEZ A., FALLEH H., GRIGNON C. et ABDELLY C. (2007).** Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry.*, 3-4 (45): 244-249.

L

- **LAUGHTON M. J., HLLIWELL B., EVANS P. J., ROBIN J. et HOULT S. (1989).** Anioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenoltes quercetin, gossypol and myricetin. *Biochemical Pharmacology.*, 38 (17): 2859-2865.
- **LAVIGNE J.P., GAILLARD J.B., BOURG G., TICHIT C., LECAILLON E. et SOTO A. (2008).** Etude de souches de *Stenotrophomonas maltophilia* sécrétrices de BLES : détection de CTX-M et étude de la virulence. *Pathologie Biologie.*, 65: 447-453.
- **LE HOUEROU H.N. (1996).** The role of cacti (*Opuntia spp.*) in erosion control, land reclamation, rehabilitation and agricultural development in the Mediterranean Basin. *Journal of Arid Environments.*, 33:135-159.

- **LEDERER M. et LEIPZIG-PAGANI E. (1996).** A simple alternative determination of the formation constant for the inclusion complex between rutin and β -cyclodextrin. *Analytica Chimica Acta.*, 329: 311-314.
- **LEE J.C., KIM H.R., KIM J. et JANG J.S. (2002).** Antioxidant Property of an Ethanol Extract of the Stem of *Opuntia ficus-indica* var. Saboten. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 50 (22): 6490-6496.
- **LEGER C.L. (2006).** Antioxydants d'origine alimentaire : diversité, modes d'action antioxydante, interactions. *Oléagineux, Corps gras, Lipides.*, 2 (13) : 213-222.
- **LEINMÜLLER E., STEINGASS H. et MENKE K.H. (1991).** Tannins in feeds for ruminants. II Effects on rumen metabolism *in vitro*. *Übersichten zur Tierernährung.*, 19 : 45-70.
- **LESGARDS J.F. (2000).** Contribution à l'étude du statut antioxydant de l'homme ; aspect chimiques et biochimique. Thèse de doctorat. Université d'Aix-Marseille, Marseille, France.
- **LEUTTGE U. (1993).** The role of Crassulacean acid metabolism (CAM) in the adaptation of plants to salinity. *New phytologist.*, 125 (1): 59-71.
- **LI H.B., WONG C.C., CHENG K.W. et FENG C. (2008).** Antioxidant properties *in vitro* and total Phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technology.*, 41 (3) : 385-390.
- **LINARD A., QUEMIN J. et PARIS R. (1976).** Plantes Malgaches No XXI sur les flavonoïdes du *Xyris Semfuscata* (xyridacées). *Plantes Médicinales et Phytothérapie Torne X.*, 11 (4) : 267-275.
- **LOCATELLI M., TRAVAGLIA F., COISSON J.D., MARTELLI A., STEVIGNY C. et ARLORIO M. (2010).** Total antioxidant activity of hazelnut skin (*Nocciola piemonte* PGI): Impact of different roasting conditions. *Food Chemistry.*, 4 (119) : 1647-1655.
- **LOUIS S. (2004).** Diversité structurale et d'activité biologique des Albumines sentomotoxiques de type 1b des légumineuses. Thèse de doctorat. Lyon, France.
- **LU Q.H., BA C.D. et CHEN D.Y. (2008).** Investigating noncovalent interactions of rutin-serum albumin by capillary electrophoresis-frontal analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.*, 4-5 (47): 888-891.

M

- **MAATAOUI B.S., HMYENE A. et HILALI S. (2006).** Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*), *Lebanese Science Journal.*, 1(7) : 3-8.
- **MABROUKI L., ZOUAGRI B., BENDHIFI M. et BORGI M.A. (2015).** Evaluation of antioxidant capacity, phenol and flavonoid contents of *Opuntia streptacantha* and *Opuntia ficus indica* fruits pulp. *Nature & Technology.*, 13: 2-8.
- **MACHEIX J.J., FLEURIET A. et JAY-ALLEMAND C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Editions Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne. 145.
- **MACHEIX J.J., FLEURIET A. et MANCHADO P.S. (2006).** Composés phénoliques dans la plante- structure, biosynthèse, répartition et rôles ; in : « Les Polyphénols En Agroalimentaire ». Editions Tec et Doc., Lavoisier., Paris. 3-26.
- **MAHMOUD N.N., CAROTHERS A.M., GRUNBERGER D., BILINSKI R.T., CHURCHILL M.R., MARTUCCI C., NEWMARK H.L. et BERTAGNOLLI M.M. (2000).** Plant phenolics decrease intestinal tumors in an animal model of familial adenomatous polyposis. *Carcinogenesis.*, 21: 921-927.
- **MAHMOUDI S., KHALI M. et MAHMOUDI N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus L.*). *Nature et Technologie.*, 09 : 35-40.
- **MALEŠEV D. et KUNTIĆ V. (2007).** Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the serbian chemical society.*, 72 (10): 921-939.
- **MALPEZZI L., FRONZA G., FUGANTI C., MELE A. et BRUCKNER S. (2004).** Crystal architecture and conformational properties of the inclusion complex, neohesperidin dihydrochalcone cyclomaltoheptaose (beta-cyclodextrin), by X-ray diffraction. *Carbohydrate Research.*, 339 (12) : 2117-2125.
- **MANACH C., SCALBERT A., MORAND C., REMESY C. et JIMENEZ L. (2004).** Polyphenols: foodsources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition.*, 79: 727-747.

- **MARIOD A.A., IBRAHIM R.M., ISMAIL M. et ISMAIL N. (2009).** Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chemistry.*, 1 (116): 306-312.
- **MARTIN S. et ANDRIANTSITOHAINA R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie.*, 6 (51) :304–315.
- **MASQUELIER J., DUMON M. et DUMAS J. (1979).** Stabilisation des collagènes par des oligomères procyanidoliques. *Acta thérapeutique.*, 1 : 101-104.
- **MATES J.M., PEREZ-GOMEZ C. et DE CASTRO I.N. (1999).** Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry.*, 8 (32) : 595-603.
- **MAURICE N. (1997).** L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle. Ed. Lavoisier, Paris, France. 12-14.
- **MAZRI R. (2015).** Nouvelle approche des relations structures activités dans des molécules antibiotiques. Thèse doctorat. Université Mohamed Khider, Biskra, Algérie.
- **MEDART J. (2009).** Manuel Pratique De Nutrition : L'alimentation préventive et curative. De boeck, 2^{eme} édition. Bruxelles. 44-54.
- **MENA S., ORTEGA A. et ESTRELA J.M. (2009).** Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis. *Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.*, 1-2 (674): 36-44.
- **MIDDLETON E., KANDASWAMI C. et THEOHARIDES T.C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacology Review.*, 4 (52): 673-839.
- **MILA I. et SCALBERT A. (1994).** Tannin antimicrobial properties through iron deprivation a new hypothesis. *International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance.*, 381 (2) : 749-755.
- **MOHAMED-YASSEEN Y., BARRINGER S.A. et SPLITTSTOESSER W.E. (1996).** A note on the use of *Opuntia spp.* in Central/North America. *Journal of Arid Environment.*, 32 (3): 347-353.
- **MORAND C. (2013).** Les polyphénols du thé et du cacao ont-ils des effets santé ? *Phytothérapie.*, 11: 92-99.
- **MOREIRA M.R., PONCE A.G., DEL VALLE C.E. et ROURA S.I. (2005).** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT- Food Science and Technology.*, 38 : 565-570.

- **MORELLE J. et ISRAEL L. (2003).** L'oxydation des aliments et la santé. Edition François-Xavier de Guibert. Paris. 200-240.
- **MOTILVA M.J., SERRA A. et MACIA A. (2013).** Analysis of food polyphenols by ultrahigh-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry: an overview. *Journal of Chromatography A.*, 1292: 62-82.
- **MOURE A., CRUZ J.M., FRANCO D., MANUEL DOMINGUEZ J., SINEIRO J., DOMINGUEZ H., NUNEZ M.J. et CARLOS-PARAJO J. (2001).** Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry.*, 72: 145-171.
- **MUTHU C., AYYANAR M., RAJA N. et IGNACIMUTHU S. (2006).** Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine.*, 2: 1-10.

N

- **NAIDU K. A. (2003).** Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An Overview. *Nutrition Journal.*, 2 (7): 1-10.
- **NATARAJAN D., JOHN-BRITTO S., SRINIVASAN K., NAGAMURUGAN N., MOHANASUNDARI C. et PERUMAL G. (2005).** Anti-bacterial activity of *Euphorbia fusiformis*-A rare medicinal herb. *Journal of Ethnopharmacology.*, 10: 123-126.
- **NEGRE-SALVAYRE A. et SALVAYRE R. (2005).** Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif : Implication en physiologie vasculaire. *OCL Journal.*, 5-6 (12) : 433-438.
- **NEKRASOV A. (2011).** Alamy Stock Photo. <http://www.alamy.com/stock-photo/opuntia-ficus-indica-north-africa.html>
- **NERD A. et MIZRAHI Y. (1994).** Effect of nitrogen fertilization and organ removal on rebudding in *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. *Scientia Horticulturae.*, 2 (59): 115-122.
- **NEURATH A.R., STRICK N., LI Y.Y. et DEBNATH A.K. (2004).** *Punica granatum* (pomegranate) juice provides an HIV-1 entry inhibitor and candidate topical microbicide. *BMC Infectious Diseases.*, 4: 1-41.
- **NOVELLI G.P. (1997).** Role of free radicals in septic shock. *Journal of Physiology and Pharmacology.*, 48: 517-527.

O

- **ORWA C., MUTUA A., KINDT R., JAMNADASS R. et SIMONS A. (2009).** Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0.
- **OYAIZU M. (1986).** Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition.*, 44: 307-315.

P

- **PARK E.H., KAHUG J.H., SANG H.L.K.H. et SHIN K.H. (2001).** An anti-inflammatory principle from cactus. *Fitoterapia.*, 3 (72): 288-290.
- **PELLI K. et LYLTY M. (2003).** Les Antioxydants Dans l'Alimentation. Volume 3. Biotechnologie Finlande. Paris. 4-13.
- **PERRET C. (2001).** Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea*. Thèse de Doctorat .Université de Neuchâtel. Suisse.
- **PEYNET J., BEAUDEUX J. et LEGRAND A. (2005).** Stress oxydant et athérosclérose. in : « **DELATTRE J., BEAUDEUX J.L. et BONNEFONT-ROUSSELOT D. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. ». Editions TEC & DOC. Lavoisier, Paris. 45-86.
- **PFALLER M.A. (2012).** Antifungal Drug Resistance: Mechanisms, Epidemiology, and Consequences for Treatment. *The American journal of Medicine.*, 125 (1) : S3-S13.
- **PHAM-HUY L.A., HE H. et PHAM-HUY C. (2008).** Free radicals, antioxidant in disease and health. *International Journal of Biomedical Medicine.*, 4: 89-96.
- **PIEL G., MOUTARD S., PERLY B., HENRY de HASSONVILLE S., BERTHOLET P., BARILLARO V., PIETTE M., DELATTRE L. et EVRARD B. (2004).** Comparison of two methods currently used to determine the interaction between cyclodextrins and drugs: phase solubility diagrams and NMR spectroscopy. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.*, 14, 87-91.
- **PIGA A. (2004).** Cactus pear: A fruit of Nutraceutical and Functional Importance. *Journal of the Professional Association for Cactus Development.*, 6: 9-22.
- **PIMIENTA-BARRIOS E. (1993).** Vegetable cactus (*Opuntia*). in: "Underutilized Crops: Pulses and Vegetables". Ed J. Williams. London. UK. 177-191.

- **PIMIANTA-BARRIOS E., BARBERA G. et INGLESE P. (1993).** Cactus pear (*Opuntia spp.*, Cactaceae) international network: an effort for productivity and environmental conservation for arid and semiarid lands. *Cactus and Succulent Journal.*, 65: 225-230.
- **PINCEMAIL J., MEURISSE M., LIMET R. et DEFRAIGNE J.O. (1998).** Espèces oxygénées activées en médecine humaine : une approche didactique. *Vaisseaux, Cœur, Poumon.*, 3 : 133-8.
- **PIQUEMAL G. (2008).** Les flavonoïdes et les Polyphénols En Agroalimentaire. Edition Tec et Doc., Lavoisier., Paris. 53
- **PNTTA. (2000).** BULLETIN MENSUEL D'INFORMATION ET DE LIAISON DU : Valorisation du figuier de barbarie en élevage. *Transfert de technologie en agriculture.*, 68 : 1-4.

R

- **RASOOLI I., FAKOOR M.H., YADEGARINIA D., GACHKAR L., ALLAMEH A. et REZAEI M.B. (2008).** Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *International Journal of Food Microbiology.*, 1-2 (122): 135-139.
- **REN W., QIAO Z., WANG H., ZHU L. et ZHANG L. (2003).** Flavonoids: Promising anticancer agents. *Medicinal research reviews.*, 23 (4): 519-539.
- **RENAULT-ROGER C., PHILOGENE B. et VINCENT C. (2008).** Biopesticides d'Origine Végétale. Editions Tec et Doc, 2em édition. Lavoisier, Paris. 263-264.
- **REYES-AGUERO J.A., AGUIRRE J.R. et ENTE-BANUET A. (2006).** Reproductive biology of *Opuntia*: A review. *Journal of Arid Environments.*, 64: 549-585.
- **RIBEREAU-GAYON, P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Editions Dounod, Paris. 123.
- **ROJAS A., HERNANDEZ L., PEREDA-MIRANDA R., et MATA R. (1992).** Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology.*, 35 : 275-283.
- **RUIMY R. et ANDREMONT A. (2004).** Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*: molecular mechanism, clinical impact, and inhibition. *Reanimation.*, 13: 176-184.

S

- **SAENZ C. (2000)**, Processing technologies: An alternative for cactus pear (*Opuntia spp.*) fruits and cladodes, *Journal of Arid Environments.*, 46: 209-225.
- **SAENZ C., SEPULVEDAA E. et MATSUHIRO B. (2004)**. *Opuntia* spp mucilage's: a functional component with industrial perspectives, *Journal of Arid Environments.*, 3 (57): 275-290.
- **SALGADO T.T et MAUSETH J.D. (1997)**, Shoot anatomy and morphology. in:” *cacti: Biology and uses*”. UC Press, Berkeley, California, USA. 23-56.
- **SANCHEZ-MORENO C. (2002)**. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International.*, 3 (8): 121-137.
- **SANNOMIYA M., FONSECA V.B., DA SILVA M.A., ROCHA L.R.M., DOS SANTOS L.C., HIRUMA-LIMA C.A., SOUZA BRITO A.R.M. et VILEGAS W. (2005)**. Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. *Journal of Ethnopharmacology.*, 97: 1-6.
- **SANTOS-BUELGA C. et SCALBERT A. (2000)**. Proanthocyanidins and tannin like compounds: nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of Science of Food and Agriculture.*, 80: 1094-1117.
- **SARNI-MANCHADO P. et CHEYNIER V. (2006)**. Les polyphénols en agroalimentaire. Edition Tec & Doc. Paris. 2-10.
- **SCALBERT A., MANACH C. et MORAND C. (2005)**. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.*, 45: 287- 306.
- **SCOTT G. (2009)**. Antibiotic resistance. *Medicine (Baltimore).*, 37: 551–556.
- **SHARMA P., JHA A. B., DUBEY R. S. et PESSARAKLI M. (2012)**. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany.*, 2012: 1-26.
- **SHON H.Y., SON K.H., KWON C.S. et KANG S.S. (2004)**. Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medical plants: *Morus alba* *Echinosophara koreesis* *Nakai*. *Phytomedecine.*, 11: 666 - 672.
- **SIDDHURAJU P. et BECKER K. (2006)**. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) seed extracts. *Food Chemistry*, 101: 10-19.

- **SIGALOFF K.C.E., RAMATSEBE T., VIANA R., RINKEDE WIT T.F., WALLIS C.L. et STEVENS W.S. (2012).** Accumulation of HIV Drug Resistance. Mutations in Patients Failing First-Line Antiretroviral Treatment in South Africa. *AIDS Research and Human Retroviruses.*, 28 (2) : 171-175.
- **SMYTH T., RAMACHANDRAN V. N. et SMYTH W. F. (2009).** A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins. *International journal of antimicrobial agents.*, 33: 421 - 426.
- **STALIKAS C.D. (2007).** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science.*, 30 : 3268-95.
- **STINTZING F.C., SCHIEBER A. et CARLE R. (2001).** Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *European Food Research and Technology.*, 212: 396-407.
- **STOCKIGT J., SHELUDKO Y., UNGER M., GERASIMENKO I., WARZECHA H. et STOCKIGT D. (2002).** High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic- electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of chromatography A.*, 967 : 85-113.
- **SUMAYA-MARTINEZ M.T. (2004).** Valorisation d'hydrolysats de co-produits de crevettes : étude de l'activité antiradicalaire et antioxydante, fractionnement des substances actives et effet de la glycation. Thèse de doctorat. Université de Bretagne Occidentale, Brest, France.
- **SUTTON B.G., TING I.P. et SUTTON R. (1981).** Carbohydrate Metabolism of Cactus in a Desert Environment. *Plant Physiology.*, 3 (68) : 784-787.

T

- **TALBI H., BOUMAZA A., EL-MOSTAFA K., TALBI J. et HILALI A. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Journal of Materials and Environmental Science.*, 6 (4) : 1111-1117.

- **TANDÉ D. (2005).** Mécanismes d'action et de résistance des antibiotiques ; in : “**GAUDY C. et BUXERAUD J. (2005).** Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique”. Edition ELSEVIER, Paris. 15
- **TAO L. et LAMBERT J.D. (2014).** Polyphenols in the prevention and Treatment of Vascular and Cardiac Disease, and Cancer. *Polyphenols in human health & Disease.*, 2: 1191-1198.
- **TAPAS A. R., SAKARKAR D. M. et KAKDE R. B.** 2008. Flavonoids as nutraceuticals. *Topical journal of pharmaceutical research.*, 7 (3): 1089-1099.
- **TAYGAT I., COLACINO E., TULKENS P. M., POUPAERT J. H., PREVOST M. et VAN BAMBEKE F. (2009).** DD-ligases as a potential target for antibiotics: past, present and future. *Current Medicinal Chemistry.*, 16 (20) : 2566-2580.
- **TIM C.T.P. et ANDREW J.L. (2005).** Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents.*, 26: 343-356.
- **TOMAS- BARBERAN. F.A. et CLIFFORD M.N. (2000).** Dietary hydroxybenzoic acid derivatives: nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture.*, 80: 1024-1032.
- **TORRES R., FAINI F., MODAK B., URBINA F., LABBE C. et GUERRERO J. (2006).** Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry.*, 67 : 984–987.
- **TORTORA G.J., FUNKE B.R. et CASE. C.L. (2011).** Introduction à La Microbiologie. ERPI Sciences, 2^{ème} édition, Pearson., Québec. 420-428.
- **TOUSSAINT J.F., JACOB M.P., LAGROST L. et CHAPMAN J. (2003).** L'athérosclérose : physiopathologie, diagnostics, thérapeutiques. Edition Masson, Paris. 95.
- **TRIPOLI E., GUARDIA M.A., GIAMMANCO S., MAJO D.D., GIAMMANCO M. (2007).** Review Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties. *Food Chemistry.*, 104: 466-479.
- **TURKMEN N., VELIOGLU Y.S., SARI F. et POLAT G. (2007).** Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules.*, 3 (12) : 484-496.

V

- **VALKO M., LEIBFRITZ D., MONCOL J., CRONIN M.T., MAZUR M. et TELSERSER J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological function and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology.*, 39 : 44-84.
- **VANDAËLE E. (2012).** Le lien entre l'usage d'antibiotiques et l'antibiorésistance est-il établi ? *Point Vétérinaire Journal.*, 331: 8-9.
- **VANDEPUTTE P., FERRARI S. et COSTE A.T. (2011).** Antifungal Resistance and New Strategies to Control Fungal Infections. *International Journal of Microbiology.*, 2012: 1-26.
- **VERGELY C. et ROCHETTE L. (2003).** Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire. *Médecine thérapeutique cardiologie.*, 3 (1) : 131-139.
- **WALLACE R.S. et GIBSON A.C. (1997).** Evolution and Systematics. in: "*cacti: Biology and uses*". Park S. Nobel Editions. 1-21.

W

- **WATSON R.R., PREEDY V.R. et ZIBADI S. (2013).** Polyphenols in Human Health and Disease. Volume 1. Press Academic, USA. 1-26; 201-270.
- **WOLLGAST J. et ANKLAM E. (2000).** Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International.*, 33: 423 - 447.

Y

- **YAKHLEF G., LAROUÏ S., HAMBABA L., ABERKANE M.C et AYACHI A. (2011).** Evaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurusnobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie.*, 9: 209-218.
- **YAO L. H., JIANG Y.M., SHI J., TOMAS-BARDERAN F.A., DATTA N., SINGANUSONG R. et CHEN S.S. (2004).** Flavonoids in food and their healthy benefits. *Plant Foods for Human Nutrition.*, 59: 113-122.
- **YAO J., WANG J.Y. et LIU L. (2010).** Anti-oxidant effects of resveratrol on mice with DSS-induced ulcerative colitis. *Archives of Medical Research.*, 41: 288-294.

- **YEDDES N., CHERIF J.K. et TRABELSI-AYADI M. (2014).** Comparative study of antioxidant power, polyphenols, flavonoids, and betacyanins of peel and pulp of three Tunisian *Opuntia* forms. *Pakistan Journal of Biological Sciences.*, 17 (5): 650-658.

Z

- **ZAIKA L.L. (1988).** Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination. *Journal of food safety.*, 9: 97-117.
- **ZHISHEN J., MENGCHENG T. et JIANMING W. (1999).** The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food chemistry.*, 64 (4): 555-559.
- **ZIELIŃSKI H. et KOZŁOWSKA H. (2000).** Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 48 (6): 2008-2016.

ANNEXES

Annexe 1 : Composition des solutions et milieux de culture utilisés

Eau physiologique stérile

Chlorure de sodium (NaCl)	9g
Eau distillée.....	1000ml
pH = 7	

Milieu Brain Heart Infusion Broth (BHIB)

Extrait Cœur-cerveille.....	17.5g
Peptone pancréatique de gélatine.....	10.0g
Chlorure de sodium.....	05.0g
Phosphate di sodique.....	02.5g
Glucose.....	02.0g
Eau distillée.....	QST
pH = 7,4	

Milieu Mueller Hinton Agar (MH)

Infusion de viande bovine.....	3g
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5g
Amidon soluble.....	1,5g
Agar.....	18,0g
Eau distillée.....	QST
pH= 7,4	

Gélose Nutritive

Extrait de viande.....	1,0g
Extrait de levure.....	2,5g
Peptone.....	5,0g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Agar.....	15,0g
pH = 7,0	

Gélose de Sabouraud + Chloramphénicol

Peptone.....	10 g
Glucose massé.....	20 g
Agar-agar.....	15 g
Eau distillée.....	QST
vitamines et facteurs de croissance	
Chloramphénicol	0,5 g
pH = 6,0	

Milieu de Mossel

Peptone.....	10,0 g
Extrait de viande	1,0 g
D-mannitol	10,0 g
Chlorure de sodium	10,0 g
Rouge de phénol	25,0 mg
Emulsion stérile de jaune d'œuf	100,0 mL
Sulfate de Polymyxine B.....	0,01 g
Agar.....	13,5 g
pH = 7,2 ± 0,2.	

40 g par litre. Le jaune d'œuf est ajouté après stérilisation du milieu à l'autoclave

Gélose Chapman

Peptone	10,0 g
Extrait de viande de bœuf	1,0 g
Chlorure de sodium	75,0 g
Mannitol	10,0 g
Rouge de phénol	0,025 g
Agar-Agar	15,0 g
Eau distillée :.....	QST
pH = 7,4	

111 g par litre

Gélose au Cétrimide

Peptone de gélatine.....	16,0 g
Peptone de caséine.....	10,0 g
Bromure de tétradonium (cétrimide).....	0,2 g
Acide nalidixique.....	15,0 mg
Sulfate de potassium.....	10,0 g
Chlorure de magnésium.....	1,4 g
Agar.....	10,0 g

pH = 7,1

24,2 g par litre. Dans certaines compositions le cétrimide est présent avant autoclavage. Dans d'autres il est ajouté avec l'acide nalidixique qui est parfois absent.

Gélose Hektoen

Protéose-peptone.....	12,0 g
Extrait de levure (facteur de croissance).....	3,0 g
Lactose (critère de différenciation).....	12,0 g
Saccharose (critère de différenciation).....	12,0 g
Salicine (critère de différenciation).....	2,0 g
Citrate de fer III et d'ammonium révélateur d'H ₂ S.....	1,5 g
Sels biliaires (inhibiteur).....	9,0 g
Fuchsine acide (inhibiteur).....	0,1 g
Bleu de Bromothymol (indicateur de pH).....	0,065 g
Chlorure de sodium (maintien de la pression osmotique).....	5,0 g
Thiosulfate de sodium (précurseur d'H ₂ S).....	5,0 g
Agar.....	14,0 g

pH= 7,6

75g par litre

***ne pas Autocalver**

Annexe 2 : Courbes d'étalonnage

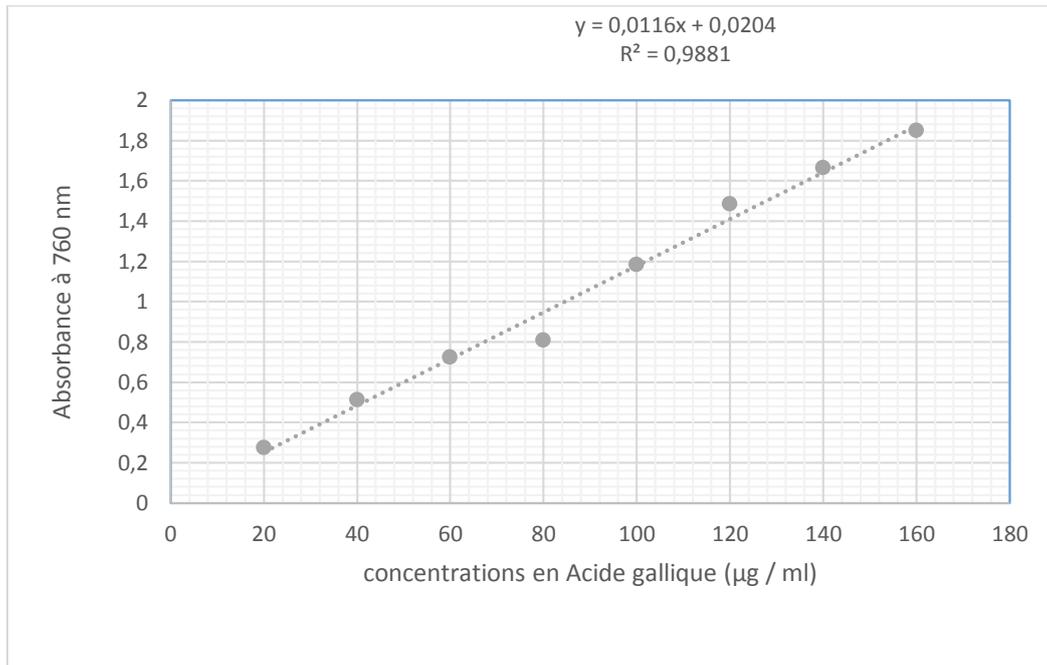


Figure 1 : Courbe d'étalonnage à l'acide gallique.

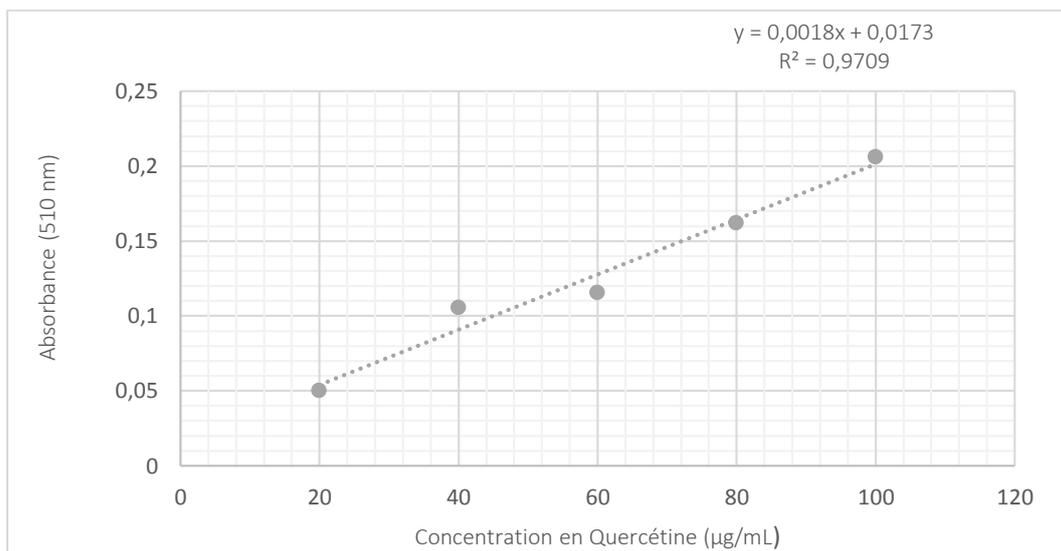


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Annexe 3 : Courbes de régression de l'activité antioxydante qui ont servi au calcul de l'IC₅₀.

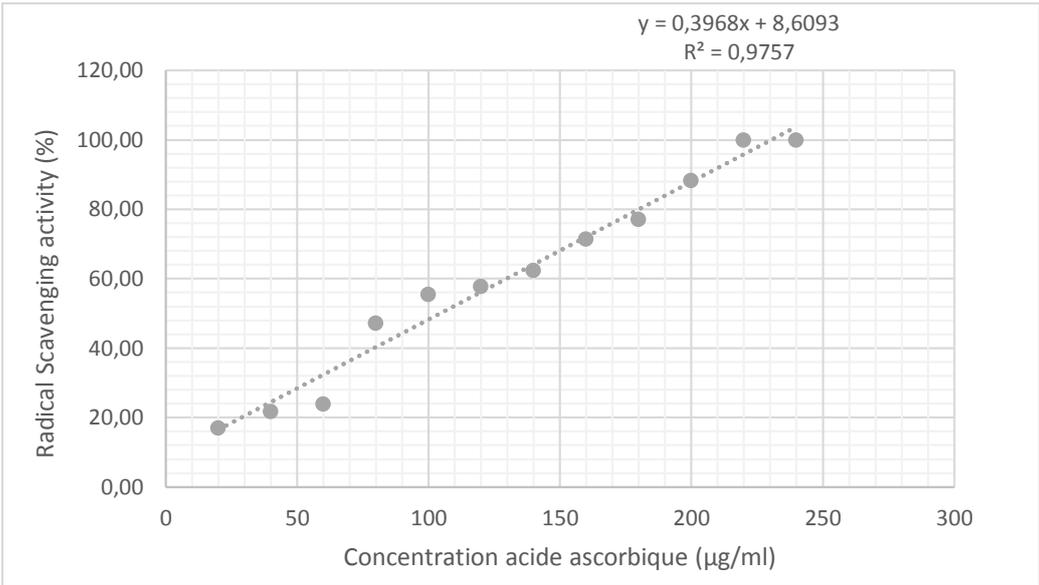


Figure 3 : Activité antioxydante de l'acide ascorbique

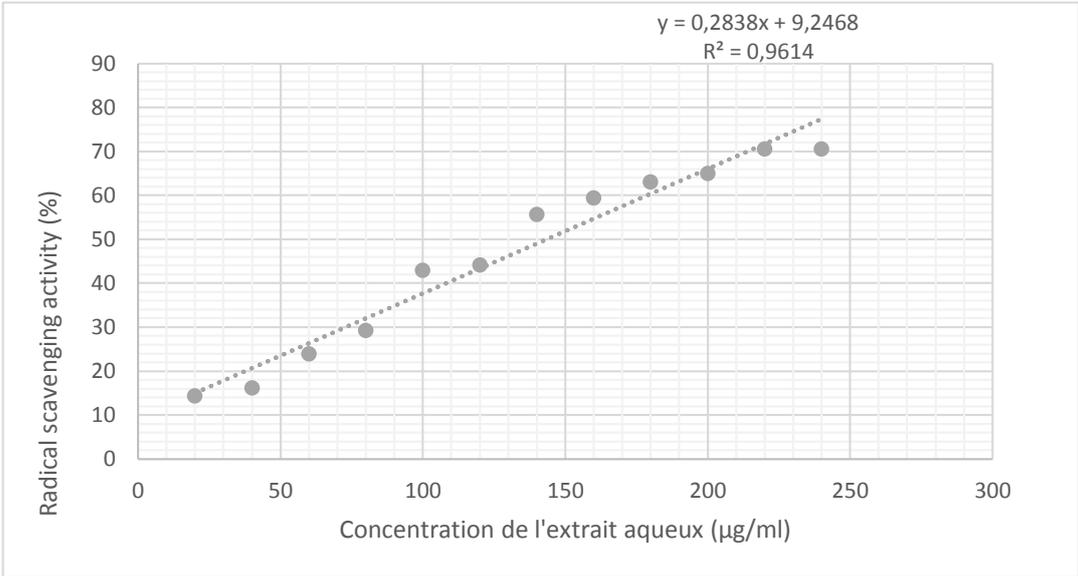


Figure 4 : Activité antioxydante de l'extrait aqueux

Annexe 4 : Courbes de régression de l'activité antioxydante qui ont servi au calcul du pouvoir réducteur en (mg/ml).

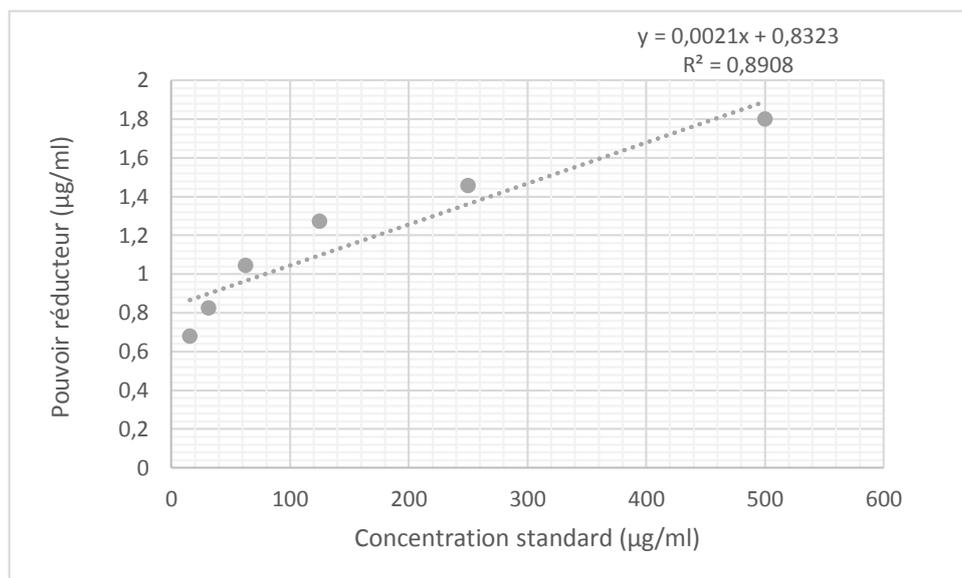


Figure 5 : Pouvoir réducteur du standard (mg/ml)

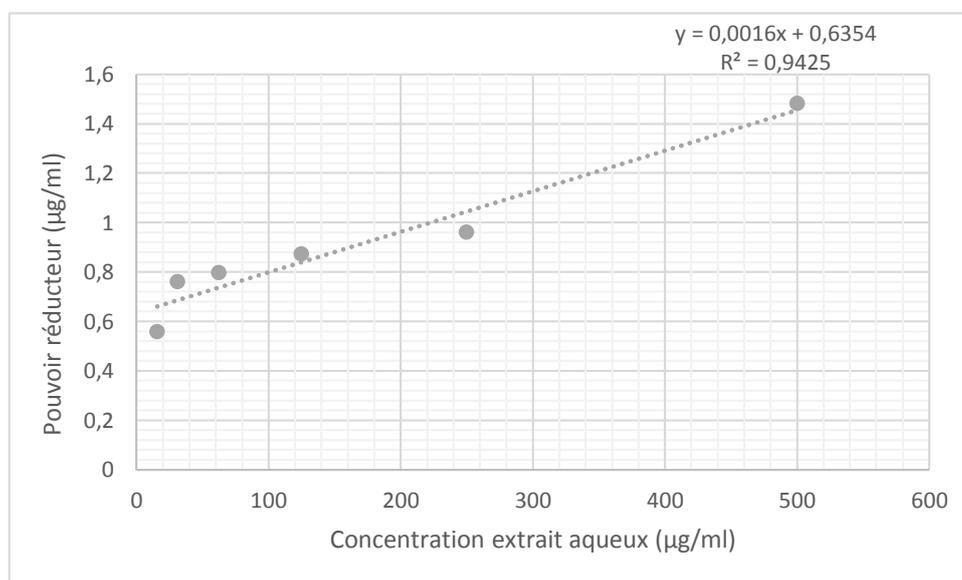


Figure 6 : Pouvoir réducteur de l'extrait aqueux (mg/ml)

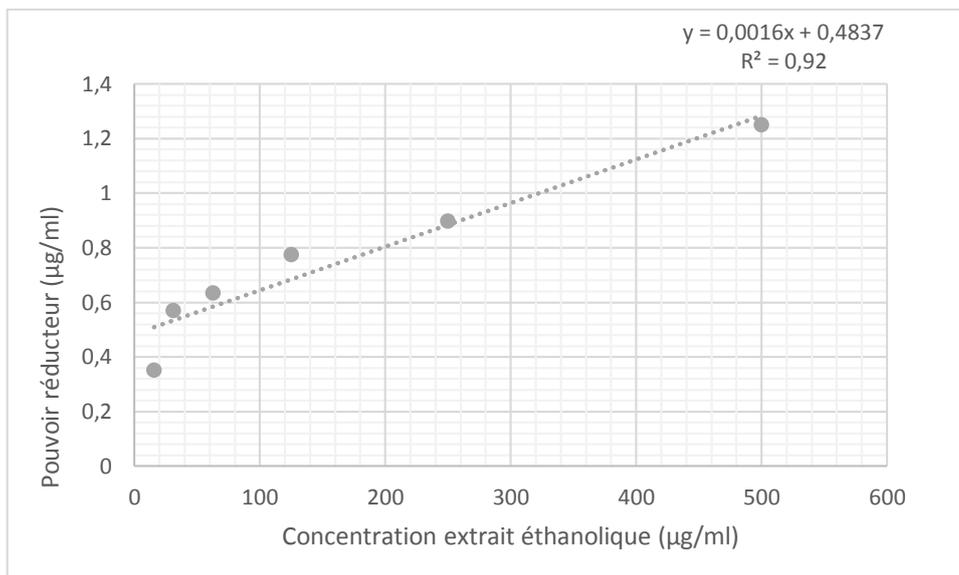


Figure 7 : Pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique (mg/ml)

Annexe 5 : Résultats des tests statistiques

Test t pour des Echantillons Appariés (Feuille de données11)								
Différences significatives marquées à $p < 0,05000$								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Différ.	Ec-Type Différ.	t	dl	p
aqueux	6,200000	1,473092						
ethanolique	5,333333	0,577350	3	0,866667	1,266228	1,185498	2	0,357584

Figure 8 : Table de Student pour échantillons appariés pour les résultats du rendement d'extraction des polyphénols

Test t pour des Echantillons Appariés (Feuille de données11)								
Différences significatives marquées à $p < 0,05000$								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Différ.	Ec-Type Différ.	t	dl	p
aqueux	6,053333	0,061101						
ethanolique	2,860000	0,589237	3	3,193333	0,647868	8,537253	2	0,013444

Figure 9 : Table de Student pour échantillons appariés pour les résultats du dosage des polyphénols totaux

Test t pour des Echantillons Appariés (Feuille de données11)								
Différences significatives marquées à p < ,05000								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Différ.	Ec-Type Différ.	t	dl	p
aqueux	1,376667	0,015275						
ethanolique	1,057667	0,058620	3	0,319000	0,070661	7,819348	2	0,015965

Figure 10 : Table de Student pour échantillons appariés pour les résultats du dosage des flavonoïdes totaux

Test t pour des Echantillons Indépendants (Feuille de données18)											
Note : Variables traitées comme des échantillons indépendants											
Groupe1 vs. Groupe2	Moyenne	Moyenne	valeur t	dl	p	N Actifs	N Actifs	Ec-Type	Ec-Type	Ratio F	p
	Groupe 1	Groupe 2				Groupe 1	Groupe 2	Groupe 1	Groupe 2	Variances	Variances
Vit C vs. Aqueux	60,18583	46,13583	1,363226	22	0,186601	12	12	28,96620	20,87175	1,926041	0,292108

Figure 11 : Table de Student pour échantillons indépendants pour les résultats du pourcentage de piégeage de DPPH par l'extrait aqueux et le standard

Tests Univariés de Significativité pour antioxydante (Feuille de données6)						
Paramétrisation sigma-restreinte						
Décomposition efficace de l'hypothèse						
Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p	
ord. origine	16,01780	1	16,01780	131,1888	0,000000	
extrait	0,57899	2	0,28950	2,3710	0,127421	
Erreur	1,83146	15	0,12210			

Figure 12 : Table de l'ANOVA pour les résultats du pouvoir réducteur de fer par les extraits et le standard

Test t pour des Echantillons Appariés (Feuille)								
Différences significatives marquées à $p < 0,05000$								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Différ.	Ec-Type Différ.	t	dl	p
aqueux	13,16500	2,043207						
ethanolique	11,36700	4,862960	10	1,798000	4,644643	1,224158	9	0,251970

Figure 13 : Table de Student pour échantillons appariés pour les résultats de l'activité antimicrobienne des extraits aqueux et éthanolique d'*Opuntia ficus indica*