

**République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de
L'enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique**

Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou



**Faculté des Sciences Biologiques et Des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie et Microbiologie**

Mémoire de Fin d'étude

*En vue de l'obtention d'un diplôme de master en Microbiologie
appliquée*

**Effet de traitement thermique sur l'activité
antioxydante, anti inflammatoire et antimicrobienne
de l'extrait aqueux d'*Arbutus unedo L***

Proposé par :

Mr MOUALEK I.

Réalisé Par :

**HADIM Katia
Ben Aissou Chabha**

Soutenu le 17/09/2018 devant Le Jury :

Mr HOUALI K. Professeur Présidente de jury

Mr MOUALEK I. Maitre de conférences classe B Encadreur

Mme IRATNI G. Maitre de conférences classe A Examinatrice

Mme OUZID Y. Enseignante doctorante Examinatrice

2017-2018

DEDICACE

Je dédie ce travail à mes Parents qu'ils trouvent ici toute ma gratitude

Pour leur soutien tout le long de mes études

À mes Sœurs et mes Frères

À mon mari et mes beaux Parents

À mes Amis

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour

Xatia





Je dédie ce travail à mes *Parents* qu'ils trouvent ici toute ma
gratitude

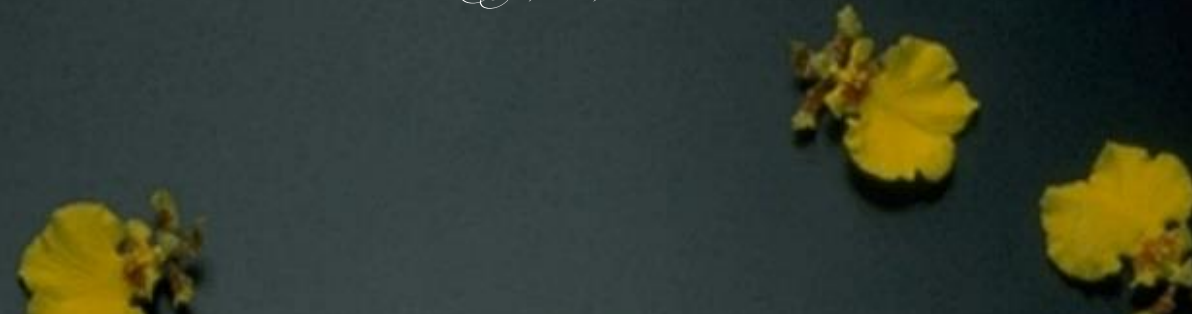
Pour leur soutien tout le long de mes études

À mes *Parents* et mon *Frères*

À mes *Amis*

À ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour

Shabha



REMERCIEMENTS

Je remercie DIEU tout puissant, maître des cieux et de la terre, qui m'a permis de mener à bien ce travail.

*Tout d'abord je tiens surtout à adresser mes plus vifs remerciements à mon promoteur **Mr. MOUALEK Idir** Maître de conférences classe B qui m'a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux.*

*Je remercie également **Mr HOUALI Karim**, Professeur à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université de MOULOUD Mammeri d'avoir accepté de présider le jury.*

*Je remercie **M^{me} AICHE IRATNI Ghenima**, Maître de conférences à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université de Tizi-ouzou d'avoir accepté de juger ce modeste travail et participer au jury.*

*Je remercie **M^{me} OUZID Yasmine**, enseignante Doctorante à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université de Tizi-ouzou, d'avoir accepté d'être parmi les membres du jury de ce mémoire.*

Je remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous

Résumé

Abstract

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralité sur l'arbousier **Arbutus unedo* L *

I.1. Définition des plantes médicinales.....	3
I.2. Description botanique d' <i>Arbutus unedo</i>	3
I.3. La classification.....	4
I.4. La répartition géographique.....	4
I.5. La morphologie de l'arbousier.....	5
I.5.1. L'écorce	5
I.5.2. Feuilles.....	5
I.5.3. Fleur.....	6
I.5.4. Fruit.....	6
I.6. Composition chimique	7
I.7. Usage traditionnel.....	7
I.7.1. Feuilles	8
I.7.2. Fruits.....	8

I.7.3. Racine	8
---------------------	---

Chapitre II : Les composés phénoliques et l'activité biologiques

II.I. Activité antioxydante.....	10
----------------------------------	----

I.1. Le stress oxydatif	10
-------------------------------	----

I.2.Les radicaux libres.....	11
------------------------------	----

I.3. Origine des radicaux.....	11
--------------------------------	----

I.3.1. Production de radicaux libres.....	11
---	----

I.3.1.1. Production intracellulaire.....	11
--	----

I.3.1.2. Production extracellulaire.....	11
--	----

I.4. Rôle des radicaux libres dans l'organisme.....	12
---	----

I.5. Les maladies liées au stress oxydatif.....	13
---	----

I.6. Activité anti oxydante.....	13
----------------------------------	----

I.6.1 Définition.....	13
-----------------------	----

I.6.2 Antioxydant	13
-------------------------	----

I.6.3 Différents types d'antioxydants naturels.....	14
---	----

I.6.3.1 Endogène.....	14
-----------------------	----

I.6.3.1.1 Superoxyde dismutases	14
---------------------------------------	----

I.6.3.1.2 Catalase	14
--------------------------	----

I.6.3.1.3 Glutathion peroxydases.....	14
---------------------------------------	----

I.6.3.2 Exogène.....	15
----------------------	----

I.6.3.2.1.Les polyphénols.....	15
--------------------------------	----

I.6.3.2.2 Classification des polyphénols	15
--	----

I.6.3.2.2.1 Les acides phénoliques.....	16
---	----

I.6.3.2.2.2 Les flavonoïdes	17
I.6.3.2.2.3. Les tanins	17
I.6.3.2.2.4 Les stilbène.....	18
I.6.3.2.2.5 Les lignanes	18
I.6.3.2.2.6 Les coumarines.....	18
I.6.3.2.2.7 Les vitamines.....	19
I.6.3.2.2.7.1. La Vitamine C.....	19
I.6.3.2.2.7.2 La vitamine E (α -tocophérol).....	19
I.6.3.2.2.7.3 La Vitamine A.....	19
I.6.3.2.3 les oligoéléments.....	19
I.6.4 Mécanisme d'action des antioxydants naturels.....	20
I.6.5 Les effets des antioxydants sur la santé.....	21
II.II .Activité anti inflammatoire.....	22
II.1Inflammation.....	22
II.1.1 Inflammation aigue.....	22
II.1.2 Inflammation chronique.....	23
II.1.3 Médiateurs de l'inflammation.....	23
II.1.4.Les différentes causes de l'inflammation.....	23
II.2. l'activité anti-inflammatoire.....	24
II.2.1 Anti-inflammatoires d'origine médicamenteuse.....	24
II.2.1.1. Anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS).....	24
II.2.1.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).....	24

II.2.1.3 Effets secondaires d'anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) et non stéroïdiens (AINS).....	24
II.2.2 Anti-inflammatoires naturels.....	25
II.2.2.1 Mécanismes d'action des anti-inflammatoires naturels.....	26
II.III Activité antimicrobienne	28
III.1 Les infections microbiennes.....	29
III.2 Les principales substances antimicrobiennes.....	29
III.2.1 Les antibiotiques.....	29
III.2.2 La résistance des bactéries aux antibiotiques	29
III.2.3 La multi résistance.....	29
III.3 Activité antimicrobienne des extraits des plantes.....	30
III.3.1 Les polyphénols	31
III.3.2 Interaction des polyphénols avec la membrane bactérienne.....	32
III.4. Description des espèces utilisées	35
III.4.1 <i>Salmonella typhimurium</i>	35
III.4.1.1 Caractères généraux	35
III.4.1.2 Pathologie humaine	35
III.4.2 <i>Citobacter freundii</i>	35
III.4.2.1 Caractères généraux.....	35
III.4.2.2 Pathologie humaine	36
III.4.3 <i>Bacillus cereus</i>	36
III.4.3.1 Caractères généraux	37
III.4.3.2 Pathologie humaine	37

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériels et méthodes

I.1- Matériels.....	38
I.1.1. Matériel végétal.....	38
I.2- Méthodes	38
I.2.1. Séchage du matériel végétal.....	38
I.2.2 Extraction aqueuse.....	38
I.2.3. Dosage des polyphénols totaux (PPT)	40
I.2.4. Détermination du pouvoir réducteur ferrique (FRAP)	42
I.2.5. Activité anti-inflammatoire.....	44
I.2.6. Etude de l'activité antimicrobienne	45
I.2.6.1. Souches bactériennes	45
I.2.6.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CIM).....	46

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Teneur en polyphénols totaux (PPT)	48
II.2 Réduction du fer	50
II.3. Activité anti-inflammatoire.....	51
II.4. Activité antimicrobienne.....	53
II.4.1. Détermination de l'activité antibactérienne.....	55
II.4.2. Détermination de la CIM	56

Conclusion	58
-------------------------	-----------

Résumé

Références Bibliographique

Annexes

Liste des figures

Figure 1 : Photo d'arbousier	3
Figure 2 : l'écorce de l'arbousier	5
Figure 3 : Feuille d'<i>Arbutus unedo</i>	5
Figure 4 : Les Fleurs d'<i>Arbutus unedo</i>	6
Figure 5 : Baies d'Arbousier « Arbouse »	6
Figure 6 : Les différentes classes d'antioxydant d'<i>Arbutus unedo</i> L	9
Figure 7 : Résultat de l'accumulation des ROS sur les cellules.	10
Figure 8 : Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène.	12
Figure 9 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.	13
Figure 10 : Les principales classes des polyphénols.	16
Figure 11 : Structure de l'acide gallique.	16
Figure 12 : Structure chimique des flavonoïdes.	17
Figure 13 : Structure de base des stilbènes.	18
Figure 14 : Structure des lignanes.	18
Figure 15 : structure de base des coumarines.	19
Figure 17 : Piégeage des ROS par les flavonoïdes.	20
Figure 18 : les phases de l'inflammation aigue.	21
Figure 19 : l'homéostasie tissulaire dans le cas de l'inflammation aigue (A) et l'inflammation chronique (B).	23
Figure 20 : Rôle des polyphénols chez l'homme.	26

Figure 21 : Inhibition du processus inflammatoire par les polyphénols.	27
Figure 22 : Sensibilité des microorganismes aux composés phénolique	31
Figure 23 : Les interactions possibles des polyphénols avec les composants de la paroi cellulaire et la membrane cytoplasmique des bactéries à Gram positif et é Gram(-).	32
Figure 24 : Mécanismes d'action de certains acides phénoliques contre Candida.	33
Figure 25 : Schéma récapitulatif de protocole expérimental adopté.	38
Figure 26 : Test du dosage des polyphénols	39
Figure 27 : Schéma récapitulatif de Protocole de dosage des polyphénols	40
Figure 28 : Test du pouvoir réducteur	41
Figure 30 : Récapitulatif du test de détermination du pouvoir réducteur (FRAP)	42
Figure 31 : Schéma récapitulatif de l'activité anti-inflammatoire	43
Figure 32 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	
Figure 33 : L'activité antioxydante de l'extrait à T° ambiante et les 2 extraits traités à 100°C comparativement à l'acide ascorbique.	46
Figure 33 : le taux de la protection de la dénaturation de l'albumine en présence de l'aspirine et les trois extraits d'<i>Arbutus unedo</i>	50

Liste des tableaux

Tableau I	: Composition chimique du fruit, feuille et racine d'<i>Arbutus unedo</i>	7
Tableau II	: les propriétés biologique du fruit et des feuilles de l'<i>Arbutus unedo</i>.	8
Tableau III	: Quelques exemples des plantes douées d'activités anti inflammatoire.	28
Tableau IV	: Différents mécanismes d'action des polyphénols	34
Tableau V	: Teneur des polyphénols totaux des extraits aqueux d'<i>Arbutus unedo</i>	47
Tableau VI	: Les IC₅₀ enregistrées pour les trois échantillons et l'acide ascorbique.	49
Tableau VII	: Les IC₅₀ enregistrées pour les trois échantillons et l'aspirine	51
Tableau VIII	: Diamètres des zones d'inhibition en fonction des différents extraits	53
Tableau IX	: Les valeurs de la CMI des extraits vis-à-vis des souches testées	55

Liste des abréviations

µg : microgramme

µl : microlitre

AG Acide gallique.

ANOVA : Analysis numerica opration variance

COX : Cyclo-oxygénase.

CP : Composé phénolique.

EAG : Equivalent d'acide gallique.

ES : Extrait sec.

FRAP : Pouvoir réducteur ferrique.

LABAB : Laboratoire de recherche de biochimie analytique et biotechnologie.

PH :Potentiel d'Hydrogène.

MS : matière sèche

Ext: Extrait

ROS: Reaction oxygen species

OH[·] : hydroxyle radicale

O⁻² : superoxyde

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

ADN : Acide désoxyribonucléique

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

SOD : Superoxyde desmutase

CAT : Catalase

GP_x : Glutathion Peroxydase

RO₂ : radical peroxyde

LDL : low density lipoprotein

AINS : anti inflammatoire non stéroïdiens

AGEP: Advanced Glycation and Products

RAGE: Receptor Advanced Glycation and Products.

TIA: toxi-infection alimentaire

BMR: Bacteries Multirésistante

ECDC :European Center Diseases Control

LPS : Lipopolysaccharide

SNC : Système Nerveux Central

HBL : Hymolysine

CYTK : Cytotoxine

Introduction :

Les plantes médicinales restent la première source de biomolécules à l'origine des médicaments. Elles sont considérées comme un ensemble de composés très variés et essentiels, qui sont autant de principes actifs à la base de la mise au point de nouvelles voies thérapeutiques. (Maurice, 1997) c'est pour quoi que la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré qu'elle soit connue depuis de nombreuses années. Cela tient principalement du fait que le règne végétal représente une source importante et une immense variété de molécules bioactives. **(Baroun et al., 1996).**

La matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, pharmaceutique et cosmétique. Les propriétés préventives des plantes médicinales sont dues principalement à la présence de vitamine, des caroténoïdes et des composés phénoliques qui sont dotés l'un d'un pouvoir antioxydant, anti-inflammatoire et antimicrobien **(Guo et al., 2003)**. En effet plusieurs études ont démontré que l'utilisation des produits d'origine végétale réduit considérablement plusieurs maladies comme les accidents cardiovasculaires et certains types de cancers **(Dauchet et al., 2005)**.

La multirésistance aux antibiotiques, la toxicité des antioxydants et des anti-inflammatoires synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et s'intéresser particulièrement aux plantes médicinales qui sont dotées de molécules naturelles efficaces et présentent peu d'effet néfaste par rapport aux molécules synthétiques .

Actuellement, il est prouvé que le régime méditerranéen a pour but d'allonger l'espérance de vie en préservant des maladies cardiovasculaires ainsi que des risques de cancers, ce dernier est basé sur une alimentation à dominante végétal qui nous procure un apport exceptionnel en fibre, en vitamine, en antioxydants, en anti-inflammatoires et en antimicrobiens **(Oliveira et al., 2011)**.

Parmi un grand nombre de plantes méditerranéennes on trouve l'Arbousier, dit aussi arbre à fraises, un arbrisseau essentiellement sauvage et typique de la région méditerranéenne, il est par ailleurs utilisé comme source de nourriture et d'agents thérapeutiques en médecine depuis l'époque grecque (Teofrasto, 1988). Ses applications suscitent ces dernières années, un intérêt toujours croissant auprès des scientifiques (Celikel et al., 2008). Les différentes parties (fruits, écorces, racines, fleurs) d'Arbousier ont de multiples vertus thérapeutiques et particulièrement les feuilles qui sont très connues comme des antispasmodiques, anticoagulants,

antioxydant cela revient à leurs composition très riche en composés phytochimiques, y compris les polyphénols, qui sont connus pour réduire le risque de cancer et prévenir plusieurs pathologies.

Afin de répondre à l'objectif principal de notre étude qui est l'évaluation de la température sur de l'activité anti-oxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne des extraits traité et non traité des feuilles d'*Arbutus unedo*, différents points critiques ont été traités :

- Appliquer différents traitements thermiques a l'extrait aqueux des feuilles d'arbousier afin d'évaluer la résistance et la conservation des molécules bioactives.
- Déterminer le taux en polyphénols totaux (PPT) dans chacun des extraits (non traité et traités)
- Evaluer le pouvoir antioxydant des différents extraits par la détermination du pouvoir réducteur ferrique (FRAP)
- Evaluer le pouvoir anti-inflammatoire par le test de protection de dénaturation thermique des protéines.
- En fin évaluer le pouvoir antibactérien par la méthode de diffusion de disque et la détermination de la CMI.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE
Chapitre I : Généralité sur l'arbousier
****Arbutus unedo L ****

I.1. Introduction générale sur les plantes médicinales :

Depuis la nuit des temps, l'Homme apprécie les vertus médicinales des plantes. À travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales.

De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux métabolites secondaires, qui sont largement utilisés en thérapeutique, comme anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiseptiques, diurétiques, mais essentiellement comme antioxydant neutralisant les effets dévastateurs du stress oxydatif **(Bourgaud et al. 2001; Kar, 2007).**

I.2. Description botanique d'*Arbutus unedo* L :

Arbutus unedo appartient au genre *Arbutus* et la famille des Ericacées ; grande famille cosmopolite représentée par 124 genres, les *Ericaceae* prédominent dans les régions tempérées et dans les montagnes tropicales du sud-est de l'Asie avec une forte concentration dans l'Himalaya **(DIDI ,2009).**

Il est communément désigné comme l'arbre à fraises, c'est un arbuste ligneux méridional, de croissance relativement lente, mais qui peut atteindre 9 mètres de long et 80 centimètres de large, il pousse dans des régions ensoleillées et a la capacité de résister au gel jusqu'à -15°C **(BOULLARD, 2001).**



Figure 1 : Photo d'Arbousier « *Arbutus unedo* L »

I.3. Classification :

Selon les classifications botaniques établies par **Guignard, 2001; Judd et al., 2002**; la classification d'*Arbutus unedo* est la suivante :

Règne:	Plantae
Embranchement:	Spermatophytes
Sous-embranchement :	Eudicots
Classe:	Magnoliopsidées
Sous-classe :	Astéridées
Ordre :	Ericales
Famille :	Ericacées
Genre :	<i>Arbutus</i>
Espèce :	<i>Arbutus unedo</i>

I.4. Répartition géographique:

Selon Mabberley (1997) le genre *Arbutus* comporte 14 espèces disséminées dans les régions tempérées et fraîches de l'hémisphère nord et en Amérique tropicale. Cette espèce thermophile, résistante au froid, se rencontre entre 0 et 600m d'altitude et peut parfois aller jusqu'à 1000m d'altitude (**Guinochetet de Vilmorin, 1987**). Plante très abondante en Algérie dans les garrigues, les tells et les forêts, mais aussi en Tunisie et au Maroc (**AIT YUCEF, 2006**).

Sur le continent européen, nous distinguons 2 espèces d'arbousiers : *Arbutus unedo* et *Arbutus andrachnoides*, ce dernier est cantonné aux régions du pourtour de la mer Egée et en particulier en Grèce et sud de l'Albanie. Quant à *Arbutus unedo*, sa répartition géographique est méditerranéo-atlantique (**desAbbayes et al, 1971**).

Arbutus unedo est l'une des espèces caractéristiques de tous le bassin méditerranéen sur les sols acides ou siliceux, en lisière de bois et sur les versants rocaillieux, présente aussi sur le littoral atlantique jusqu'en Irlande (POLESE, 2010).

I.5.Morphologie d'*Arbutus unedo* :

Il se présente sous la forme d'un arbrisseau à feuillage persistant, de 1.50m à 3m de hauteur.

1.5.1. Ecorce : Les jeunes rameaux sont rouges, rudes et poilus, à maturité, l'écorce devient brun terne, se fissure et finit par s'exfolier par petites plaques (Bissardon, 1997).



Figure 2 : Ecorce d'Arbousier

1.5.2. Feuille : Les feuilles d'arbousier sont persistantes, ovales-lancéolées, coriaces glabres et luisantes (Bissardon, 1997).



Figure 3 : Feuilles d'*Arbutus unedo*

1.5.3. Fleur : sont blanches verdâtre, sous forme de clochettes rassemblées en grappes rameuses et terminale hermaphrodites actinomorphes (régulières) et possèdent 10 étamines (**Bissardon, 1997**).



Figure 4 : Fleurs d'*Arbutus unedo*

1.5.4. Fruit : L'arbousier est l'un des rares végétaux qui porte en même temps des fleurs et des fruits : l'automne arrivé, les fleurs s'épanouissent et côtoient les fruits mûrs formés au cours de l'année précédente. Cet arbrisseau porte des baies charnues (à 5 loges), globuleuses, indéhiscentes de 20 mm de diamètre, rouge vif à maturité.



Figure 5: Baies d'Arbousier « Arbouse »

DIFFERENTE PARTIE	Les Composés phénoliques	Les sucres	Autres composées
FRUIT	• Flavonols (10,86mg/100g) • Les dérivés de galloyl (24,63mg /100g) • Anthocyanes (13,77mg/100g)	• Fructose (27,8%) • Glucose (21 ,5%) • Saccharose (1,80%) • Maltose (1,11%)	• Eau (68,18%) • Solides solubles (17,66%) • Fibres alimentaires (19%)
FEUILLE	• Tanin (37%) • Arbutoflavonol A • Arbutoflavonol B • Flavonoïdes (2%)	• Arbutoside (3,2%) • Unédoside	• Acide ursuline • L'hydroquinone libre
RACINE	• Acide gallique • Acide benzoïque • Acide protocatéchique • Anthocyanes (3,65mg/g) • Flavonoïdes (0,56mg/g)	• Arbutin	• Composés mutagènes

Tableau I : Composition chimique du fruit, des feuilles et des racines d'*Arbutus unedo*

I.6.Composition chimique :

Une composition chimique distincte a été établie pour les différentes parties d'*Arbutus unedo* après des analyses physicochimiques effectuées par plusieurs auteurs (**AITYOUSEF ,2006 ; DOUKANI et TABAK ,2015 ; MALES et al ; 2006 ;DELLILE, 2007 ; MIGEL et al., 2014**) et présentées au niveau du tableau I .

I.7. Usage traditionnel : Depuis l'antiquité, les produits naturels, notamment ceux d'origine végétale comme l'arbousier (*Arbutus unedo*) ont toujours été utilisé dans la médecine

traditionnelle au Maroc oriental comme remède naturel pour l'hypertension et le diabète (**EL HOUARI, 2007**) les parties utilisées sont : Feuille, Fleur, Fruit, Racine, Ecorce. Cette plante présente des propriétés diurétiques, anti-inflammatoires et antiseptiques.

I.7.1. Feuille : les feuilles d'arbousier sont utilisées traditionnellement pour leurs propriétés diurétiques, antiseptiques et antispasmodiques, celles-ci provoquent la contraction des tissus et des vaisseaux sanguins et stimulent la coagulation du sang. (**BOULLARD, 2001**)

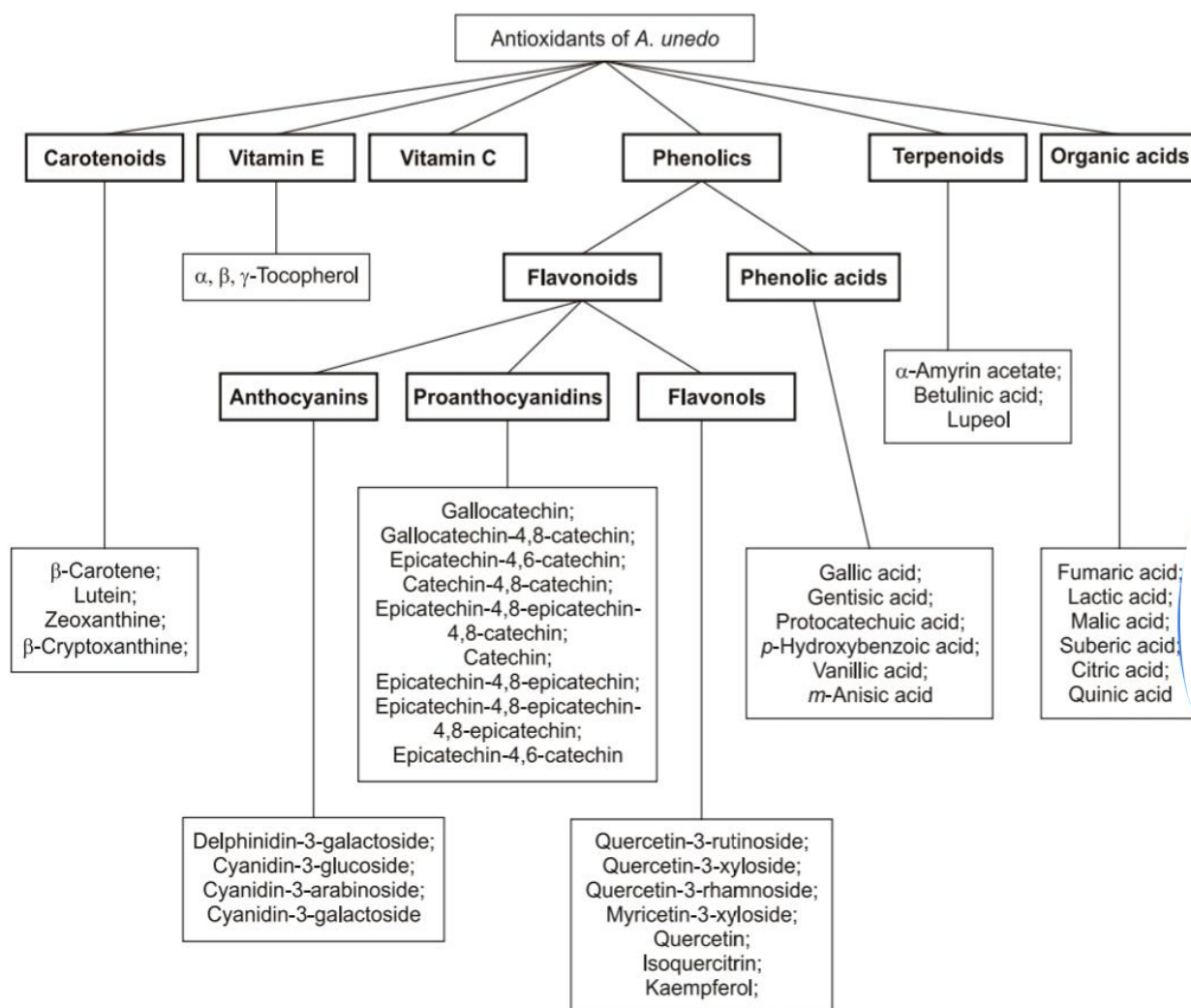
I.7.2. Fruit : En médecine traditionnelle, il est rapporté que le fruit d'*Arbutus unedo* possède des propriétés astringentes, dépuratives, diurétiques et favorise la circulation. Des décoctions du fruit séché réduit en poudre se révèlent efficaces lors d'engorgement du foie évitant ainsi des problèmes rénaux et de rétention d'eau (œdèmes) (**ISERIN ,2001**).

I.7.3. Racine : utilisées en décoction contre l'hypertension et l'artériosclérose, on lui attribue des propriétés anti-inflammatoire, elle est également efficace contre les rhumatismes. (**AIT YUCEF ,2006**), de plus elles sont de bons désinfectant des voies urinaires et soigne les blennorragies (**BOULLARD, 2001 ; ISERIN, 2001**).

La partie étudiée	Activité prouvée	Auteur
Feuilles	Activité antioxydante	PABUÇCUĞLU et <i>al.</i> , 2003
Feuilles	Activité hypoglycémique	LEGSSYER et <i>al.</i> ,2004
Feuilles	Prévention des maladies cardiovasculaire	EL HOUARI et <i>al.</i> ,2007
Feuilles	Activité anti-inflammatoire des extraits aqueux	MARIOTTO et <i>al.</i> ,2008
Feuilles	Activité anti leishmania	KIVACK et <i>al.</i> ,2009
Fruits	Antioxydant et neuroprotecteur	FORTALEZAS et <i>al.</i> ,2010
Fruit	Potentiel anti tumoral contre la lignée cellulaire humaine NCI-H460	GUIMARAES et <i>al.</i> ,2014
Feuilles	Activité antifongique	FERREIRA et <i>al.</i> ,2012

Tableau II : les propriétés biologique du fruit et des feuilles de l'*Arbutus unedo*

Plusieurs études phytochimiques ont montrées que l'arbousier est très riche aux composés phénoliques et le schéma suivant récapitule les déférentes classes des antioxydants appréciés chez *Arbutus unedo L*



**Figure 6 : Les différentes classes d'antioxydant d'*Arbutus unedo L*
(OLIVEIRA et al., 2011)**

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre II : composés phénoliques et activités biologiques

II.I. Activité antioxydante

Tenant compte des nombreuses utilisations traditionnelles des différentes parties de la plante que nous étudions, beaucoup de recherches ont été initiées. Au regard des ravages causés par le stress oxydatif ces recherches se sont particulièrement intéressées à l'activité antioxydante des feuilles de l'arbousier.

I.1. Le stress oxydatif

La génération des espèces réactives de l'oxygène dénommé ROS (Reactive Oxygen Species) se produit naturellement au cours de la respiration cellulaire (**Tarnawski et al., 2005**). Les ROS désignent une appellation collective, comprennent les radicaux libres et certaines molécules qui sont des agents d'oxydation et ou facilement convertis en radicaux. Les ROS dont les plus courants sont le radical hydroxyl ($\text{OH}^\cdot$), l'anion superoxyde ($\text{O}_2^\cdot$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), perturbent la vie cellulaire en causant l'oxydation des lipides, des protéines et de l'acide désoxyribonucléique (ADN).

L'évolution de cette oxydation semble être la cause de plusieurs maladies telles que le diabète, le cancer, les inflammations, les maladies cardiovasculaires ou neurodégénératives et accélèrent le processus de vieillissement (**Luximon et al., 2002 ; Dasgupta et al., 2007 ; Gülçin et al., 2006**).

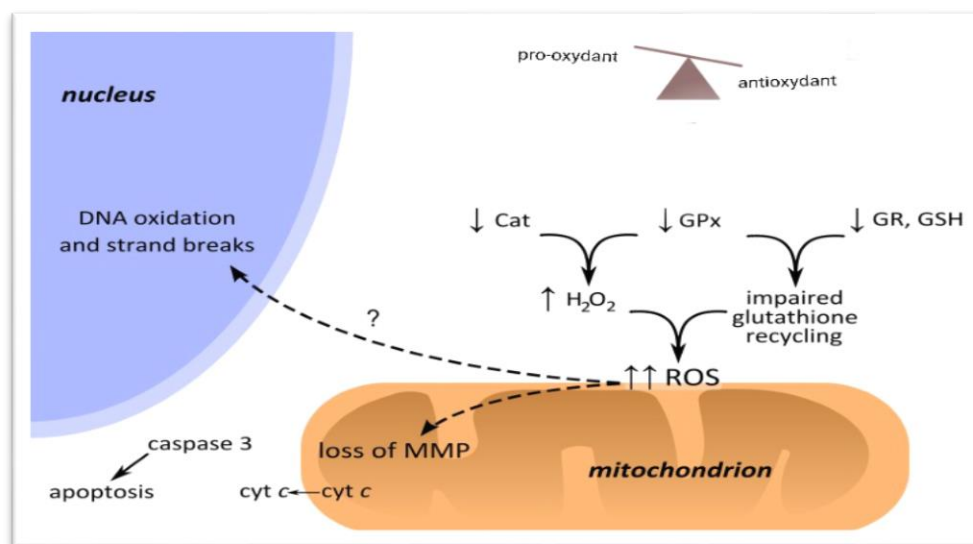


Figure 7 : Effets de l'accumulation des ROS sur les cellules (PINTO et al., 2014)

I.2. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié (**Afonso et al., 2007**). La présence d'un électron célibataire confère souvent à ces molécules une grande instabilité, elles ont la possibilité de réagir avec de nombreux composés (**Amzal, 2010**). Elles prouvent entrainer des lésions tissulaires en captant des électrons d'une molécule stable pour essayer d'apparier leurs propres électrons, laissant ainsi la molécule originale dans un état instable (**Filaire et Tomi, 2012**).

I.3. Origine des radicaux

I.3.1. Production des radicaux libres

I.3.1.1. Production intracellulaire

La production des ROS dans les cellules des mammifères découle de plusieurs sources possibles (figure 8) mais sont essentiellement d'origine enzymatique. Il s'agit principalement de la NAD(P) H oxydase membranaire et du complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire mais aussi de la phagocytose.

I.3.1.2. Production extracellulaire

L'environnement et le mode de vie sont également responsables de la création et de l'accumulation de radicaux libres dans l'organisme, comme les radiations ionisantes, les champs électriques, les polluants industriels, le tabagisme ainsi qu'une mauvaise alimentation (riche en graisses saturées et en sucre, consommation d'alcool...), sont autant d'éléments favorisant la genèse de radicaux libres (**Mena et al., 2009**).

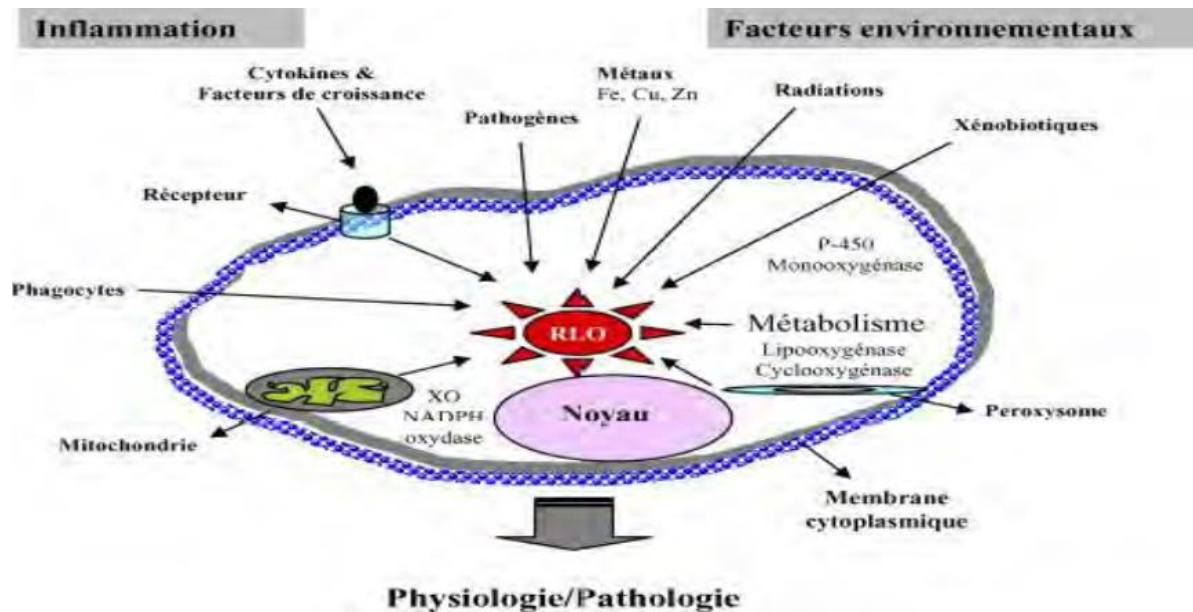


Figure 8 : Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène (AFONSO et *al.*, 2007).

I.4. Rôle des radicaux libres dans l'organisme

En résumé, les mécanismes d'action principaux des ERO sont de déclencher ou d'amplifier un signal intracellulaire par deux mécanismes principaux (par modification de l'équilibre redox intracellulaire et par modification oxydative des protéines). Les ERO sont également à l'origine de l'action bactéricide des leucocytes (Delattre et *al.*, 2005).

I.5. Les cibles des espèces réactives de l'oxygène

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes des molécules biologiques (d'ADN, des protéines et des lipides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps (Favier, 2003).

Pour la molécule d'ADN bien qu'il soit la mémoire de toute la composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène, on assiste alors à de nombreuses lésions, qui vont perturber les mécanismes de réplication de l'ADN et entraîner soit des erreurs de lecture ou bien de synthèse par des ADN polymérases translésionnelles infidèles, aboutissant à une mutation ponctuelle dans le génome. Les radicaux libres peuvent aussi entraîner une impossibilité de copie de l'ADN qui aboutira à la mise en route du suicide programmé des cellules par un mécanisme appelé apoptose (FAVIER, 2003).

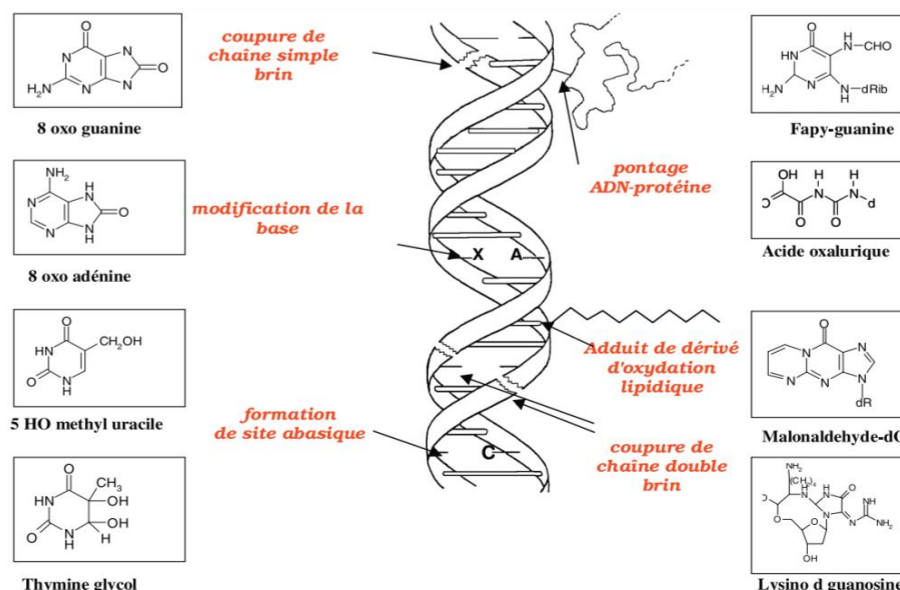


Figure 9 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (FAVIER, 2003)

I.5. Les maladies liées au stress oxydatif

En faisant apparaître des molécules biologiques altérées et en sur exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause à l'initiale de plusieurs maladies comme le cancer, la cataracte, le syndrome de détresse respiratoire aigu, l'œdème pulmonaire, le vieillissement accéléré, Alzheimer, Parkinson, les infections intestinales, le rhumatisme, l'athérosclérose et le diabète (Georgetti et al., 2003).

I.6. Activité anti oxydante

I.6.1 Définition

L'activité antioxydante consiste à l'inhibition des réactions en chaîne de production de radicaux libres et limitant ainsi leurs action. Cette propriété est souvent exprimée par les nombreuses familles de polyphénols. Bien que les réactions d'oxydation soient nécessaires à la vie, elles peuvent aussi être destructrices. Les plantes et les animaux utilisent et produisent de nombreux antioxydants pour se protéger (POPOVICI, 2009).

I.6.2 Antioxydant :

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau

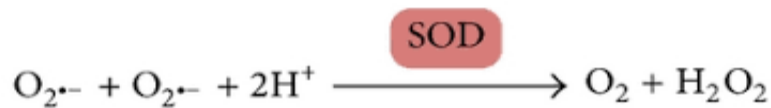
de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense cellulaire détoxifiante (**Favier, 2003**).

I.6.3. Différents types d'antioxydants naturels

I.6.3.1. Endogène :

I.6.3.1.1. Superoxyde dismutases :

Le superoxyde dismutase (SOD) est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation du superoxyde en oxygène et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier pourra être pris en charge par des enzymes à activité peroxydase. Il existe trois iso formes de SOD chez les mammifères. Une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc, une forme mitochondriale associée au manganèse et une forme extracellulaire. Pour cette raison, cette enzyme représente une partie importante du système de défense contre les radicaux libres (**Valko et al., 2007**).



I.6.3.1.2. Catalases

Chez les mammifères, la catalase est particulièrement présente dans les peroxysomes et leurs cibles principale est le H_2O_2 . Elle catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en H_2O et O_2 empêchant ainsi la formation de radical hydroxyl. La catalase permet également de détoxifier différents substrats, tels que les phénols et les alcools par un couplage avec la réduction d'hydrogène (**LEHUCHER, 2001**)



I.6.3.1.3. Glutathion peroxydases

Les glutathion peroxydases sont localisées dans le cytosol, le réticulum endoplasmique et dans la membrane interne des mitochondries. Elles permettent de réduire le H_2O_2 en H_2O en parallèle de l'oxydation du glutathion. (**THÉRON, 2003**).



I.6.3.2. Exogène

I.6.3.2.1. Les polyphénols

Les polyphénols sont des molécules organiques hydrosolubles largement retrouvées dans le règne végétal. Ils sont issus du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont principalement synthétisés par la voie du shikimate. Cette voie métabolique est présente uniquement chez les bactéries, les champignons et les plantes. **(HOFFMANN L, 2003).**

Les polyphénols forment un ensemble de molécules comportant au moins un groupement phénolique dans leur structure et sont en général de haut poids moléculaire. On retrouve plusieurs sous-groupes classifié par la structure de leur squelette carboné.

L'étude des polyphénols est croissante ces dernières années en raison de leurs bienfaits sur la santé, notamment grâce à leur pouvoir antioxydant exprimé par leur potentiel à piéger des espèces radicalaires et de chélater les métaux de transition comme le Fer et le Cuivre qui permettent de catalyser les oxydations. Il parait néanmoins que les polyphénols sont aussi capables d'interagir avec des cibles protéiques (enzymes, récepteurs nucléaires...) ce qui leur donne des effets anti-athérogéniques, anti-inflammatoires, anti-thrombotiques et anti-cancérigènes. Ces antioxydants naturels sont également utilisés en agroalimentaire, en cosmétique ou dans l'industrie pharmaceutique comme additifs. **(STEVENSON et HURST, 2007)**

I.6.3.2.2. Classification des polyphénols :

La classification de ces biomolécules est basée essentiellement sur leur structure donnant lieu à différentes classes reprises dans la figure suivant **(Hui et al, 2017 ; Oliver et al, 2016)**

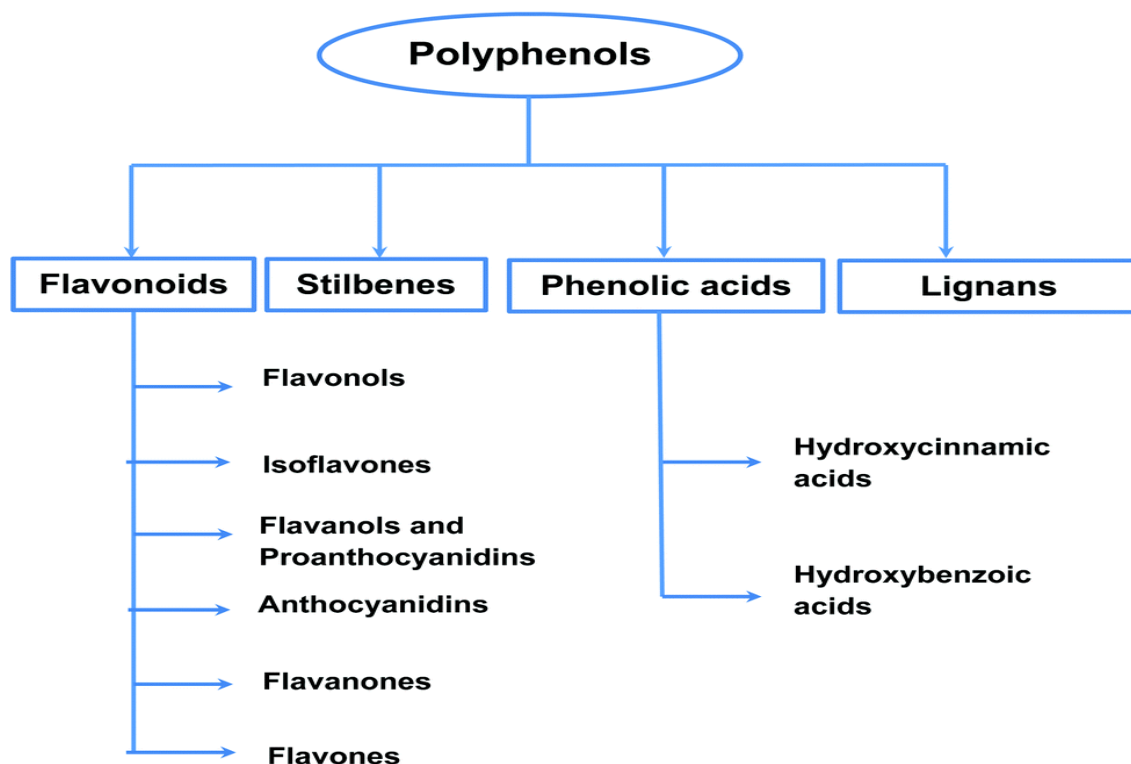


Figure 10 : Les principales classe des polyphénols (Oliver et *al.*, 2016).

I.6.3.2.2.1. Les acides phénoliques

Un acide-phénol (ou acide phénolique) est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique.

Le nombre de carbones dans la chaîne renfermant la fonction acide définit le type d'acide phénolique comme l'acide gallique ou caféique par exemple, ces deux acides sont connus pour leurs activités antioxydantes et antiradicalaires (Bossokpi, 2002). Pour l'acide caféique, il se montre très efficace contre les virus, bactéries et champignons (HSU, C. et YEN, G., 2007) ; (HSU, C et al., 2006).

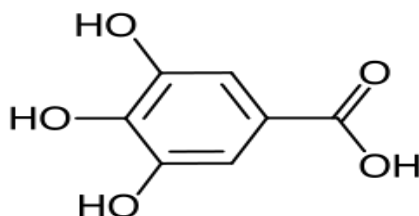


Figure 11 : Structure de l'acide gallique

I.6.3.2.2.2. 1es flavonoïdes :

Présents dans la plupart des plantes, les flavonoïdes sont des pigments phénoliques qui sont responsables de la plupart des colorations des fleurs et des fruits. Ils possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques, des propriétés anti-inflammatoires, antispasmodique, diurétique, antiseptique mais aussi ils jouent un rôle très important dans le traitement du diabète, de la goutte, des tumeurs, de l'hypertension, des thromboses, des allergies, des affections bactériennes et virales (**Cowan, 1999 ; Yao et al., 2004**).

Les flavonoïdes sont également connus pour leur pouvoir antioxydant, ces composés peuvent empêchés les dommages oxydatifs par différentes mécanismes d'actions et cela soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxydes et peroxydes (**Hodek et al., 2002**) ; soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires; soit par l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres (**Van Acker et al., 1996 ; Benavente-Garcia et al., 1997**).

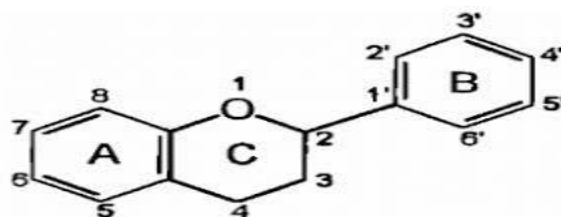


Figure 12 : Structure chimique des flavonoïdes

I.6.3.2.2.3. Les tanins :

Toutes les plantes en contiennent à des degrés différents. Ce sont des composés phénoliques qui permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides avec production de radicaux tanniques plus stables (**Cavin A., 1999**). Ces composés sont aussi réputés pour leur pouvoir chélateur des ions Cu^{2+} qui catalysent l'oxydation des lipoprotéines dans les macrophages in vitro (**Yoshida et al., 1999**).

I.6.3.2.2.4. Les stilbènes :

Les stilbènes se trouvent en petites quantités dans l'alimentation humaine, parmi ces composés on trouve le resveratrol qui est un anticancéreux présent dans certaines plantes médicinales.

Ils se retrouvent principalement dans les fruits rouges, les raisins, les vins, le soja et les arachides, ils sont produits par les plantes en réponse aux attaques des microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux (**Crozier et al., 2006**).

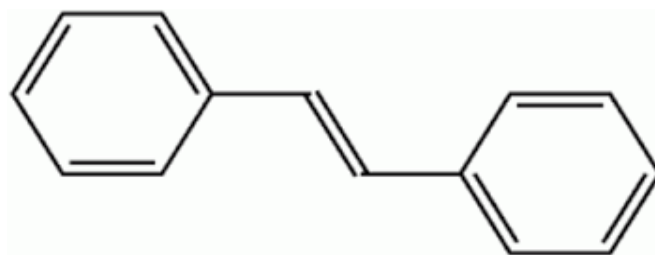


Figure 13: Structure de base des stilbènes

I.6.3.2.2.5. les lignanes

Les lignanes constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal avec une nature, une localisation, et une teneur très variable et possèdent des propriétés anti-inflammatoires ainsi qu'antioxydante, ils préviennent la peroxydation des lipides. (**Casarin et al, 2014**).

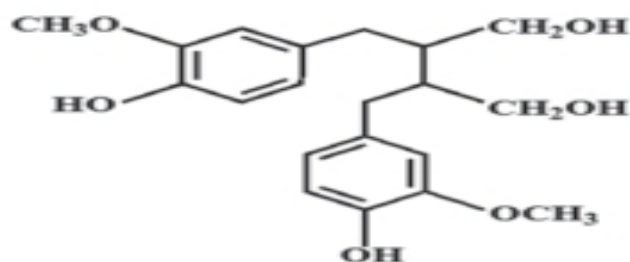


Figure 14 : Structure des lignanes

I.6.3.2.2.6. Les coumarines :

Les coumarines de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Les conditions

structurales requises pour l'activité antiperoxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes (**Igor L.B., 2002**).

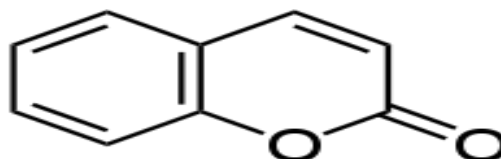


Figure 15: structure de base des coumarines

I.6.3.2.2.7. Les vitamines

I.6.3.2.2.7.1. La Vitamine C

La vitamine C (acide ascorbique) est une vitamine hydrosoluble à concentration physiologique mais n'est pas synthétisée par l'organisme. Elle empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase). Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle prend une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E (**CARR AC et al., 1999**)

I.6.3.2.2.7.2. La vitamine E (α -tocophérol) :

La vitamine E Constitue le principal antioxydant biologique de sérum lipidique. Elle est catégorisée comme l'un des plus importants protecteurs cellulaires contre les dommages oxydants. L' α -tocophérol, connu comme inhibiteur de la propagation de la peroxydation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical RO_2 , elle serait régénérée par la vitamine C (**Valko et al, 2006**).

I.6.3.2.2.7.3. La Vitamine A

La vitamine A dérivé du carotène. cet antioxydant protège les membranes cellulaires par piégeage des radicaux libres en cas de pression partielle d'oxygène basse, contribue ainsi à une protection de l'organisme d'un vieillissement prématuré (**Sarazin et al., 2000**).

I.6.3.2.3. les oligoéléments

Les oligoéléments sont des éléments chimiques présents dans le corps humain en concentration inférieure à 0.01%. Ce sont des éléments qui doivent être apportés par l'alimentation connus pour leurs propriétés antioxydantes. Ils servent notamment de cofacteurs aux enzymes antioxydantes (**Berger, 2006**). Ce sont des cofacteurs indispensables pour des

réactions métaboliques d'enzymes antioxydantes comme la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase. Il s'agit principalement du cuivre, du manganèse, du sélénium et du zinc.

I.6.4. Mécanisme d'action des antioxydants naturels

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la complexation d'ions et de métaux de transition. Cet intérêt a plusieurs origines ; en tant que constituants alimentaires, ces antioxydants d'origine naturelle semblent contribuer de manière significative à la prévention de nombreuses maladies.

Les polyphénols ont des propriétés antioxydantes en raison de leur capacité à piéger les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène. Ils interfèrent avec l'oxydation des lipides et d'autres molécules par la donation rapide d'un atome d'hydrogène aux radicaux libres selon un mécanisme proposé par SHERWIN en 1976:

l'antioxydant cède formellement un radical hydrogène transférant ainsi son électron suivi de son proton produisant un composé réduit et un radical intermédiaire (figure 16), ce dernier est stabilisé par ses structures mésomères conjuguées (SÖKMEN., 2012).

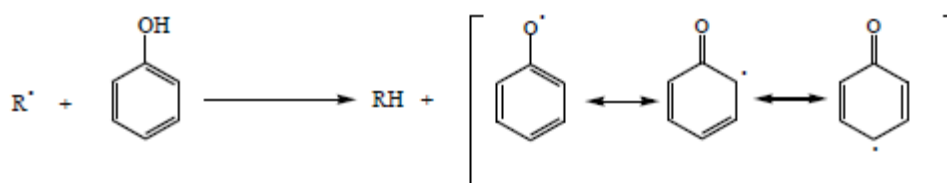


Figure 16 : Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques (Berset et Cervelier, 1996).

Les flavonoïdes en particulier sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants, comme le superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyle, par transfert d'hydrogène et le radical Flavonoxy (FL-o) qui en résulte peut réagir avec un autre radical

pour former une structure stables (Jovanovic et al., 1994).

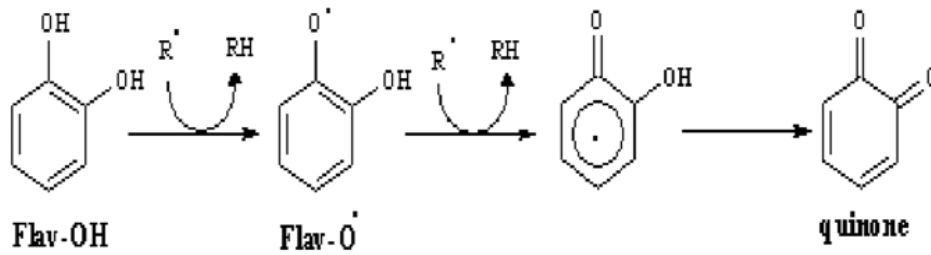


Figure 17 : Piégeage des ROS par les flavonoïdes (Marfak, 2003).

I.6.5. Les effets des antioxydants sur la santé

Nous avons vu que le stress oxydant avait un réel impact négatif sur la santé, notamment par la favorisation de la survenue de plusieurs pathologies. Ainsi, il est légitime de penser que si l'on supplémente la population en antioxydants naturels, toutes ces pathologies pourraient tendre à disparaître. Le régime méditerranéen riche en fruits et légumes a démontré ses effets sur le système cardiovasculaire. Une des hypothèses avancées pour justifier ce mécanisme protecteur est la richesse en antioxydants des fruits et légumes. En effet, de nombreuses études conseillent une alimentation variée riche en fruits et légumes afin de prévenir l'apparition de nombreuses pathologies, notamment les cancers, les maladies cardio-vasculaires et le diabète. Plusieurs études confèrent également un rôle très important aux polyphénols dans ses effets bénéfiques, ceci étant lié au caractère antioxydant de ces molécules (Ichai et al., 2011).

En conclusion, la supplémentation en antioxydant est indispensable, cette dernière est assuré par une alimentation variée, équilibrée et riche en végétaux. C'est en cela que l'on s'intéresse de plus en plus aux antioxydants présents dans les plantes notamment ceux de l'*Arbutus unedo L* dont les feuilles très riche en (tanins, flavonoïdes, coumarines) ont connu une large utilisation en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs problèmes, gastro-intestinaux et urologique, ils peuvent même être bouillies pour traiter les diarrhée et les problèmes de la vessie, mais aussi très utilisé comme hypotenseur (Mekhfifi et al., 2006).

II.II. Activité anti inflammatoire

II.1. Inflammation

L'inflammation est une réaction adaptative engendrée en réponse à des stimuli nocifs telle qu'une infection ou une agression tissulaire. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, elle conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé (Nathan, 2002; Barton, 2008). La fonction principale de l'inflammation est donc l'élimination d'agent agresseur et la réparation des tissus. L'inflammation de courte durée dite inflammation aiguë est un phénomène bénéfique pour l'organisme qui lui permet de retrouver son intégrité physiologique. Alors que l'aspect négatif de l'inflammation intervient quand cette dernière se pérennise et devient une inflammation chronique (Weill et al., 2003).

II.1.1. Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est la réponse immédiate de l'organisme à un agent agresseur, elle dure de quelques jours à quelques semaines et peut être divisée en trois grandes phases. Une phase vasculaire immédiate avec dilatation et perméabilisation des vaisseaux ; une phase cellulaire consécutive marquée par un afflux de polynucléaires et macrophages, libération d'enzymes, de phagocytose et production de lymphokines et une phase de résolution, régénération et cicatrisation correspondant à la synthèse du collagène par les fibroblastes. (Weill et al., 2003 ; Charles et al., 2010).

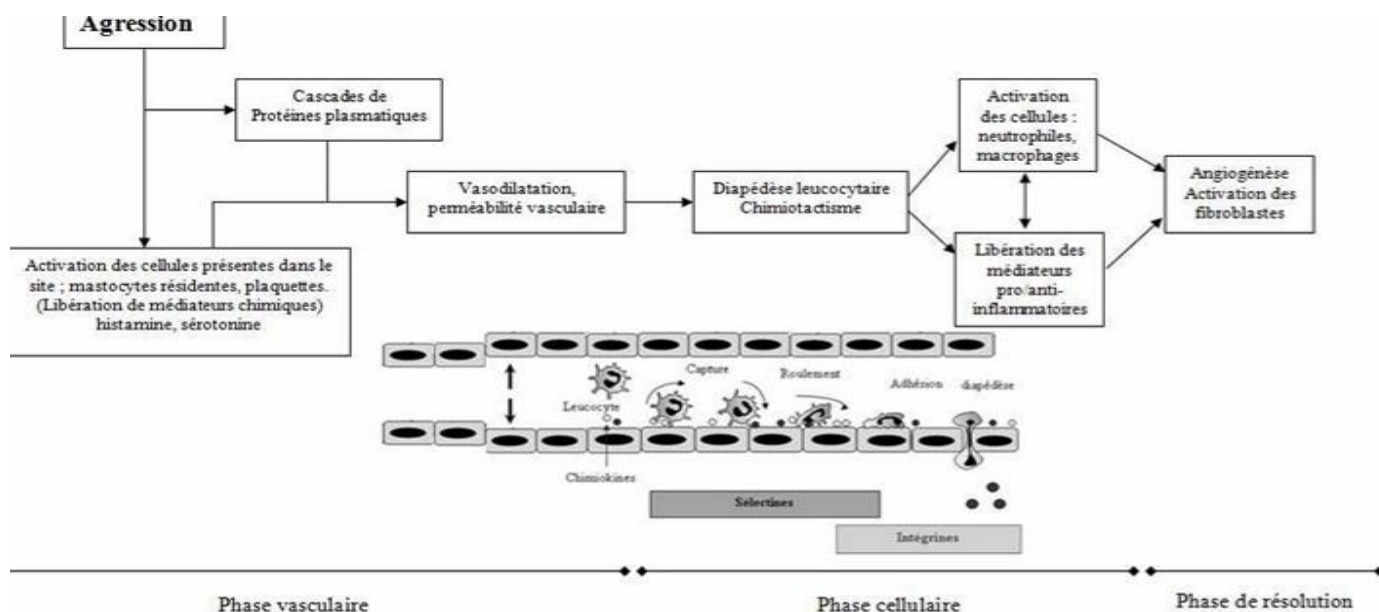


Figure 18 : les phases de l'inflammation aiguë (chevalier et al., 2005).

II.1.2. Inflammation chronique

L'inflammation chronique est une inflammation prolongée, caractérisée par sa persistance dans le temps, elle peut durer plusieurs semaines voire plusieurs années (**Iwalewa et al., 2007; Charles et al., 2010**). Dans l'inflammation chronique, les phénomènes d'inflammation, de destruction tissulaire et de réparation coexistent tout au long de l'évolution de l'inflammation, à la différence de ce qui se passe dans l'inflammation aiguë. Les tissus donc ne se régénèrent pas correctement et un phénomène de cicatrisation pathologiques s'installe (**Weill et al., 2003**).

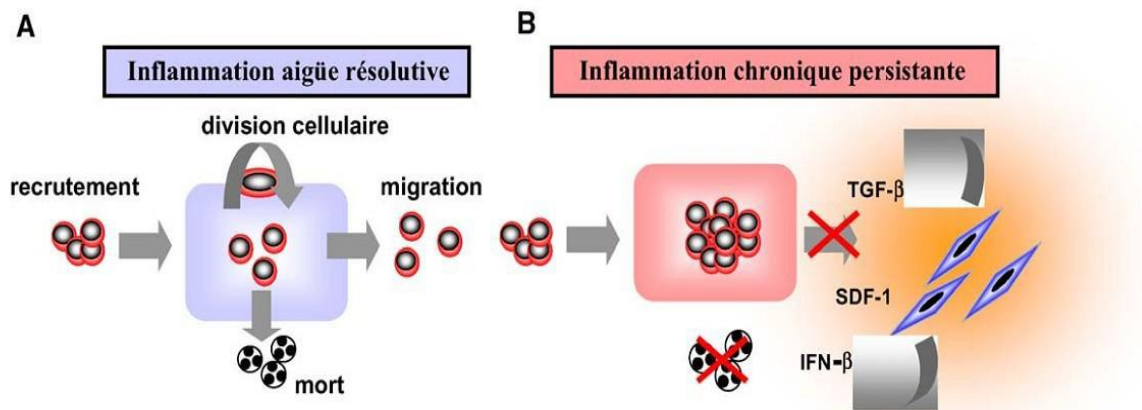


Figure 19 : l'homéostasie tissulaire dans le cas de l'inflammation aiguë (A) et l'inflammation chronique (B) (Angela et al., 2004).

II.1.3. Médiateurs de l'inflammation

La réponse inflammatoire est initiée et contrôlée par de nombreux médiateurs chimiques, pro ou anti-inflammatoires, qui peuvent être des substances protéiques plasmatiques, présentes dans le sang circulant, ou proviennent de cellules telles que les mastocytes, les thrombocytes, les neutrophiles, les monocytes et les macrophages. (**Henrotin et al., 2001 ; Iwalewa et al., 2007**),

II.1.4. Les différentes causes de l'inflammation

Les agressions sont de natures variées, elles peuvent être traumatiques (coupure, écrasement, fracture...), chimiques ou physiques (brûlure, gelure, radiations ionisantes...), d'origine infectieuse (infections bactérienne, virale, fongique, parasitaire...). L'inflammation peut aussi être causée par une fausse menace, c'est le cas des réactions auto-immunes, mais les

maladies auto-inflammatoires, l'organisme de ceux qui en souffrent, lutte en continu contre des menaces inexistantes ou encore d'origine allergique (**Charles et al., 2010**)

II.2. l'activité anti-inflammatoire

Le traitement de l'inflammation repose sur l'utilisation des anti-inflammatoires ces derniers figurent parmi les médicaments les plus vendus, cela revient au fait que le nombre de maladies inflammatoires est élevé, de plus en plus de personnes en sont atteintes, et ceci de plus en plus sévèrement. Les anti-inflammatoires pharmaceutiques comme l'aspirine ou la cortisone, sont puissants et efficaces contre les inflammations, ils présentent cependant de nombreuses contre-indications qui rendent leur utilisation problématique.

Il est dès lors intéressant de savoir que la nature regorge de plantes médicinales, ainsi que d'autres remèdes à action anti-inflammatoire et ceux-ci présentent le grand avantage d'avoir peu d'effets secondaires.

II.2.1. Anti-inflammatoires d'origine médicamenteuse

Les anti-inflammatoires synthétique sont des médicaments symptomatiques, qui n'agissent pas sur la cause de l'inflammation. Ils sont indiqués quand l'inflammation, processus normal de défense contre les agressions, devient gênante, notamment à cause de la douleur qu'elle provoque. En effet, certains ont aussi une action antalgique et antipyrétique, on a deux types d'anti-inflammatoires.

II.2.1.1. Anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS), l'une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétique et antalgiques. , il y a plus de 50 différents AINS sur le marché mondial (**Schorodet, 1992**).

II.2.1.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol, également appelés corticostéroïdes, dérivés des corticostéroïdes naturels, hormones sécrétées par les glandes surrénales. Ils sont très puissants et permettent de contrôler l'inflammation quand elle devient sévère (**Schorodet, 1992**).

II.2.1.3. Effets secondaires d'anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) et non stéroïdiens (AINS)

Le traitement de l'inflammation est souvent basé sur l'apport d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et des glucocorticoïdes. Ces deux types d'anti-inflammatoires, quelles que

soient leurs voies d'administration, exposent aux risques de toxicité gastro-intestinale et le risque est d'autant plus important que la posologie est élevée et que le traitement est prolongé. Parmi les effets secondaires des anti-inflammatoires synthétiques on peut citer **(Charles et al., 2010)**

Troubles endocriniens et métaboliques, intolérance glucidique, manifestations d'un diabète sucré latent.

- Troubles digestifs (plus fréquents), ulcères gastroduodénaux et leur cortège de complications.
- Problèmes cutanés, retards de cicatrisation
- Anomalies neuropsychiques, excitation avec euphorie et troubles du sommeil
- Troubles de l'hémostase sont dus à l'aspirine
- Complications rénales

II.2.2. Anti-inflammatoires naturels

Les plantes anti-inflammatoires regroupent des espèces de diverses familles dont les principes actifs présumés responsables de l'activité anti-inflammatoire sont de nature chimique variée. Cependant ces plantes ont toutes en commun la présence de composés phénoliques, qui sont des molécules à plusieurs activités biologiques connues et reconnues.

Les polyphénols présentent une capacité très importante à prévenir et traiter les maladies inflammatoires, et encore à éliminer les causes de l'inflammation comme par exemple élimination des aliments pro-inflammatoires (graisses saturés, excès de sucre...etc. **(Bierhaus A., 1997)** .

Les polyphénols représentent aussi une protection variable pour l'organisme car ces derniers font partis du processus protecteur vis-à-vis de plusieurs maladies dont certaines sont illustré dans la figure ci-dessous :

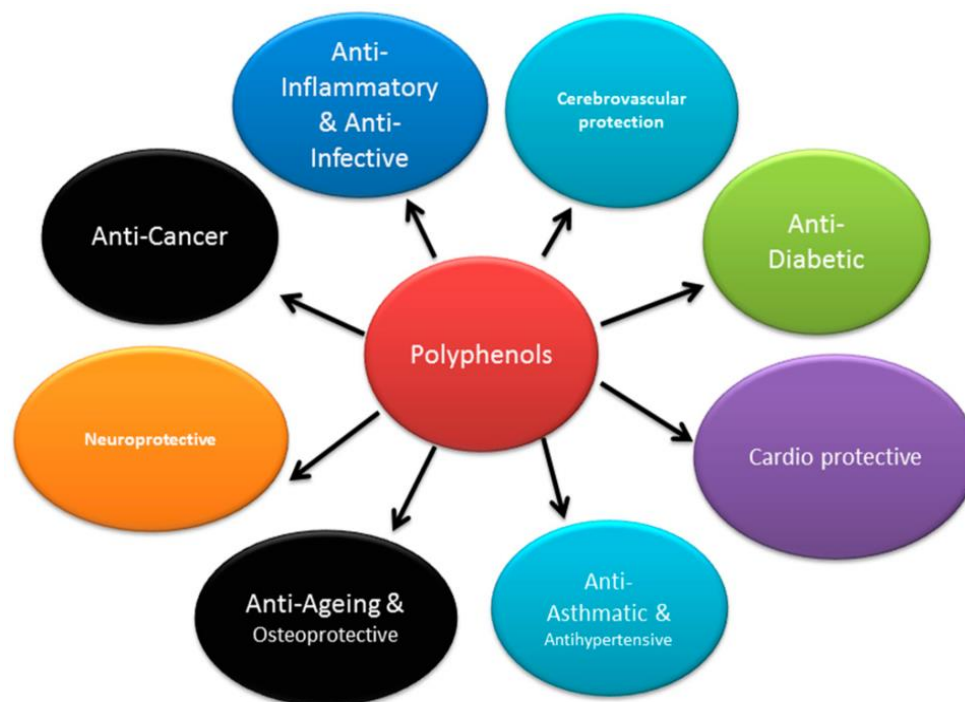


Figure 20 : Rôle des polyphénols chez l'homme (Kumar, 2017).

II.2.2.1. Mécanismes d'action des anti-inflammatoires naturels

Les mécanismes d'action anti-inflammatoire naturels mis en jeu sont difficiles à établir avec précision car l'activité de ces plantes repose, non pas sur un seul principe actif, mais sur l'effet synergique de divers composés. Ainsi, l'effet est variable avec différents extraits d'une même plante selon leur composition tributaire du type d'extraction et du solvant utilisé.

Les principaux modes d'action mis en évidence sont : une inhibition de la synthèse des prostaglandines par la voie de la cyclooxygénase et/ou de la lipoxycgénase ainsi qu'une inhibition de la synthèse des cytokines.

Plusieurs autres mécanismes d'action anti-inflammatoire des polyphénols ont été mis en évidence dans le but de bloquer le processus inflammatoire, parmi eux on peut citer un exemple :

En présence d'un apport alimentaire croissant, des oxydations se produisent. Par exemple, le glucose peut être oxydé par des espèces réactives, devenant un produit toxique carbonyle. Ceci, à son tour, peut attaquer le groupe amino des acides aminés, formant des produits terminaux de glycation PTG ce qu'on appelle en anglais AGE (Advanced Glycation end products), qui sont très réactifs, hautement dangereux pour l'organisme, et peuvent déclencher la libération de

cytokines, entraînant une inflammation principalement dans les dans les tissus exposant les récepteurs des produits terminaux de glycation RAGE, comme dans les reins, et les vaisseaux sanguins.

Le mécanisme mis en œuvre par les polyphénols consiste au blocage de la formation de ces produits réactifs, ou encore empêchent la formation du complexe AGES / RAGE qui pourrait déclencher des inflammations affectant ces tissus, diminuant ainsi le processus inflammatoire, comme c'est illustré dans la figure 21 (**Harcourt, BE et al., 2011**) ; (**Rodino-Janeiro et al., 2011**)

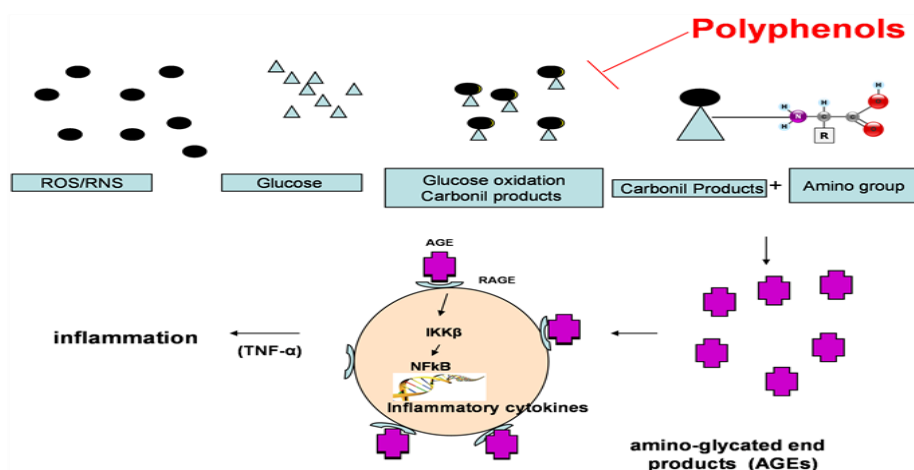


Figure 21: inhibition du processus inflammatoire par les polyphénols (Rodino-Janeiro et al., 2011)

Depuis l'antiquité, l'Homme a utilisé des plantes pour traiter les maladies inflammatoire parmi celles-ci nous pouvons citer les plus utilisées dans le tableau suivant:

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Nom commun	Utilisation
Arbutus unedo	Ericaceae	Feuilles Fruit Ecorce Racines	Arbousier	Traitement de l'hypertension, des infections notamment les infections urinaire, des inflammations, rhumatisme, les maux de gorge et des diarrhées
Zingiber officinale	Zingerberaceae	Rhizome	Gingembre	Arthrose, migraine, des douleurs

				rhumatismales
Urticadioica	Urticaceae	Feuilles, racines	Ortie	Rhinite allergique, Eczéma, goutte, douleurs goutte.
Laurocerasus officinalis R	Rosaceae	Feuilles	Laurier	Fièvre, pharyngite, douleurs d'estomac, hémorroïdes
Curcuma longa	Zingiberaceae	Rhizome	Curcuma	Douleurs Rhumatismales, infections rénales

**Tableau III: Quelques exemples des plantes douées d'activités anti inflammatoire
(Barnes, 1998)**

II.III. Activité antimicrobienne

III.1. Les infections microbiennes

Les agents pathogènes chez l'homme sont nombreux (virus, bactéries, champignons, parasite). Ils peuvent être responsables de maladies graves qui peuvent toucher plusieurs parties de l'organisme.

De nombreuses infections sont provoquées par des espèces bactériennes qui sont pourtant commensales, présentes chez la plupart des personnes sans causer de maladie. Souvent, ces bactéries deviennent pathogènes lorsqu'elles se trouvent à un endroit du corps où elles ne devraient pas être présentes ou en nombre anormalement élevé lors d'une baisse des défenses immunitaires ou encore lorsqu'il s'agit d'une souche bactérienne qui rend systématiquement malade (comme les souches entérohémorragiques d'*Escherichia coli*). Les bactéries responsables des infections les plus communes sont *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, On peut encore citer *Citrobacter freundii* et *Pseudomonas aeruginosa*, deux bactéries qui provoquent principalement des infections dans les établissements de santé. D'autres bactéries sont à l'origine de toxico-infection, les salmonelles sont les plus fréquemment mis en cause dans les TIA, les salmonelloses peuvent entraîner des bactériémies et septicémies qui font la gravité de la maladie.

III.2. Les principales substances antimicrobiennes

III.2.1. Les antibiotiques

L'élimination des microorganismes pathogènes fait appel à des substances dites : Antibiotiques. Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais y sont associés généralement les dérivés semi-synthétiques et synthétiques. Le traitement des infections bactériennes se base principalement sur l'usage de ces molécules qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques, mais cela ne veut pas dire que les antibiotiques n'ont pas d'effets secondaires (**Bergogne et Dellamonica, 1995**).

Ils ont la capacité soit de détruire les bactéries (effet bactéricide), ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) (**Elghozi et Duval., 1992**).

Il existe plusieurs classifications des antibiotiques, elles sont basées principalement sur le spectre d'action, la cible, ou la famille chimique.

Les principales familles chimiques des antibiotiques sont: Bêtalactamine (pénicilline, céphalosporines) ; les glycopeptides (vancomycine) ; les Aminoside (streptomycine, gentamicine); les Macrolides (télithromycines) ; Quinolones (acides nalidixique) (**Cohen et Jacquot., 2001**).

III.2.2. La résistance des bactéries aux antibiotiques :

Pour échapper à l'action létale des antibiotiques, les bactéries ont développé de très nombreux mécanismes biochimiques de résistance aux antibiotiques qui constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale et la sécurité alimentaire. La résistance aux antibiotiques est un phénomène naturel, mais le mauvais usage de ces médicaments chez l'homme et l'animal accélère le processus par sélection des populations microbiennes résistantes (**Fajardo et al., 2009**).

III.2.3. La multirésistance

Des bactéries peuvent être résistantes à plusieurs antibiotiques on parle alors de bactéries multirésistantes (BMR), une grave menace qui n'est plus une prévision, mais bien une réalité dans chaque région du monde. En Europe, le Centre européen de contrôle des maladies (ECDC) évalue à 25 000 le nombre de décès par an résultants de la multiresistance. Une surmortalité équivalente est observée aux Etats Unis par le CDC d'Atlanta. Ajoutant que,

si rien n'est fait, le monde s'achemine vers une ère postantibiotiques, où des infections courantes et des blessures mineures qui ont été soignées depuis des décennies pourraient à nouveau tuer, ainsi l'augmentation de cette résistance sera responsable d'une augmentation dramatique de ces chiffres. Ce problème est considéré comme une urgence pour OMS qui a publié le 27 février 2017 une liste de bactéries contre lesquelles il est urgent d'avoir de nouveaux antibiotiques parmi lesquelles on trouve les salmonelles, des tests ont été réalisés pour des patients atteints d'une salmonellose, 3 souches sur 10 étaient résistantes en 2015. Le bilan est particulièrement inquiétant pour une souche courante chez l'homme *Salmonella typhimurium*, 81 % des échantillons sont antibio-résistants (**World Health Organization, 2015**) Ainsi il a été rapporté que l'utilité des carbapénèmes, considérés comme des agents de dernière ligne, est diminuée par l'incidence croissante de divers mécanismes de résistance chez les bactéries à Gram négatif. Une étude moléculaire a démontré une apparition de la résistance de *Citrobacter freundii* aux carbapénèmes isolée chez un patient hématologique atteint de leucémie (**Majewski et al., 2017**). Considérant la résistance microbienne un problème mondial croissant, il est obligatoire de découvrir de nouveaux agents antimicrobiens puissants comme accessoires de la thérapie antibiotique, l'effet synergique des molécules bioactives (polyphénols) en combinaison avec des agents antimicrobiens conventionnels contre les micro-organismes multirésistants est discuté.

III.3. Activité antimicrobienne des extraits des plantes

La résistance naturelle et acquise ont conduit 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) (**García-Ruiz et al., 2008 ; Kempf et Zeitouni., 2009**).

Beaucoup de groupes de recherches ont étudiés l'activité antimicrobienne de certains extraits de plantes médicinales et ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus (**Jürgen et al., 2009**).

D'autres groupes de chercheurs sont arrivés à identifier et isoler les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs applications incluant l'industrie pharmaceutique, cosmétique et alimentaire (**Huang et al., 2008**).

III.3.1. Les polyphénols

Les polyphénols sont doués d'activité antibactériennes importantes et diverses, probablement dû à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles

sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité (**Cowan, 1999**). Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés, plus ils sont inhibiteurs des microorganismes (**Scalbert, 1991**). Les flavonoïdes et les tanins ont reçu plus d'attention du à leur large spectre et forte activité antimicrobienne par rapport aux autres polyphénols. Ces composés jouent un rôle inhibiteur, ils n'agissent pas sur la paroi bactérienne mais plutôt sur des cibles internes et externes. Ces composés sont supposés agir sur l'ADN, l'ARN et la synthèse protéique mais aussi sont capable de réagir avec la paroi et la membrane cytoplasmique (**Ulanowska et al., 2008**). Ils possèdent la capacité de supprimer certains facteurs de virulence microbiens comme la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu'à leur capacité d'établir une synergie avec certains antibiotiques (**Daglia, 2011**).

Les produits naturels alors représentent toujours une source extrêmement précieuse pour le traitement des infections microbienne, certaines propriétés antimicrobiennes de quelques composés phénoliques sont représentées dans la figure ci- après :

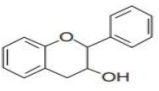
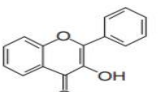
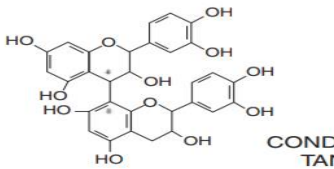
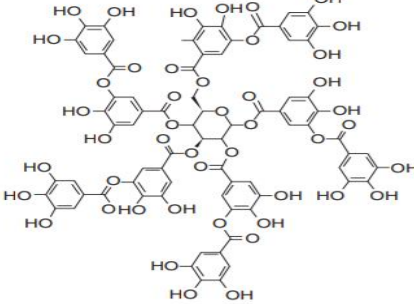
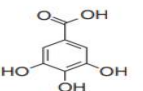
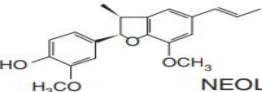
 FLAVAN-3-OL	ANTIBACTERIAL ANTIVIRAL ANTIFUNGAL	<i>V.cholerae</i> - <i>S.mutans</i> - <i>C.jejuni</i> <i>C.perfringes</i> - <i>E.coli</i> - <i>B.Cereus</i> <i>H.pylori</i> - <i>S.aureus</i> - <i>L.acidophilus</i> <i>A.naelsundii</i> - <i>P.oralis</i> - <i>P.gingivalis</i> <i>P.melaninogenica</i> - <i>F.nucleatum</i> - <i>C.pneumonia</i> Adenovirus – Enterovirus – Flu virus <i>Candida albicans</i> <i>Microsporium gypseum</i> <i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>Trichophyton rubrum</i>
 FLAVONOL		
 CONDENSED TANNIN	ANTIBACTERIAL ANTIVIRAL	<i>S.mutans</i> <i>E.coli</i> <i>S.aureus</i> influenza A virus type -1 herpes simplex virus (HSV)
 HYDROLYSABLE TANNIS	ANTIBACTERIAL ANTIVIRAL ANTIFUNGAL	Different strains of : <i>Salmonella</i> - <i>Staphylococcus</i> <i>Helicobacter</i> - <i>E.coli</i> - <i>Bacillus</i> <i>Clostridium</i> - <i>Campylobacter</i> <i>Lysteria</i> Epstein-Barr virus Herpes virus HSV -1 and HSV -2, <i>Candida parapsilosis</i>
 PHENOLIC ACID	ANTIBACTERIAL	<i>S.aureus</i> - <i>L.monocytogenes</i> <i>E.coli</i> - <i>P.aeruginosa</i>
 NEOLIGNAN	ANTIBACTERIAL	Different strains of : <i>Mycobacterium tuberculosis</i>

Figure 22 : sensibilité des microorganismes aux composés phénolique (Daglia, 2011)

III.3.2. Interaction des polyphénols avec la membrane bactérienne

De nombreux chercheurs ont rapporté qu'il existe une interaction entre polyphénols et les membranes bactériennes (**Matsumoto et al., 2012**), ces composés interagissent avec les protéines et / ou les phospholipides provenant de la bicouche lipidique.

Chez les bactéries Gram-positives et Gram-négatives, l'interaction avec les protéines membranaires provoque une perturbation de la bicouche lipidique, augmentant la perméabilité membranaire, affectant la fluidité membranaire, inhibant la respiration et altérant les processus de transport ionique (**Nazzaro et al., 2013**).

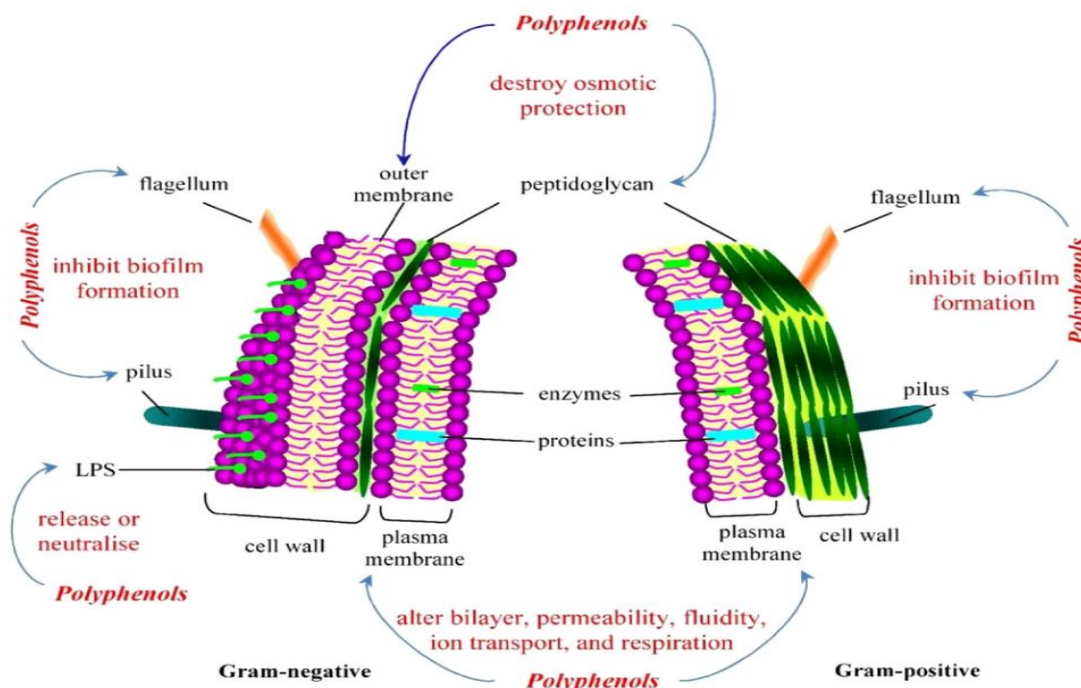


Figure 23 : Les interactions possibles des polyphénols avec les composants de la paroi cellulaire et la membrane cytoplasmique des bactéries à Gram positif et é Gram négatif (Nazzaro et al., 2013).

L'acide férulique et l'acide gallique sont connus pour affecter la membrane cellulaire des bactéries Gram positif et Gram négatif conduisant à un changement dans l'hydrophobicité et la charge de la surface cellulaire, provoquant ainsi une fuite de contenu cytoplasmique (Borges et al., 2013). Un effet similaire a été suggéré pour le l'acide caféique sue la membrane cytoplasmique de *condida albicans*.

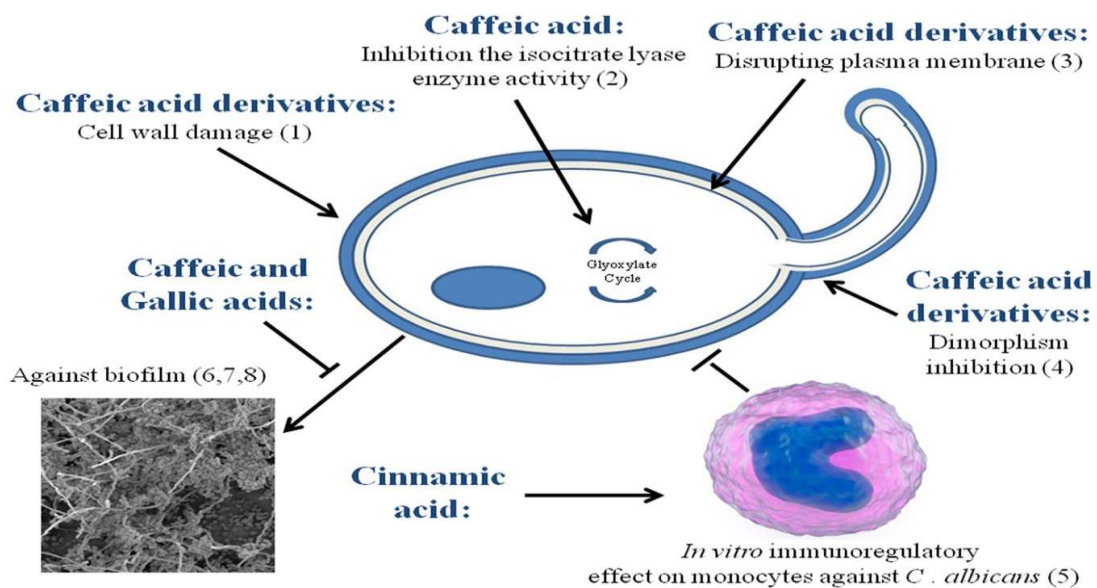


Figure 24: Mécanismes d'action de certains acides phénoliques contre Candida (Cheah et al., 2014)

Tableau IV: Différents mécanismes d'action des polyphénols (Nazzaro et al., 2013).

Classes	Sous classe	Mécanisme d'action
Phénols	Phénols simples	Séquestration des substrats nécessaire à la croissance microbienne. Les interactions entre les lipides et les protéines membranaires avec les composés phénoliques entraînant la déstabilisation de la membrane menant à la mort cellulaire
	Flavonoïdes	Inhibition des facteurs de virulence : liaison aux adhésines, complexe avec la paroi cellulaire Inactive les enzymes Perturbation de la membrane Inhibition de l'ADN, l'ARN ainsi la synthèse protéique

	Tannins	Inhibition des facteurs de virulence, liaison aux protéines, liaison aux adhésines. Inhibition des enzymes microbienne extracellulaire Perturbation de la membrane
	Les coumarines	Interaction avec l'ADN eucaryote (activité antivirale)

III.4. Description des espèces utilisées :

III.4.1. *Salmonella typhimurium*

III.4.1.1. Caractères généraux

Les salmonelles sont des bacilles de 0,7 à 1,5 µm de diamètre sur 2 à 5 µm de long. ces bactéries sont mobiles grâce à des flagelles péritriches, cependant des mutants immobiles existent tel que *S.gallinarum*. La constitution de leur paroi est typique de celle des bactéries Gram négatif. Elle est constituée d'un ensemble de couches de peptidoglycane et d'une membrane externe fixée à ces derniers par l'intermédiaire de lipoprotéines.

Les salmonelles appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae, elles sont classées dans le genre *Salmonella* ayant des déterminants morphologiques et biochimiques homogènes. Les salmonelles sont non sporulantes, non encapsulées et poussent facilement sur des milieux usuels aeroanaérobiose. Les colonies ont généralement un diamètre de 2 à 4 mm et *Salmonella* a une croissance optimale à 37°C, c'est un pathogène intracellulaire facultatif qui infecte l'hôte par voie orale (**Le Minor, L. 1984**).

III.4.1.2. Pathologie humaine.

Salmonella typhimurium affecte à la fois l'homme et les animaux, et provoque des gastro-entérites de sévérités variables et plus rarement des septicémies ou des infections localisées. Des complications apparaissent dans 26 % des cas et se manifestent différemment suivant les Individus : coagulation intravasculaire disséminée, atteinte du système nerveux central entraînant la mort, mais aussi des complications digestives (hémorragies intestinales et perforations), hépatiques, et urinaires. *S. Typhimurium* est l'un des sérovars le plus souvent retrouvé dans les cas de diarrhée chez l'humain. Tous les sérovars sont potentiellement pathogènes pour l'homme. (**Baggesen, Aarestrup, 2000**).

III.4.2. *Citobacter freundii* :

III.4.2.1. Caractères généraux :

Les bactéries du genre *Citrobacter* font partie de la famille des Enterobacteriaceae, il s'agit de bacilles ou de coccobacilles Gram négatif et facultativement anaérobiques de 0,3 à 1 µm de diamètre et de 0,6 à 6 µm de long, dont la mobilité est assurée par des flagelles péritriches. Les bactéries du genre *Citrobacter* fermentent le mannitol et produisent du H₂S gazeux ; elles sont aussi capables d'utiliser le citrate de sodium comme unique source de carbone. Le genre peut être divisé en 43 sérogroupes O selon l'antigène O du lipopolysaccharide (LPS) et en 20 groupes selon la composition en sucres du LPS (Abbott, 2007).

III.4.2.2. Pathologie humaine :

Citrobacter freundii est un agent pathogène nosocomial opportuniste (Ryan, 2004), qui entraînent des infections des voies urinaires, des bactériémies, des sepsis abdominaux et des abcès cérébraux ainsi que des pneumonies et d'autres infections néonatales comme la méningite avec des taux de mortalité allant de 25 à 50% (Julie, 1985), le sepsis néonatal et l'infection articulaire. Les infections du système nerveux central (SNC) sont plus courantes chez les nourrissons de moins de 2 mois que chez les enfants plus âgés et les adultes immunodéprimés, ces dernières peuvent évoluer vers l'abcès cérébral entraînant la mort (Holmes & Aucken, 1998). Les nourrissons ayant réussi à combattre l'infection pourront présenter des séquelles neurologiques importantes touchant le SNC, un retard mental profond, une hémiparésie et des convulsions sont possibles. Les maladies hépatiques, biliaires et pancréatiques sont également des maladies courantes causées par *C. freundii*. Le tractus biliaire est le site d'infection le plus fréquent des bacilles de *C. freundii* (Sánchez, 1985).

III.4.3 *Bacillus cereus*

III.4.3.1 Caractères généraux :

Bacillus cereus est un groupe d'espèces très proches qui sont caractérisées par des bacilles à Gram-positif, aérobies ou anaérobies facultatifs, et sporulants. Les espèces du groupe *Bacillus cereus* sont caractérisées par une température optimale de croissance de 30-37°C mais elles sont capables de croître de 4°C à 50°C selon les espèces (55°C pour certaines souches). Ces caractéristiques les rendent particulièrement résistantes à la chaleur, le froid, la déshydratation, l'action des désinfectants et des substances bactéricides.

La croissance de *Bacillus cereus* est inhibée dans les aliments à activité de l'eau (a_w) inférieure à 0,92 ou à pH inférieur à 4,5.

Les espèces du groupe *Bacillus cereus* sont ubiquitaires, largement répandues dans l'environnement et particulièrement dans le sol. Celui-ci pouvant être contaminé à hauteur de 103 à 105 spores de *B.cereus* par gramme. Par conséquent, on retrouve ses spores de dans une grande variété d'aliments crus et d'ingrédients parmi lesquels le lait, les légumes, les céréales et la farine, les épices et les herbes, les œufs...etc

La contamination des aliments peut aussi se produire pendant leur transformation du fait de la persistance des spores sur les surfaces (équipements) et leurs propriétés de forte adhérence (biofilms). (Sabrina et al., 2012) ; (Guinebertière et al., 2013)

III.4.3.2. Pathologie humaine :

Les souches du groupe *Bacillus cereus* peuvent être à l'origine de maladies humaines. Les produits alimentaires contaminés par cette souche et plus précisément par leurs toxines, ont été incriminés dans des toxi-infections alimentaires.

Les *B.cereus* peuvent provoquer 2 types d'intoxications alimentaires avec des symptômes différents :

- Des symptômes émétiques : nausées, vomissements et douleurs abdominales dus à l'ingestion d'une toxine peptidique thermorésistante appelée céréulide, produite par *B.cereus* présente dans les aliments.
- Des symptômes diarrhéiques: diarrhée aqueuse, douleurs abdominales, nausées, dues à l'ingestion de cellules ou de spores de *B.cereus*. qui produisent dans le tractus intestinal des entérotoxines thermolabiles pendant leur croissance végétative. Les symptômes apparaissent de 6 à 15 heures après l'ingestion de l'aliment contaminé. Trois entérotoxines à l'origine de symptômes diarrhéiques et produites par *B.cereus* ont été décrites: Hémolysine HBL, entérotoxine Non hémolytiqueNhe et Cytotoxine CytK. (Sabrina et al., 2012).

PARTIE EXPERIMENTALE
Chapitre I : Matériels et méthodes

I- Matériel et méthode

La partie expérimentale de notre étude a été réalisée au sein du laboratoire (LABAB) du département de biologie, faculté des sciences biologiques et agronomiques de l'université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. L'objectif visé dans notre travail expérimental est de mettre en évidence l'effet de la température sur l'activité antioxydant, anti-inflammatoire et antibactérienne de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* L.

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel végétal :

Les feuilles d'*Arbutus unedo* ont été récoltées au mois de mars 2018 dans la région de Beni Dewala, commune d'Ait mesbah. Après leur tri, leur lavage à l'eau distillée et leur séchage à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant environ une semaine, celle-ci, sont broyées en une poudre fine.

I.2. Méthodes :

I.2.1. Préparation de l'extrait aqueux

20 g de feuilles en poudre sont macérés sous agitation à 100 rpm à température ambiante dans 200 ml d'eau distillée pendant 24 h. Le macérât est filtré une première fois sur une passoire afin d'éliminer le maximum de matière végétale puis une deuxième fois sur coton jusqu'à obtenir un liquide limpide et homogène. Le filtrat obtenu est congelé pendant 24h à -80°C en fines couches à raison de 20 ml par plateau de 15 cm de diamètre, puis disposé dans un lyophilisateur christ alpha1-2. Une fois le lyophilisat collecté, celui-ci est repartit dans des flacons en verre teinté, hermétiquement scellés et conservés au réfrigérateur à 4°C.

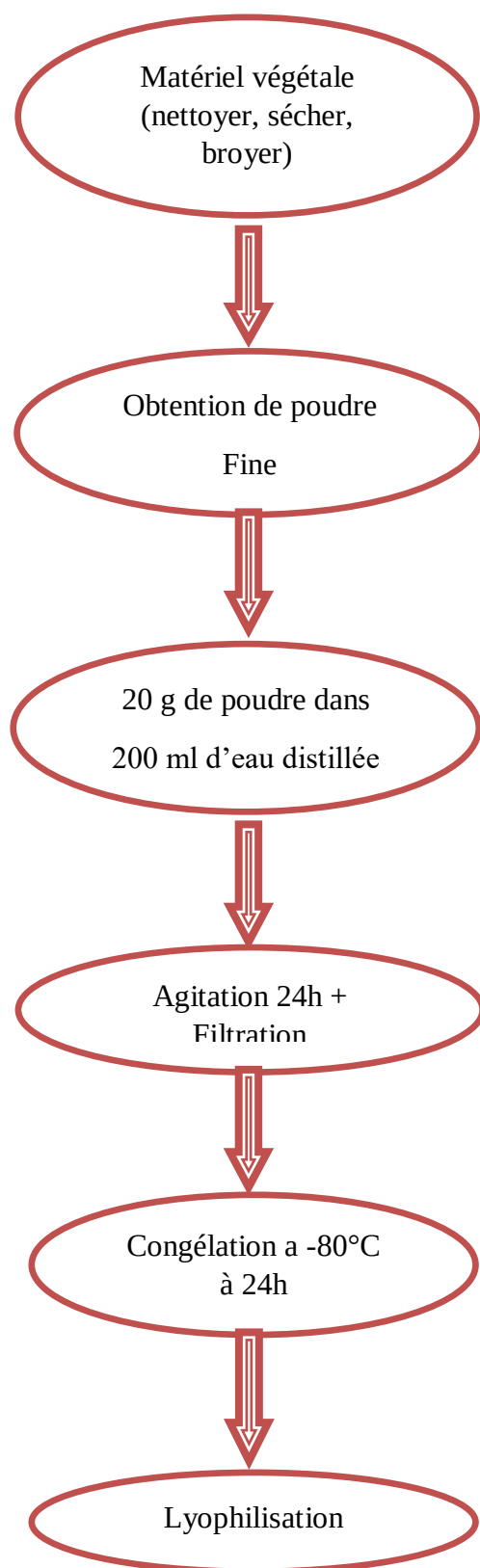


Figure 25 : Schéma récapitulatif de l'extraction aqueuse

I.2.3. Détermination de la teneur en polyphénols totaux (PPT)

La teneur en polyphénols totaux de nos extraits est déterminée par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif au Folin-Ciocalteu mise au point par **SINGLETON et ROSSI en 1965**. Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, qui est réduit lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène.

Comme nous nous sommes intéressés dans cette étude à l'impact du traitement thermique sur l'activité antioxydant, anti-inflammatoire et antibactérienne de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo*, nous avons jugés intéressant de vérifier l'impact sur le taux de polyphénols totaux. Pour cela, trois volumes d'extrait de 10 ml à la concentration de 100µg/ml ont été respectivement traités à température ambiante, 100°C pendant 20 minutes et 100°C pendant 40 minutes. Après refroidissement à l'eau de robinet, nous prélevons de chaque tube un volume de 200 µl qui sont mélangés à 1 ml du réactif Folin-Ciocalteu (dilué au dixième) et 800 µl d'une solution de carbonate de sodium à 75mg / ml. Le mélange est incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 45 minutes. L'absorbance est mesurée à 760 nm et les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g) en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique réalisée aux concentrations allant de 10 à 100 µg/ml.



Figure 26 : Test du dosage des polyphénols

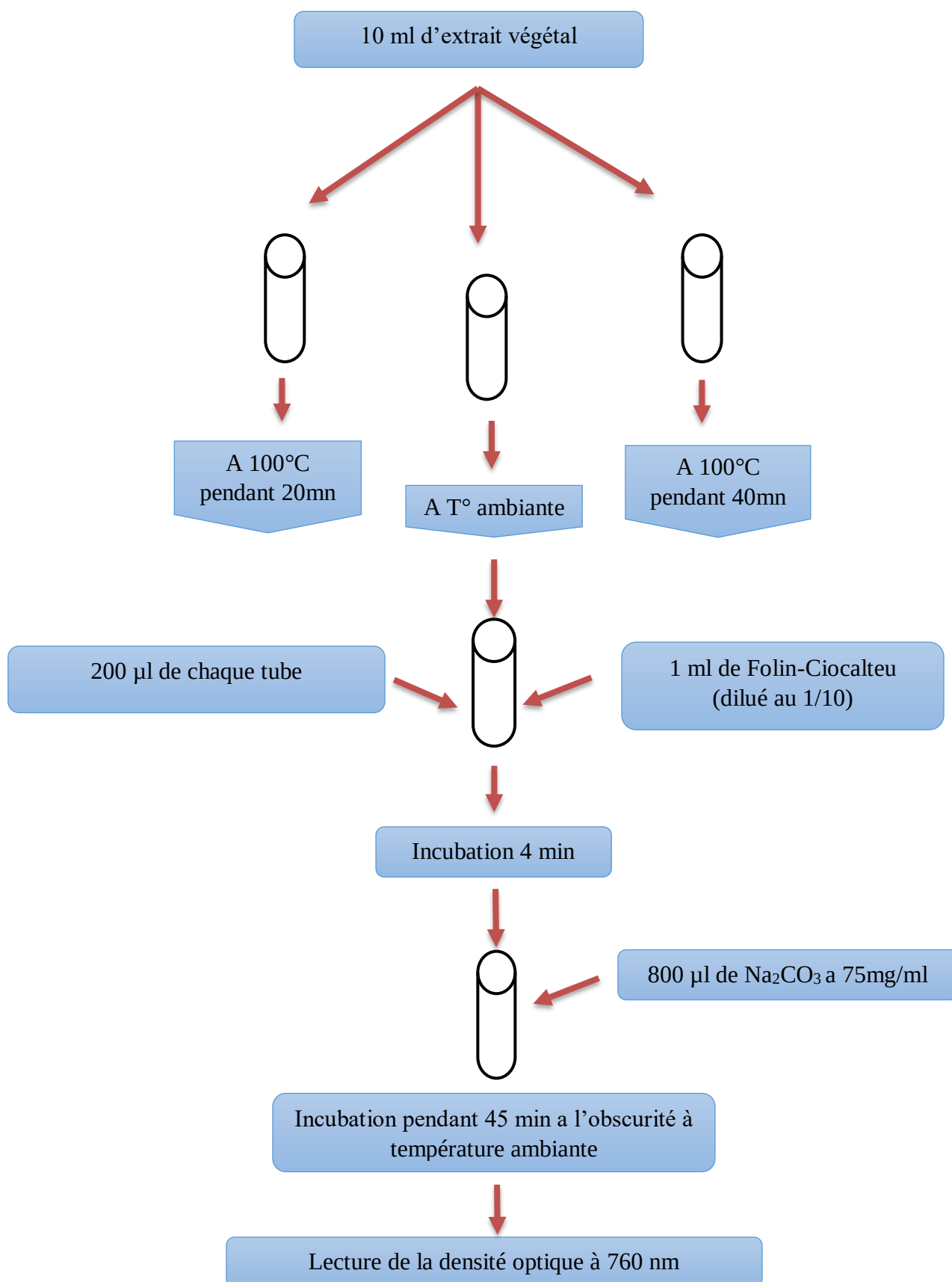


Figure 27: Schéma récapitulatif de Protocole de dosage des polyphénols.

I.2.4. Réduction du fer:

La détermination du pouvoir réducteur de l'extrait a été réalisée selon la méthode décrite par CHEW et *al* (2009). Ce test est basé sur la réduction des ions ferriques (Fe^{+3}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en ions ferreux (Fe^{+2}) en présence d'un antioxydant qui a le pouvoir de céder des électrons.

Pour cela, 400 μl de différentes concentrations de l'extrait aqueux (10 à 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$) sont ajoutés à 400 μl de tampon phosphate (0.2M, PH 6.6) et 400 μl de ferricyanure de potassium à 1%. Le milieu réactionnel est agité puis incubé à 50°C pendant 20min. (figure 28)

Après incubation, 400 μl d'acide trichloracétique (TCA) à 10% est ajoutés puis le tube est centrifugé pendant 10 minutes à 3000 t/mn. 400 μl du surnageant des différentes dilutions sont prélevés, additionnés de 400 μl d'eau distillée et de 80 μl de chlorure ferrique à 0.1%. La lecture de l'absorbance se fait à 700nm avec un spectrophotomètre. L'augmentation de l'absorbance est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits testés.

Dans ce test, l'acide ascorbique est utilisé comme référent. La détermination du pouvoir réducteur de ce dernier est réalisée dans les mêmes conditions opératoires ainsi que dans la même gamme de concentration que nos extraits. Ensuite une courbe d'étalonnage est établie.



Figure 28 : Test du pouvoir réducteur (originale)

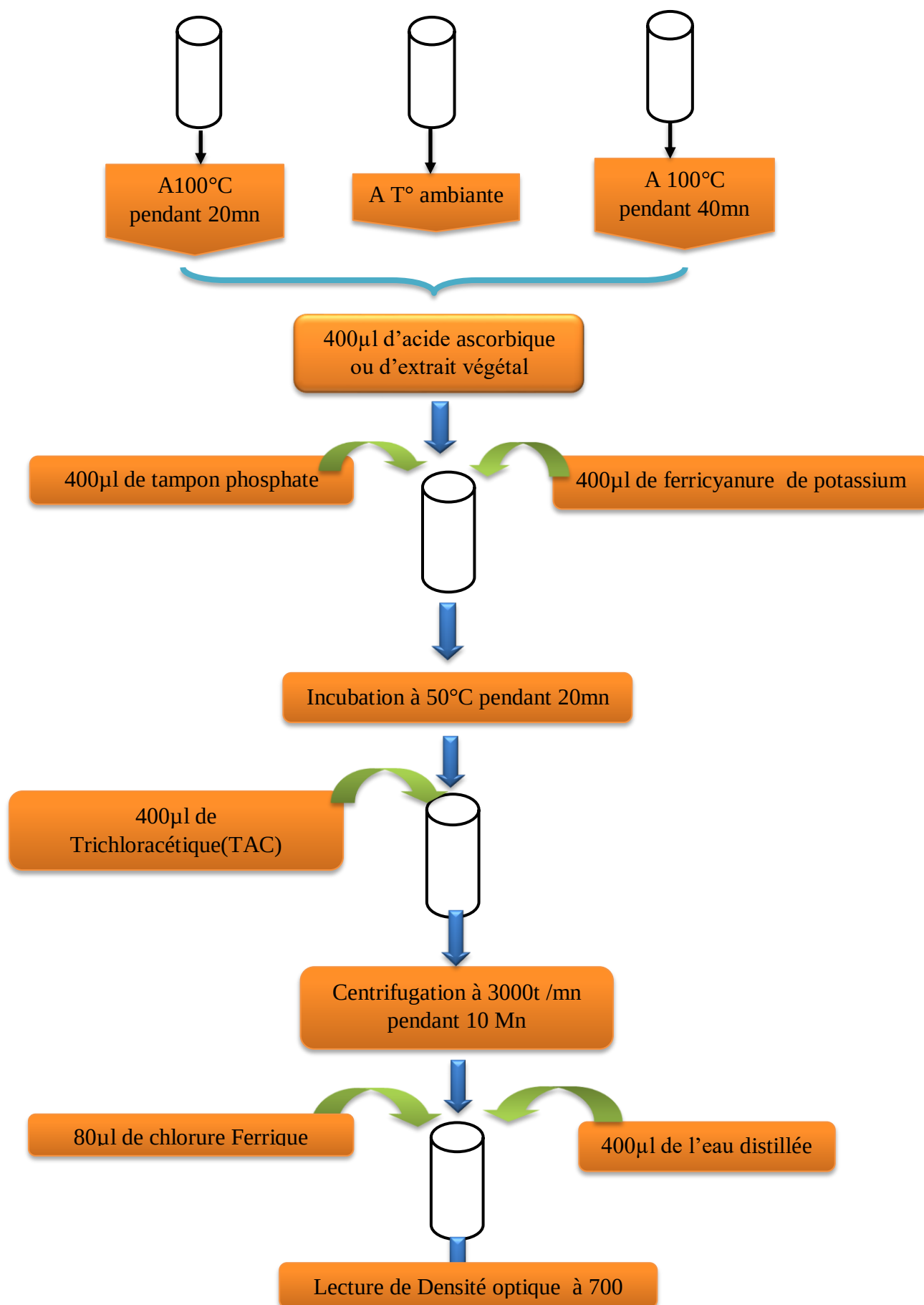


Figure 29 : Schéma récapitulatif du test de détermination du pouvoir réducteur (FRAP)

I.2.5. Activité anti-inflammatoire

L'appréciation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait végétal a été réalisée par l'application du protocole d'inhibition de la dénaturation thermique de l'ovalbumine décrit par KARTHIK K. *et al* (2013).

Pour cela, 1ml de l'extrait aqueux, (50 à 500µg/ml) est ajouté à 1ml d'ovalbumine à 0.2% (PBS 0.1M NaCl 0.9% pH 7.4). Le mélange est ensuite incubé à 72°C pendant 5min puis l'absorbance du milieu est mesurée à 660nm.

Les résultats obtenus sont présentés sous forme de pourcentage de protection. Dans ce test, l'aspirine est utilisée comme référent. La détermination de l'activité anti-inflammatoire de ce dernier est réalisée dans les mêmes conditions opératoires ainsi que dans la même gamme de concentration que nos extraits.

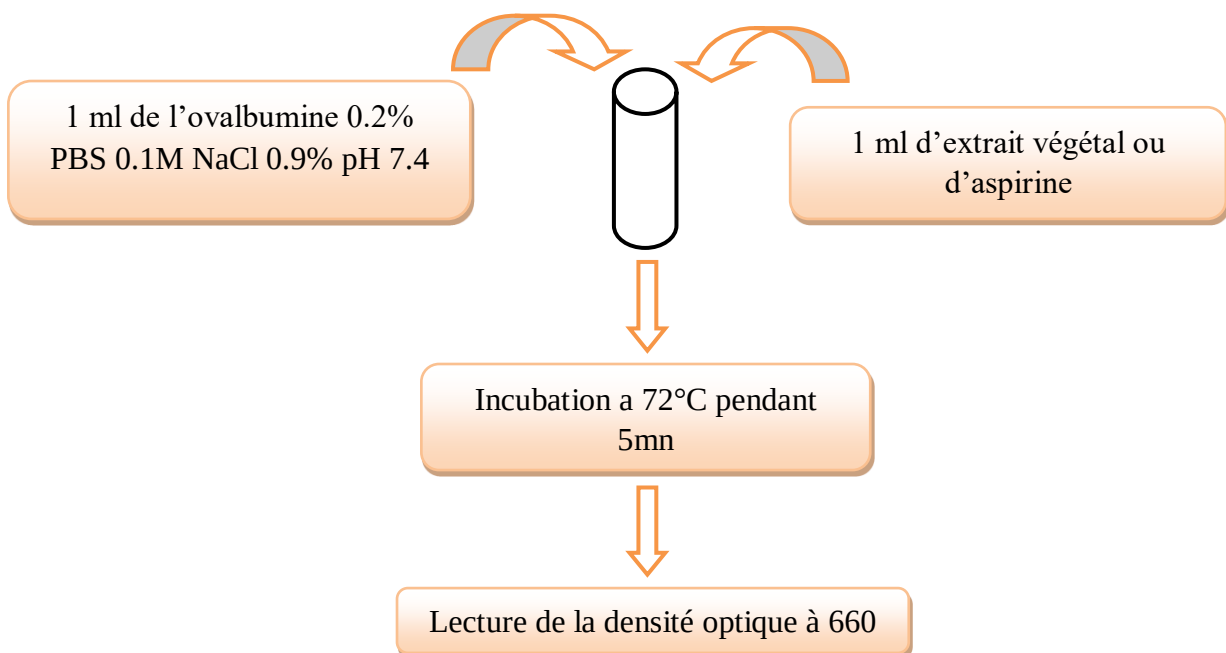


Figure 30 : Schéma récapitulatif de l'activité anti-inflammatoire

I.2.6. Activité antibactérienne :

2.6.1 Souches bactériennes

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles d'*Arbutus unedo* est évaluée sur les souches suivantes : *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 et *Citrobacter freundii* ATCC 8090.

Les souches bactériennes sont préalablement revivifiées en milieu BHIB (24h à 37°C), isolées en colonies par la méthode des stries sur milieu Mueller Hinton, puis réincubées à 37°C pendant 24 h sur le même milieu.

Une ou plusieurs colonies sont prélevées pour réaliser une suspension standardisée dans l'eau physiologique (10^6 - 10^8 UFC/ml, à 620 nm, Do= 0,08 à 0,1).

De nouvelles boîtes sontensemencées à partir de cet inoculum par écouvillonnage, des disques de papier Whatman n°1 de 6 mm de diamètre, stériles, sont déposés à la surface du milieu Mueller Hinton puis chargés de 15 µl des extraits aqueux à la concentration de 600mg/ml.

Les disques des contrôles négatifs (imprégnés d'eau distillée) et des contrôles positifs (antibiotique de référence Novobiocine 10µg/disque) sont placés à la surface de ces boîtes puis le tout est pré incubé 30 minutes sur paillasse à température ambiante puis incubé à 37°C pendant 24h.

Les résultats correspondants aux diamètres des zones d'inhibition produites autour des disques sont exprimés en millimètre.

2.6.2 Détermination des concentrations minimales inhibitrices

La détermination des concentrations minimales inhibitrices est réalisée sur milieu solide (Mueller Hinton) (DZOMBA et MUCHANYEREYI, 2012), pour les souches bactériennes ayant exprimé une susceptibilité vis-à-vis de l'extrait.

Une série de dilutions de l'extrait est réalisée dans de l'eau distillée stérile. Parallèlement, l'inoculum bactérien est réalisé dans de l'eau physiologique stérile (10^6 - 10^8 UFC/ml, à 620 nm, Do= 0,08 à 0,1).

Une série de disques imbibés par différentes concentrations d'extrait (15µl/disque), sont disposés à la surface des boîtes de pétri préalablementensemencées par l'inoculum bactérien, laissés 15 minutes sur la paillasse pour une prédiffusion de l'extrait, puis incubé 24 heures à 37°C.

La concentration minimale inhibitrice correspond à la plus petite concentration d'extrait qui inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne après incubation.

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre II : Résultats et discussion

II-Résultats et discussion :

II.1. Teneur des polyphénols totaux :

La détermination de la teneur en polyphénols totaux de différentes fractions de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* a été réalisée selon la méthode décrite par **SINGLETON et ROSSI en 1965** utilisant le réactif au Folin-Ciocalteu. La coloration bleue obtenue est proportionnelle à la quantité de PPT (polyphénols totaux) présents dans les différentes fractions de l'extrait végétal. Celle-ci est appréciée par la lecture de la densité optique à la longueur d'onde de 760nm.

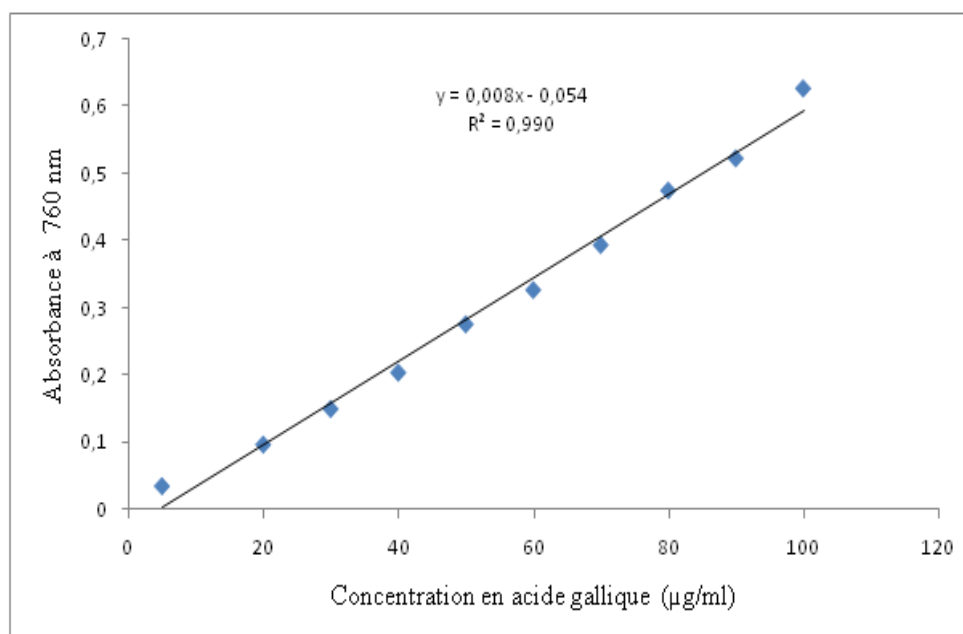


Figure 31 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

La teneur de polyphénols des extraits aqueux d'*Arbutus unedo* est calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage (figure31), celle-ci est exprimée équivalant milligramme acide gallique par gramme de la matière sèche.

Les teneurs en polyphénols totaux des différentes fractions étudiées de l'extrait aqueux d'*Arbutus unedo* sont rapportées dans le tableau suivant :

Tableau V : Teneur des polyphénols totaux des extraits aqueux d'*Arbutus unedo*

Extrait	Teneur en PPT (mgEAG/gMS)
à T° ambiante	17,54±0,19
à 100°C pendant 20mn	18.34±0,69
à 100°C pendant 40mn	17,94±0,34

Cette différence de teneur en PPT entre les différents extraits est liée au traitement thermique appliqué cela est confirmée par le test d'ANOVA révélant une différence significative

En comparant la teneur en polyphénols des différentes fractions étudiées, nous remarquons que comparativement à la fraction de référence n'ayant subi aucun traitement (17,54±0,19mgEAG/g MS), la fraction traitée à 100°C pendant 20 minutes enregistre une augmentation de l'ordre de (0.8±0.5). Néanmoins l'augmentation du temps de traitement à 40 minutes induit une diminution de cette teneur à hauteur de 17.94±0.3.

Du fait de l'absence de travaux sur l'effet du traitement thermique sur l'extrait aqueux des feuilles d'*Arbutus unedo*, nous n'avons malheureusement pas pu comparer nos résultats. Néanmoins, il existe quelques travaux sur l'extrait aqueux de feuilles de la même plante.

Ainsi comparativement au taux de PPT rapporté par **NACEIRI et al., (2016)** à 300000µg/ml (37,30 ± 0.19 mgEAG /gMS) la teneur en polyphénols enregistrée dans cette étude à 200µg/ml (17,54±0,19mgEAG/gMS) est relativement inférieure. Par contre celle-ci reste relativement supérieure à celle rapportée dans les travaux de **MENDES et al en (2011)** (16,7mgEAG/gMS).

La légère augmentation du taux de polyphénols après le traitement thermique peut être attribuée au fait que ce dernier induit de nouvelles molécules réductrices détectées par le réactif de Folin, non spécifique aux polyphénols.

II.2. Réduction du fer :

Les résultats obtenus illustrés en (figure 32) montrent que le pouvoir réducteur présente une augmentation proportionnelle à la concentration de l'extrait pour toutes les fractions. En comparant les résultats obtenus pour l'extrait à ceux de l'acide ascorbique, nous remarquons que ce dernier présente un pouvoir réducteur plus important. Ces résultats restent en accord avec ceux rapportés en 2016 par **MOUALEK et al.**

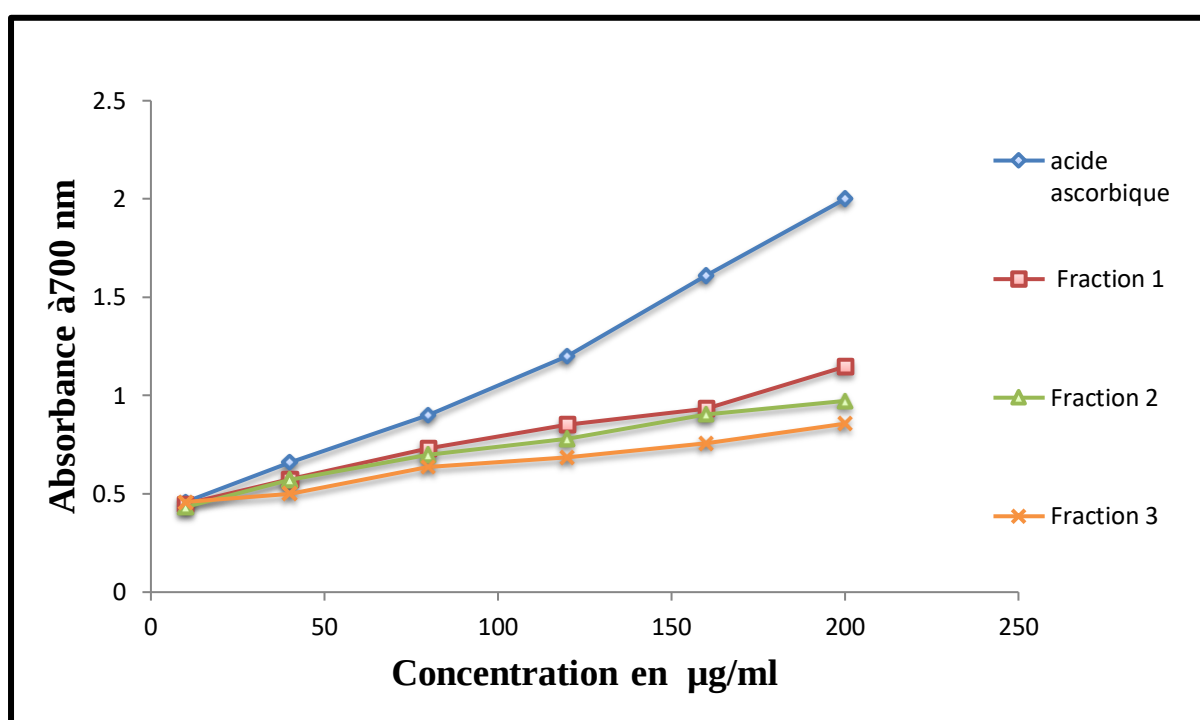


Figure 32 : L'activité antioxydante de fractions traitées comparativement à l'acide ascorbique

Fraction 1 : l'extrait à température ambiante.

Fraction 2 : Extrait chauffé à 100°C pendant 20 mn

Fraction 3 : Extrait chauffé à 100°C pendant 40 mn

Les résultats obtenus par l'analyse de la variance à trois facteurs montrent que l'activité anti oxydante varie selon la température, la durée de traitement et la concentration, ceci est montré par une P-value de 0 pour la température et la concentration ce qui signifie l'existence des différences très hautement significatives, une P-value de 0.04 pour la durée ce qui signifie l'existence des significatives.

L'extrait à température ambiante présente l'activité réductrice la plus proche (57.35%) de celle enregistrée pour la vitamine C (100%) Pour ce qui est des deux autres fractions étudiées à savoir, celle chauffés à 100°C pendant 20 mn et 40 mn, l'activité réductrice enregistre respectivement à la concentration 200µg/ml, une diminution de 10.5 % et de 13%.

Des résultats inférieur (19.5%) sont rapportés par **SHOIB et al. (2014)** sur les feuilles de *Gentiana kurroo royle*, avec une baisse de 37,85% par rapport à notre résultat qui de 57.35%.

Tableau VI : IC₅₀ enregistrées pour les trois échantillons et l'acide ascorbique.

Extraits	IC ₅₀ (mg/ml)
Acide ascorbique	0,085 ± 0,001
Ext à T° ambiante	9,41 ± 0,90
Ext à 100°C pendant 20 mn	12,012± 0,38
Ext à 100°C pendant 40 mn	10,49± 0,31

L'activité antioxydante de nos extraits, peut être expliquée par la composition de ces extraits riches en substances réductrices comme les polyphénols ainsi que par les possibles interactions entre ces biomolécules. Parmi les composés phénoliques nous pouvons citer les flavonoïdes, réputés être de puissants donneurs d'électrons et de protons (**HEIM et al ., 2002. SHAIDI et NACZK ,2004**).

Les résultats obtenus révèlent une absence de corrélation entre la teneur en polyphénols et l'activité réductrice, au fait cette dernière est déterminée par le type des polyphénols mais pas par leurs teneur.

L'augmentation de PPT observée pour les extraits traités n'a aucun effet sur leur pouvoir réducteur. Cela est expliqué par le fait que ce n'est pas nécessairement la forte teneur en polyphénols qui exhibe une activité antioxydant puissante (MOURE *et al.*, 2001).

L'absence de cette corrélation pourrait être expliquée soit par la synergie entre les composés phénoliques, ou bien l'apparition de nouvelles molécules biologique sans propriété anti oxydantes ainsi il faut noter que l'activité antioxydante dépend non seulement de la concentration en polyphénols mais aussi de la structure de ces molécules (Rice- Evens *et al.*, 1997)

II.3. Activité anti-inflammatoire :

La détermination de l'activité anti-inflammatoire des extraits végétaux a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines, décrite en 2013 par KARTHIK *et al.*

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire obtenus sont résumés dans la (figure 33) et le Tableau VII. Ils représentent la variation de l'activité anti-inflammatoire (exprimée en pourcentage de protection de l'ovalbumine), en fonction des concentrations de l'extrait aqueux des feuilles d'arbousier.

L'aspirine connue pour son pouvoir anti-inflammatoire est ici utilisée comme standard. Les pourcentages de protection enregistrés aux concentrations comprises entre 100 à 500 µg/ml passent de 51.40% à 74.10%.

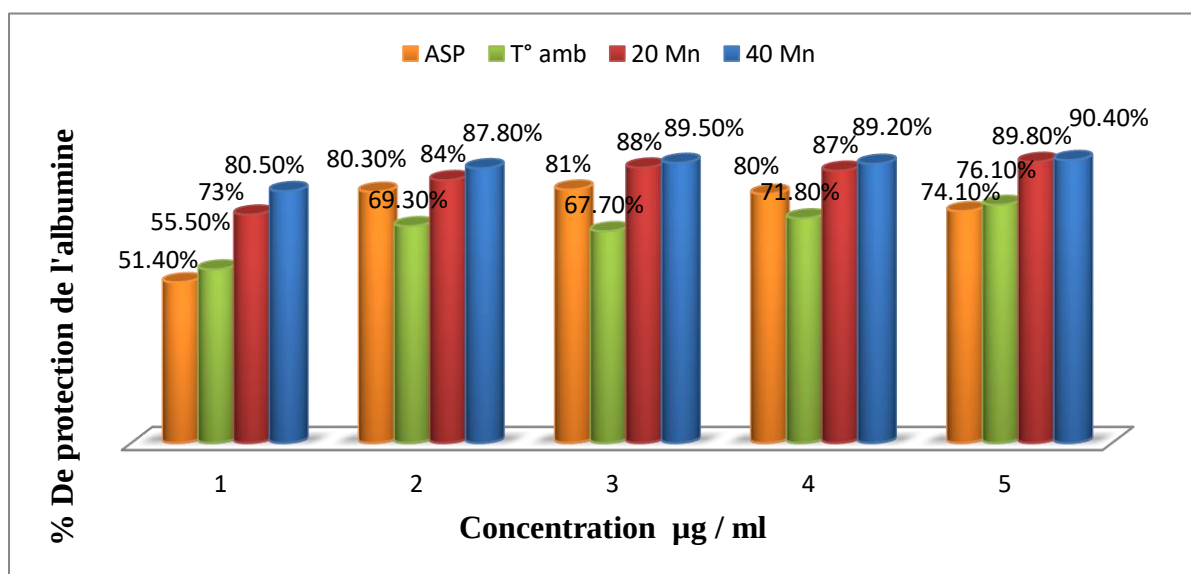


Figure 33 : le taux de la protection de la dénaturation de l'albumine en présence de l'aspirine et les trois extraits d'*Arbutus unedo*. ASP : T° ambiante, 20mn, 40 mn

Tableau VII : Les IC₅₀ enregistrées pour les trois échantillons et l'aspirine

<i>Extraits</i>	<i>IC₅₀ (mg/ml)</i>
Aspirine	0,544 ± 0,015
Extraits à T° ambiante	0,81 ± 0,003
Extraits à 100°C pendant 20 mn	0,537 ± 0
Extraits à 100°C pendant 40 mn	0,49 ± 0,001

Les résultats obtenus par l'analyse de la variance à deux facteurs montrent que l'activité anti inflammatoire varie selon la température, la durée et l'interaction des deux facteurs, ceci est montré par une P-value de $0.01 < 0,05$, un résultat hautement significatif de l'interaction des deux facteurs.

Cette partie de notre étude montre que toutes les fractions analysées présentent une activité anti inflammatoire appréciable à la concentration maximale utilisée (500µg/ml). Celle-ci passe de 76.1% pour l'extrait sans traitement à 89.8 et 90.4% de protection respectivement pour la fraction ayant subi un traitement thermique de 20 et 40 minutes. Comparativement au pourcentage de protection de 74.1% de protection enregistré pour l'aspirine à la même concentration l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* exprime une activité non seulement supérieure mais qui augmente avec l'augmentation du temps de traitement.

Ainsi l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux à température ambiante (55.5% à 76.1%), reste relativement supérieure comparativement à l'aspirine (51.42 à 71.1%). Ce résultat serait attribué à la présence d'un nombre important de molécules antioxydantes comme les polyphénols. Avec le traitement thermique le pourcentage de protection varie nettement (supérieur à l'aspirine) et se trouve augmenté avec le temps d'exposition de l'extrait (20 minutes : 73% à 89.80%, 40 minutes : 80.50% à 90.40%). Cette augmentation pourrait s'expliquer par l'apparition de nouvelles molécules antioxydantes suite à ce traitement thermique.

La capacité anti-inflammatoire totale des extraits de l'*Arbutus unedo* est légèrement supérieure à celle rapportée dans travaux réalisés par **MOUALEK et al en 2016** sur la même plante et à température ambiante (74.28% de protection).

En présence des extraits d'*Arbutus unedo* on a donc observé une augmentation très significative de la protection de la dénaturation des protéines ce résultats reflète la richesse de cette plante en composés phénolique notamment les flavonoïdes, les tanins et les coumarines.

De nombreux travaux indiquent que les acides phénoliques notamment les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires, ils sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique mais aussi une inhibition de la synthèse des prostaglandines par la voie de la cyclooxygénase et/ou de la lipoxygénase ainsi qu'une inhibition de la synthèse des cytokines.

Ajouté à cela, les tanins et les tri-terpènes ont des propriétés thérapeutiques similaires à celles des flavonoïdes et des composés phénoliques en générale. (**YUO et al., 2011**).

II.4. Activité antibactérienne :

Dans le but d'évaluer l'activité antibactérienne des différentes fractions de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo*, nous avons testé l'activité antibactérienne de ces différentes fractions sur trois souches bactériennes (2 souches Gram (-) et 1 souche Gram (+)).

La méthode utilisée est la méthode de diffusion sur gélose Muller Hinton, où nous avons utilisé comme témoin positif la novobiocine et comme témoin négatif l'eau physiologique. La sensibilité des souches testées se traduit par l'apparition de zones d'inhibition, proportionnelles au potentiel de la fraction mise en œuvre.

Les résultats obtenus (Tableau VIII) montrent que les fractions de l'extrait d'*Arbutus unedo* ont une activité non seulement sur les bactéries Gram positifs mais aussi sur les Gram négatifs. La lecture de ces résultats est faite par mesure de diamètre des zones d'inhibition autour de chaque disque imprégné par 15µl d'extraits utilisé.

Tableau VIII : Diamètres des zones d'inhibition en fonction des différents extraits

Ext : extrait. ATB : antibiotique. Amb : ambiante.

ATB et Extraits	Antibiotique	Ext à T° amb	Ext à 100°C Pendant 20mn	Ext à 100°C pendant 40mn
Souches				
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	24± 0,04	14,96± 0,04	15 ±0,00	12,96± 0,23
<i>Salmonella</i> <i>typhimurium</i> ATCC 13311	25± 0,00	15 ±0,00	14,96± 0,04	14,86 ±0,12
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	24,66 ±0,47	11 ±0,00	10,93± 0,09	10,9 ±0,08

Les résultats obtenus à la concentration 600 mg/ml indiquent que les trois fractions de l'extrait aqueux des feuilles d'*Arbutus unedo* exercent un effet antibactérien sur toutes les souches étudiées. Pour les trois fractions les diamètres d'inhibitions obtenus, varient de 11 à 15mm.

Le diamètre d'inhibition de 7 mm, 9.3 mm obtenues pour *salmonella typhimurium* ATCC 13311 par **BIJEN et al en 2008** utilisant l'extrait aqueux de feuilles de *Myrtus communis* et **MOUALEK et al en 2016** utilisant la même plante respectivement, notre extrait donne un résultat relativement supérieur avec un diamètre d'inhibition de 15 mm.

Pour *Bacillus cereus* ATCC10876 le diamètre qu'on a obtenu (15mm) est relativement important comparé aux résultats obtenus par **ALLALI et al en 2018** (9.5 mm) utilisant l'extrait aqueux des feuilles de *Tamarix gallica*. et celui de **MOUALEK et al en 2016** qui est de 13.8mm avec la même plante

En ce qui concerne *Citobacter freundii* ATCC 8090 les résultats obtenus **en 2014 par KUMARA et al** sur l'extrait aqueux des feuilles *Callistemon lanceolatus* (12 mm) restent relativement proches de nos résultats (11 mm). Tandis que pour la même souche et avec le

même extrait végétal en 2016, MOUALEK et al rapporte la résistance de cette souche à l'extrait étudié.

Plusieurs études affirment que l'activité antibactérienne est fortement corrélée aux teneurs et à la composition de l'extrait en composés phénoliques. (Cowan, 1999) a rapporté que les différentes classes de poly phénols essentiellement les tanins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits vis-à-vis des microorganismes. Cette toxicité est fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles présents sur le composé phénolique, un tel effet pourrait être lié aussi aux mono terpènes isolés des feuilles de l'*A. unedo* qui sont capables de déstructurer la membrane cellulaire (Dib et al., 2010).

L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif majoritaire, mais plutôt à l'action combinée (synergie) de différents composés (Essawi et Srour, 2000)

Le mécanisme d'effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées nous pouvons citer l'inhibition de la synthèse d'acide nucléique, l'altération des fonctions de la membrane cytoplasmique, la séquestration de substrats nécessaires à la croissance microbienne et l'inhibition du métabolisme énergétique microbien (Jungkind, 1995).

Les extraits traités à 100°C se sont avérés conserver la capacité d'inhiber la croissance de toutes les bactéries testées ce qui pourrait être expliqué par la résistance thermique des molécules bioactives responsables de l'activité antibactérienne.

Néanmoins BOLOU et al., 2011 dans leurs études sur l'influence de la température sur l'activité antibactérienne des feuilles de *Terminalia glaucescens*, trouvent que le traitement thermique a un faible effet sur les diamètres des zones d'inhibition.

II.4.1. Détermination de la CMI :

La détermination de la concentration minimale inhibitrice des extraits sur les trois souches bactériennes est effectuée selon la méthode de diffusion sur gélose décrite par DZOMBA et al., 2012.

La lecture des résultats est faite par une mesure des diamètres des zones 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

Notre étude indique que les souches étudiées présentent une sensibilité vis-à-vis des extraits, qui se traduit par une légère diminution des zones d'inhibition en fonction des concentrations testées.

Au vu des résultats, la croissance des trois souches (*Bacillus cereus* ATCC 10876, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Citrobacter freundii* ATCC 8090) a été inhibée par les différentes fractions de l'extrait à la concentration de 75 mg/ml, de plus les résultats montrent que le traitement thermique n'influence pas l'activité antimicrobienne.

La CMI enregistrée dans notre étude pour les trois souches est de 75 mg/ml, un résultat inférieur comparativement à ceux rapportés par **Ramalivhana et al., 2014** sur *Citrobacter freundii* utilisant *Momordica balsamina* (2.5 mg/ml) et celui de **BAZRI et FAN, (2004)** et sur *Salmonella typhimurium* utilisant les feuilles de *Quercus infectoria* (0.62 mg/ml).

Tableau X : Les valeurs de la CMI des extraits vis-à-vis des souches testées

Concentration en (mg/ml)	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090
300	+	+	+
150	+	+	+
75	+	+	+
37.5	-	-	-

(-) Résistance, (+) Sensibilité

Ces résultats peuvent être attribuées à plusieurs facteurs extrinsèque et intrinsèque : la durée d'exposition au soleil, la disponibilité de l'eau, la fertilisation, l'âge de la plante, le stade de maturation, l'état physiologique et la durée du stockage des feuilles lors de l'analyse. Ces paramètres ont tous une forte influence sur la teneur en polyphénols ce qui a un impact sur les activités biologiques de *l'Arbutus unedo* L. (**PEDNEAULT, 2001**).

Conclusion :

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et ceci grâce aux nouvelles voies thérapeutiques qu'elles procurent.

La diversité de propriétés biologiques des plantes est liée aux vertus attribuées à une gamme de molécules bioactives synthétisées par ces dernières dont les polyphénols.

L'objectif de notre étude est l'évaluation des effets du traitement thermique sur les propriétés antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne des extraits aqueux traité et non traité des feuilles d'*Arbutus unedo* qui est largement utilisée en médecine traditionnelle à travers le monde et particulièrement en Algérie.

La quantification des polyphénols totaux (PPT) de l'extrait aqueux brute et des extraits traité par le test colorimétrique de Folin-Ciocalteu nous montre que les trois extraits (non traités (température ambiante) et traité à 100°C pendant 20mn et 40mn) des feuilles d'*Arbutus unedo* sont caractérisés par des teneurs en PPT qui sont respectivement de 17,54±0,19mg EAG/gMS ; 18.34±0,69mg EAG/g MS ; 17,94±0,34mg EAG/g MS.

Le potentiel antioxydant a été évalué par les méthodes FRAP. Ce test a montré que l'extrait aqueux d'*Arbutus unedo* présente une activité antioxydante à 200 µg/ml et qui est estimée à 57% de protection pour l'extrait à température ambiante, 48% et 42% pour les extraits chauffé à 100°C pendant 20 mn et 40 mn respectivement. Ces taux de protections enregistrés restent relativement inférieurs par rapport aux taux de protection de l'acide ascorbique qui est de 100% à la même concentration.

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* a été évaluée par la méthode d'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine. Celle-ci montre que les trois extraits (traité et non traité) des feuilles d'*Arbutus unedo* présente une activité anti-inflammatoire à la concentration de 500 µg dont on a enregistré des valeurs de protection l'ordre de 76% de protection de l'ovalbumine (extrait non traité) contre 89% et 90 % pour l'extrait traité à 100°C pendant 20 mn et 40 mn respectivement,

Le taux de protection obtenu pour les trois extraits qu'on a utilisé reste alors relativement supérieur par rapport aux taux protection enregistré pour l'aspirine à la même concentration.

L'effet du traitement thermique sur l'activité antibactérienne des extraits traité et non traité des feuilles d'*Arbutus unedo* vis-à-vis de trois souches *Bacillus cereus* (ATCC 10876),

Conclusion

Salmonella typhimurium (ATCC 13311), *Citrobacter freundii* (ATCC 8090) a été évaluées par la méthode de diffusion par disque.

Les trois extraits ont un effet inhibiteur sur toutes les souches, ce qui confirme que la température n'influence pas l'activité antimicrobienne de nos extraits.

La sensibilité des souches a été mise en évidence par la détermination de la CMI. Celle-ci a montré que toutes les souches sont inhibées avec une CMI de 75mg/ml.

Pour mieux cerner l'effet thérapeutique de notre extrait, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- Appliquer d'autres tests antioxydants tel que le test de piégeage des radicaux libres (DPPH) pour avoir une indication plus affinée sur la capacité antioxydante de cette plantes.
- Identifier les classes de composés phénoliques impliquées dans les activités étudiées.
- Evaluer la toxicité de l'extrait natif et traité.
- Evaluer les doses minimales bioactives pour chaque fraction de l'extrait étudié.

A

- ABBAYES, H., CLAUSTRES, G., CORILLION, R. & DUPONT, P. (1971). Flore et végétation du Massif Armoricaire, Tome 1. Presses Universitaires de Bretagne, Saint-Bleuc. 1226 p.
- ABBOTT, S.L. (2007). Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae. In: « Manual of Clinical Microbiology » 9th Ed, Washington, 715p.
- AFONSO, V., CHAMPY, R., MITROVIC, D., COLLIN, P & LOMRI, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. Revue du Rhumatisme, 74(7), 636-643.
- AIT-YOUCEF, M. (2006). Les plantes médicinales en Kabylie. Ed : Ibis press, Paris. 349p.
- ALLALI, H., OULEDNECIR, N., BEN MAHDI, H., FETHI, N. (2017). Screening of some plant materials used in south-west Algerian traditional medicine for their antibacterial activity, Internal Journal of Phytomedicine, 9(5), 616-627.
- AMZAL, H. (2010). Etude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier. Thèse de doctorat, Université Mohammed Vagdal. Rabat. 108p.
- AZZAM, A.M., HAZAA, M.M., MOSTAFA, B.B & BAYOUMI, S.S. (2014). Antibacterial Activity of Some Plant Extracts against Water Bacterial Pollution. Journal Biological Chemistry J. Biol. Chem. Environ. SCI, 9(4), 393-406.

B

- BAGGESEN, D.L., SANDVANG, D. and ARESTRUP, A.F. (2000). Characterization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 isolated from Denmark and comparison with isolates from Europe and the United States. J Clin Microbiol, 9(38), 1581-1586.
- BAHROUN, T., GRESSIER, B., TORTIN, F., BRUNET, C., DINE, T., LUYCKH, M., VASSEUR, J., CAZIN, M., CAZIN, J.C. and PINKAS, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from haw Thom fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arznei.Forschung*, 44(7), 1086-1089.
- BARNES, P. J. (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular Mechanisms. *Clinical science*, 94(6), 557-572.

- BARTON, G M., 2008. A calculated response: control of inflammation by the innate immune System. *J Clin Invest*, 118(5),413-420.
- BAZRI, D.F., FAN, S.H. (2004) .The potential of aqueous and acetone extract of galls of *Quercus infectoria* as antibacterial agents, 37(6), 25-29.
- BENAVENTE ,G.O., CASTILLO ,J., MARIN, F.R., ORTUNO ,A., DELRIO, J.A. (1997). Uses and properties of *Citrus* flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 45 (8) ,4505–4515.
- BERGER ,M.M (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20(3), 48-53.
- BERGOGNE ,B.E & DELLAMONICA ,P. (1995). Antibiothérapie en pratique clinique. Ed. Masson, Paris, 486p.
- BERSET, C et CERVELIER, M.E. (1996). Methods of estimating the degree of lipids oxidation and of measuring autooxidising power. *Science des Aliments*, 16(5), 219-245.
- BIERHAUS, A., ILLMER, T., KASPER, M., LUTHER, T., QUEHENBERGER, P., TRITSCHLER, H., WAHL, P., ZIEGLER, R., MÜLLER, M. et NAWROTH, P.P. (1997). Le produit final de glycation avancée (AGE) - Induction Médie du facteur tissulaire dans les cellules endothéliales cultivées dépend du RAGE, 965(8), 2262-2271.
- BIJEN, K., TUGCE ,F., HUSNIYE ,T.Y. (2008) .Antimicrobial and cytotoxic activities of *Myrtus communis* L, 37(3), 191-199.
- BISSARDON, M et GUIBAL, L.1997. Corine biotopes, Version originale, Laboratoire de Recherche en Sciences Forestières, École Nationale du Génie Rural, des Eaux et des Forêts, Nancy. 217 p.
- BOULLARD, B. (2001).Plantes médicinales du monde Croyance et réalités .Ed ESTM.Paris ,636 p.
- BOULOU, G.E.K., ATTIOUA, B., N’GUESSAN, A.C., COULIALY, A., N’GUESSAN, J.D. et DJAMAN, A.J. (2011).Evaluation in vitro de l’activité antibactérienne des extraits de *Termannalia glaucescens* planch sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*, *Bulletin de la Société Royale des Sciences de liège*, 80(4) ,772-790.

C

- CARR, A.C., FREI, B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am J Clin Nutr*, 69(9),1086–107.
- CASARIN, E., DALLACQUA, S., SMEJKAL, K., ŠLAPETOVÁ, T., INNOCENTI, G., CARRARA, M. (2014). Molecular mechanisms of anti proliferative effects induced by Schisandra-derived dibenzocyclooctadiene lignans deoxyschisandrin and gomisin N in human tumour cell lines *Fitoterapia*,9(12), 241–247.
- CAVIN, A. (1999). Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydante et antiradicalaire : *Tinospora crispa* (Ménispermacées), *Merremia emarginata*(Convolvulacées) et *Oropea enneandra* (annonacées). Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur. 241p.
- CHARLES, N. S., PETER, A. W. & DEREK, W. G. (2010). Fundamentals of Inflammation. *Cambridge University Press*. 2-3.
- CHEAH, H. L., LIM V. and SANDAI, D. (2014). Inhibitors of the glycosylate cycle enzyme ICL1 in *Candida albicans* for potential use as antifungal agents: *journal*.10 (6), 1371-1380.
- CHEVALIER, X, FLIPO, R, GOUPILLE, P, SCHAEVERBEKE, T. (2005). *Rhumatologie*. Ed: Elsevier Masson, France. 340p.
- CLIKEL, G., DEMIRSOY, L., DEMIRSOY, H. (2008). The Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L) selection in Turkey, *Scientia Horticulturae*, 118(8), 115-119.
- COHEN, Y et JACQUOT, C. (2001). *Pharmacologie*. 5ème Ed. Masson. Paris. 350p.
- COWAN, M. M. (1999).Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbial. Rev*, 12(6), 564-582.
- CROZIER, A., CLIFFORD, M.N., ASHIHARA, H. (2006). *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Blackwell Publishing, 45(4), 191-199.

D

- DAGLIA, M. (2011). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*. 23(9), 1-8.
- DASGUPTA, N., DE, B. (2007). Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: a comparative study. *Food Chemistry* 101(12), 471 – 474.

- DAUCHET, L., AMOUYEL, PH., DALLONGEVILLE, J. (2005) .Consommation de fruits et légumes et risque d'accident vasculaire cérébrale et cardiaque : Méta-analyse des études épidémiologique prospectives. 40(1) ,31-40.
- DELLILE, L. (2007). Les plantes médicinales d'Algérie .Edition BERTI ,148p.
- DELATTRE, J., BEAUDEUX, J.L., BONNEFONT, R.D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques.23p.
- DOUKANI K et TABAK S. (2015).Profil Physicochimique du fruit " Lendj " (*Arbutus unedo L.*)*Nature & Technology*, 12 (8), 53-66.
- DURAFFOURD, C. et LAPRAZ, Z.C. (2002).Traité de phytothérapie Clinique Endobiogénie et Médecine. Edition Masson, Paris .827p.
- DZOMBA, P. et MUCHANYREYI, N. (2012).Potential antimicrobial plants extract based therapeutic from temnocalyxobovatus roots .European Journal of Medicinal Plants, 2(3), 209-215.

E

- ELGHOZI, J.L., DUVAL, D. (1992). Pharmacologie 2ème Ed : Médecine Flammarion. Paris. 289p.
- EL HOUARI, M., LOPEZ, J.J., MEKHFI, H., ROSADO, J.A. et SALIDO, M.G. (2007). Antiaggregant effect of *Arbutus unedo* extract .J Ethnopharmacol.6 (3), 325-331.
- ESSAWI, T. & SROUR, M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol*, 70(9),43-349.

F

- FAJARDO, A., LINARES, J.F., MARTÍNEZ, J.L. (2009). Towards an ecological approach to antibiotics and antibiotic resistance genes. *Clin Microbial Infect*, 15 (1), 14-16.
- FAVIER, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Clinique,p108-115.
- FAVIER, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. Annales Pharmaceutiques Françaises, 64(6) :390-396.

- FERREIRA, S., SANTOS, J., DUARTE, A., DUARTE, A.P. et QUEIROZ, J.A.(2012) Screening of antimicrobial activity of *Cistus landanifer* and *Arbutus unedo* extracts . *Nat.Prod.* 26(9), 1558-1560.
- FILAIRE, E., TOUMI, H. (2012). Rôle de dérivés réactives de l'oxygène et de l'exercice physique sur le métabolisme osseux : *Revue du Rhumatisme* 79(5),341-346.
- FORTALEZAS, S., TAVARES, L., PIMPAO, R., TYAGI, M., PONTES , V., ALVES ,P.M., MCDOUGALL, G., STEWART, D ., FERREIRA, R.B. et SANTOS ,N.C. (2010). Antioxidant properties and neuroprotective capacity of strawberry trees fruit (*Arbutus unedo*).*Nutrient*, 2(3),214-229.

G

- GARCIA, R.A., BARTOLOME, B., MARTINEZ-RODRIGUEZ, A.J., PUEYO, E., MARTIN, A.L., VAREZ, P.J. and MORENO, A.M.V. (2008). Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control.* 19(9), 835–841.
- GARDES ,A.M. (2006). Aspects physico-chimiques des espèces reactive de l’oxygène
Physico-chemical aspects of reactive oxygen species. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6),365–372.
- GEORGETTI, S.R., CASAGRANDE, R., DI MAMBRO ,V.M., AZZOLINI, A.E., FONSECA ,S., MARIA, J.V. (2003). Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the Chemiluminescence Method. *AAPS Pharm Sci*, 5(2) ,1-5.
- GUIGNARD, J.L., *Botanique: Systématique Moléculaire*, édition Masson, 2001.
- GUIMARAES, R., BARROS, L., CALHELHA, R.C., CARVALHO ,A.M., QUEIROZ M.J.R.P.et FERREIRA, S. (2014). Bioactivity of different enriched phenolic extracts of wild fruits from northeastern Portugal: A comparative study .*Plant Food Hum .Nutr*, 69(2),37-42.
- GUINEBRETIERE, M.H., AUGER, S., GALLERON, N., CONTZEN ,M., SARRAU, B.D., BUYSER ,L.M.D., LAMBERET, G., FAGERLUND ,L., GRANUM, P.I., LERECLUS ,D., VOS ,P.D., NGUYEN, T.D. and SOROKIN, A. (2013). *Bacillus cytotoxicus* sp.nov: is a novel thermo tolerant species of the *Bacillus cereus*: *Int J Syst Evol Microbial*, 63(4),31-40.
- GUINOCHET, M & DE, VILMORIN R. (1987). *Flore de France*, tome 4. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris. 1337-1338.

- GÜLÇİN, I., MSHVILDADZE, V., GEPIREMEN, A., ELIAS, R.(2006). Screening of
- antiradical and antioxidant activity of monodesmosides and crude extract from
- Leontice
- Smirnowii tuber Phytomedicine 13(2), 343–351.
- GUO ,C.,YANG, J ., WEI, J., LI ,Y., XU, J., JIANG, Y.(2003) .Antioxidant activities of pool pulp and seed fraction of common fruits as determined by FRAP assay ,Nutr .Res ,23(15),1917-1926.

H

- HARCOURT, B.E., SOURRIS, K.C., COUGHLAN, M.T., WALKER, K.Z., DOUGHERTY, S.L., ANDRIKOPOULOS, S., MORLEY, A.L, THALLAS-BONKE ,V., CHAND ,V., PENFOLD, S.A., COURTEN, M.P.J., THOMAS, M.C, KINGWELL, B.A., BIERHAUS ,A., COOPER, M.E., COURTEN ,B. et FORBES, J.M. (2011) Réduction ciblée de la glycation avancée améliore la fonction rénale dans l'obésité. Kid Ney International, 80(9), 190-198.
- HEIM, K.E., TAGLIAFERRO, A.R., et BOBILYA, D.J. (2002).Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationship; Journal.Nutr.Biochem.13 (5), 572-284.
- HENROTIN, Y., DEBY-DUPONT, G., & REGINSTER, J. Y. (2001). Les médiateurs
- Biochimiques de l'inflammation. *Revue médicale de Liège*, 56(6) ,433-42.
- HERCBERG ,S., GALAN, P., PREZIOSI ,P., BERTRAIS, S., MENNEN, L., MALVY, D., ROUSSEL, A., FAVIER , A. and BRIANÇON, S. (2004). The SU.VI.MAX Study. Archives of Internal Medicine, 164(21),2335-2340.
- HODEK, P., TREFIL, P., STIBOROVA, M. (2002). Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes. *Chem. Biol. Interact*, 139(2), 1–21.
- HOFFMANN, L. (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-CoA : of *Cassia fistula* J. Agric. Food Chem, 50(8), 5042-5047.
- HOLMES, B., & AUCKEN, H. M. (1998). Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella, Serratia and other members of the Enterobacteriaceae. In: « Microbiology and Microbial infections: Systematic Bacteriology». EdTec et Doc, London.1033p.

- HOUALI, K., MOUALEK, I., MOULOUA , A ., IRATNI AICH ,G.,HARRAR, A.,ACHOUR, N.,ZAROUKI ,C.,MEZINE, O. (2017). In vitro Activity of *Arbutus unedo* Aqueous Extract Against *Leishmania infantum* Promastigotes. 12(4), 1-5.
- HSU, C., HUANG, S. and YEN, G. (2006). Inhibitory Effect of Phenolic Acids on the Proliferation of 3T3-L1 Preadipocytes in Relation to Their Antioxidant Activity. J. Agric. Food Chem, 54(12), 4191-4197.
- HSU, C. and YEN, G. (2007). Effect of gallic acid on high fat diet-induced dyslipidemia, hepatosteatosis and oxidative stress in rats. British Journal of Nutrition, 98(04):2524-2534.
- HUANG, G., JIANG, J.and DAI, D. (2008). Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala* S. Moore. *African Journal of Biotechnol.*7 (9), 1335-1338.
- HUI ,Y.T., CHI-TANG, H., YU-KUO, C.(2017).Biological actions and molecular effects of resveratrol, pterostilbene, and 3'-hydroxypterostilbene.Journal of food and drug analysis,45(5),34-47

I

- ICHAI, C., H. QUINTARD, H., ORBAN, J.C. (2011), Désordres Métaboliques et Réanimation: De La Physiopathologie Au Traitement, Springer-Verlag, France.429p.
- IGOR ,L.B. (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloides* Lam. (*Rutaceae*).Thèse Pharmacie, Bamako ; 133(16),80-81.
- ISERIN, P. (2001).Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins .2^{eme} Ed, Larousse, Londre 275p.
- IWALEWA, E.O., MCGAW, L. J., NAIDOO, V. & ELOFF, J. N. (2007).
Inflammation:
- The foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South
- African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *African Journal of*
- *Biotechnology*, 6(25),1532-1545.

J

- JAFARI-SCHLUEP, H., KHORIS, J., MAYEUX, P.V., HAND, C., ROULEAU, G. and CAMU, W. (2004). Les anomalies du gène superoxyde dismutase 1 dans la sclérose latérale amyotrophique familiale : corrélations phénotype/génotype et implications pratiques. L'expérience française et revue de la littérature. *Revue Neurologique*, 160(1), 44-50.
- JOVANOVIC, S.V., STEENKEN, S., TOSIC, M., MARJANOVIC, B. & SIMIC, M.G. (1994). Flavonoids as antioxidants. *J. Am. Chem. Soc.* 116 (9), 4846-4851.
- JUDD, W.S, CAMPBELL, C.S., KELLOGG, E.A, STEVENS, P(2002) .Botanique systématique : une perspective phylogénétique, Editions *De Boeck Université*.
- JUNGKIND, D.L. Antimicrobial resistance : a crisis in health care ; [based on the proceedings of the Eastern Pennsylvania Branch of the American Society of Microbiology Symposium on Antimicrobial Resistance: a Crisis in Health Care - Clinical Laboratory and Epidemiologic Considerations, held November 11-12, 1993, in Philadelphia, Pennsylvania]. Ed. Plenum Press, New York, NY [u.a], 1995, p. 248.
- JULIE, L., BADGER, A., MONIQUE, F., STINS et KWANG S.K. (1985). "Citrobacter freundii envahit et se réplique dans les cellules endothéliales microvasculaires du cerveau humain." : *Hinyokika kiyo. Acta Urologica Japonica*, 31 (7), 1159-1170.
- JÜRGEN, R., PAUL, S., ULRIKE, S., and REINHARD, S. (2009). Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties—an Overview: *ForschKomplementmed*. 16 (2), 79–90.

K

- KARTHIK, K., KUMAR, B.R., PRIYA, V.R., KUMAR, S.K. et RATHORE, R.S. (2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by invitro Method. *J Res Pharm Biotechnol*, 1 (5) ,729-730.
- KEMPF, S. ZEITOUNI.K. (2009). Coût biologique de la résistance aux antibiotiques, analyse et conséquences *Pathologie Biologie : article in press* ,7 (9), 1335-1338.
- KIVCAK, B., MERT, T., ERTABAKLAR, H., BALCIOGLU, I.C., et TOZ, S.O. (2009) .in vitro activity of arbutus unedo against leishmania tropica promastigotes .*Turk .Soc.Parasitol*.33, 114-115.

L

- LEHUCHER-MICHEL, M. P, LESGARDS, J. F., DELUBAC, O., STOCKER, P., DURAND P., PROST, M. (2001). Stress oxydant et pathologies humaines: Bilan et perspectives préventives. *La Presse medical*, 30(21), 1076-1081.
- LEGSSYER, A., ZIYYAT, A., MEKHIFI, H., BNOUHAM, M., HERRENKNECHT, C., ROUMY, V., FOURNEAU, C., LAURENS ,A., HOERTER, J et FISCHMEISTER, R.(2004). Tannins and catechin galleate mediate the vasorelaxant effect of *Arbutus unedo* on the rat isolated aorta ,*phytoerapie* ,18(5),889-894.
- LUXIMON-RAMMA, A., BAHORUN, T., SOOBRATTEE, M.A., and ARUOMA, O.I. (2002). Antioxidant Activities of Phenolic, Proanthocyanidin, and Flavonoid Components in Extracts. 126p.

M

- MALES, Z., PLAZIBAT, M., VUNDAC, V.B. (2006). Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree-*Arbutus unedo* L (Ericaceae), *Acta pharm.* 56 (9), 245-250.
- MARCO S.F., TURABIAN F.J.L., DURANPEREZ N.A. (1985) .*Citrobacter Freundii* mortel Bronchopneumonia acquis dans la communauté chez un patient sans compromis : *Revista Clínica Española*, 176 (6), 320.
- MARFAK, A. (2003). Radiolyse Gamma des flavonoïdes ; Etude de leur réactivité avec des radicaux issus des alcools. Thèse de doctorat. 6-10.
- MARIOTTO, S., ESPOSITO, E., SCALBERT, A., (2005). Polyphenols and prevention of Cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology*, 16(6), 1-8.
- MASSION, P., JEAN-CHARLES PREISER, J.C., BALLIGAND, J.L. (2002). Les espèces réactives de l'azote : *Nutrition Clinique et Métabolisme* 16(9) ,248-252.
- MATSUMOTO, Y., KAIHATSU, K., NISHINO, K., OGAWA, M., KATO, N., YAMAGUCHI, A. (2012). Antibacterial and antifungal activities of new acylated derivatives of epigallocatechin gallate: *Front Microbial*, 3(53), 1–10.
- MAURICE, N. (1997). L'herboristerie d'antan à la physiothérapie moléculaire du XXIe siècle .Ed .Lavoisier, Paris.12-14p.
- MEDZHITOV, R. (2010). Inflammation: new adventures of an old flame. *Cell*, 140(6), 771-776.

- MEKHFI, H, ELHAOUARI, M, BNOUHAM, M, AZIZ, M, ZIYYAT, A, LEGSSYER, A.PHYTOTHER, R.S. (2006). [Effects of extracts and tannins from Arbutus unedo leaves on rat platelet](#), 20(2), 135-9.
- MENA, S., ORTEGA, A. et ESTRELA, J. M. (2009). Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis. Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 674(12), 36-44.
- MENDES, L., FREITAS, V., BAPTISTA, P., CARVALHA, M., (2011).Comparative anti hemolytic and radical scavenging activities of strawberry tree (*Arbutus unedo L*) leaf and fruit. Food and chemical toxicology, 49(25), 2285-2291.
- MIGUEL, M.G., FALEIRO, M.L., GUERREIRO, A.C et ANTUNES, M.D (2014) .*Arbutus unedo L.*: Chemical and Biological Properties, Molecules, 19(12), 15799-15823.
- MINOR, L. (1984). Genus III. *Salmonella* Lignières, In: « Bergey's manual of systematic bacteriology» Ed Williams & Wilkins, Baltimore, London.543p.
- MOUALEK, I., IRATNI, A.G., MESTAR, G.N., LAHCENE, S., HOUALI, K. (2016). Antioxidant anti-inflammatory activities of *Arbutus unedo* aqueous extract .Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 6 (11), 937-944.
- MOURE, A., CRUZ, J. M., FRANCO, D., DOMINGUEZ, J. M., SINEIRO, J., DOMINGUEZ, H., NUÑEZ, M.J., PARAJO, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food chem*, 72(9),145–171.

N

- NACEIRI, M.H., MARMOUZI1, I., SAYAH, K., CHEMLAL, L., EL OUADI, H., ELMSELLEM, Y., CHERRAH, M .,FAOUZI1.A. (2016) *Arbutus unedo L* aqueous extract is associated with in vitro and in vivo antioxidant activity. 8 (1), 217-224.
- NATHAN, C., 2002. Points of control in inflammation. Nature, 420(8), 846-852.
- NAUCIEL C.and VILDE J.L. (2005). Bactériologie médicale, 2èmeEd. Masson. Paris.10p.
- NAZZARO, F., CALIENDO, G., ARNESI, G., VERONESI, A., SARZI, P et FRATIANNI, F. (2009). Contenu comparatif de certains composés bioactifs en deux variétés de *Capsicum annuum L*. le poivre sucré et l'évaluation de leurs activités antimicrobiennes et mutagènes, *Journal de Food Biochemistry* ,33 (6) ,852-868.

- NICOLAS, J.F., FLORENCE, C., and JEAN, T. (2001). Immunologie clinique et Allergologie. Aspirine et AINS : intolérance et allergie. John LibbeyEurotext. 55-58p

O

- OLIVEIRA, I., BAPTISA, P., MALEIRO, R., CASAL, B., BENTO, A., PEREIRA, J.A. 2011. Influence of strawberry tree (*Arbutus unedo* L) fruit ripening stage in chemical composition and antioxidant activity .Food Research International, 44(25),1401-1407.
- OLIVER ,S. A. B., VITTORIO ,O.C., CIRILLOE, G., and CYRILLE, B. (2016) .Enhancing the therapeutic effects of polyphenols with macromolecules. Formal of the royal society of chemistry, 17(4), 381-385.

P

- PABUÇCUOĞLU, A., KIVÇAK, B., BAS, M., MERT, T(2003). Antioxidant activity of *Arbutus unedo* leaves, *Fitoterapia* 74, 597-599.
- PIOTR, M., PIOTR ,W., IZABELA ,Ł., DOMINIKA, O., ANNA, S., PAWEL, S., JANUSZ, K., ELZBIETA, T. (2017). Emergence of a multidrug-resistant *Citrobacter freundii* ST8 harboring an unusual VIM-4 gene cassette in Polan, 39 (6),867-878.
- POPOVICI, C. (2009). Journal revue de génie industriel, 4, 25-39.

R

- RAMALIVHANA, J.N., OBI ,C.L, SAMIE ,A., IWERIEBOR, B.C., UABOI-EGBENNI ,P., IDIAGHE, J.E and MOMBA, M. N. B. (2014). Antibacterial activity of honey and medicinal plant extracts against Gram negative microorganisms, p. 622-628.
- RAMEAU.J.C., Laboratoire de Recherche en Sciences Forestières, École Nationale du Génie Rural, des Eaux et des Forêts, Nancy. 217 p.
- REZAIRE, A. (2012). Activité anti-oxydante et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse de Doctorat.257p.
- RICE-EVANS, C.A., SAMPSON, J., BRAMELEY, P.M., HOLLOWAY, D.E. (1997). Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vitro? *Free Radical Res*, 26,381-398.

- RODINO, J.B.K., SALGADO, S.A., TEJEIRA, F.E., GONZALEZ, J.J.R., ÁLVAREZ, E. et EIRAS, S. (2011). Récepteur pour l'expression des produits finaux de glycation avancée dans le tissu adipeux sous-cutané liée à la maladie coronarienne. *European Journal of Endocrinology*, 9(4),393-406.
- RYAN ,K. J. (2004). Enterobacteriaceae. In: « An Introduction to Infectious diseases». 4th Ed: Sherri's Medical Microbiology, USA.371p.

S

- SABRINA, C.S., MARIE, L.D.B., MARIE, L.V., TRINH, T.D., SABINE, M., SYLVIE, P., JACQUES, A.H., NATHALIE, P., ANNE, B. (2012). Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation N°50 : Spécial Risques alimentaires microbiologiques « Toxi-infections alimentaires collectives à *Bacillus cereus* », France .225-228.
- SARAZIN, M., ALEXANDRE, CH., THOMAS, T. (2000). Influence des apports en oligoéléments, protéines, lipides, glucides et vitamines sur le métabolisme osseux. *Revue Rhumatisme* 67(15) ,486-97.
- SCALBERT, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Photochemistry*. 30,3875-3883.
- SCHORODERET, M. (1992). Pharmacologie, des concepts fondamentaux aux applications Thérapeutiques. Volume 2. Ed: Office des publications universitaires (Alger), 523-530p.
- SHAHIDI, F.et NACZK, M. (2004).Extraction and analysis of phenolic in food; *Journal of chromatography*, 1054, 59-111.
- SHERWIN, H.W. (1976). Differences in rehydration of three desiccation-tolerant angiosperm species. *Annals of Botany* 78,703–710.,
- SHOIB, A.B., SHAHID, A.M. (2014) Evaluation of antioxidant and antibacterial activity of methanol extracts of *Gentiana kurroo royle*, 5(9), 495-497.
- SINGLETON, V.L & ROSSI, J.A. (1965).Colorimetric of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents .*Am J Enol Vitic*, 16,144-158.
- SÖKMEN, B.B., AYDIN, S. et KINALIOGLU, K. (2012). Antioxidant and antibacterial properties of a lichen species *Diploschistes scruposus* (Schreb.) Norman. *IUFS Journal of Biology*, 71 (1),43-51.

- STEVENSON, D. and HURST, R. (2007). Polyphenol phytochemicals: Cellular and Molecular Life Sciences, 64(22), 2900-2916

T

- TARNAWSKI, M, DEPTA, K, GREJCIUN, D, SZELEPIN, B. (2006). HPLC determination of phenolic acids and antioxidant activity in concentrated peat extract - a natural immunomodulator. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41,182–188.
- TEOFRASTO, M. (1988). Historia de las plantas .Spanish translation of the original Greek work written by Theophrastus in the 3rd century B.C. Madrid .Editorial Gredos.876p.
- THÉRON, P. (2003). Le sélénium : Un oligo-élément essentiel pour la santé humaine. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 38 (4) ,250-256.

U

- ULANOWSKA, K., MAJCHRZYK, A., MOSKOT, M., JAKBKIEWICZ-BANECKA, J. AND WÂGRZYN, G. (2007). Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*, 62,132-135.

V

- VALKO, M, RHODES, C.L, MONCOL, I, IZAKOVIC, M, MAZUR, M; 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, 160, 1-40.
- VAN ACKER, S., VAN BALEN, G.P., VAN DEN BERG, D.J., VAN DER VIJGH, W.J.F. (1996). Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem. Pharmacol*, 56:935– 943.

W

- WEILL, B., BATTEUX, F. & DHAINAUT, J. (2003). Immunopathologie et réactions Inflammatoires, De Boeck Université, Paris. 12-23p.
- WILSON, A., SALAMATIAN, L. (2003). Les Radicaux Libres : Université de Versailles Saint-Quentin-en Yvelines.456p.

Y

- YAO, L.H., JIANG, Y.M., SHI, J., TOMAS-BARBERAN, F.A., DATTA, N., SINGANUSONG, R., CHEN, S.S. (2004). Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr*, 59(9), 113-122.
- YOSHIDA, H., KAJIMOTO, G. et EMURA, S. (1993). Antioxidant effects of d-tocopherols at different concentrations in oils during microwave heating. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70(10),989-995.

Annexes:

Annexe 01: matériels utilisés

Appareillage	Solvants et réactifs	Milieux de culture
Flacons	Eau distillée	BHIB (brain heart infusion broth)
Bain marie	Acide Gallique	Milieu MH (Mueller Hinton)
Tubes a essai	Acide Ascorbique	
Fioles	Albumine d'œuf	
Entonnoir	Aspirine.	
Pince	Ethanol	
Micropipettes	Réactif de Folin Ciocalteu	
Bécher	Tampon Phosphate	
Anses	Ferricyanure de Potassium	
Ecouvillon	Chlorure Ferrique	
Erlenmeyer	Acide Trichloracétique (TCA)	
Papier whatman	Acide Sulfurique	
Boîtes pétri	Phosphate de Sodium	
Bec bensen		
Lyophilisateur	Disque d'antibiotiques	
Spectrophotomètre	Eau physiologique	
Autoclave		
Agitateur a plaque chauffante		
Vortex		

Annexes 02 : Les DO de dosage des polyphénols pour les trois extraits testés

	0.727
Extrait à T° ambiante	0.748
	0.736
	0.742
Extrait traité à 100°C pendant 20 mn	0.823
	0.754
Extrait traité 100°C pendant 40 mn	0.756
	0.729
	0.758

Annexes 03 : Pourcentages de réduction du fer des trois extraits et l'acide ascorbique

Variable	Moyenne	Ecartype	N	Erreur-T	Valeur de référence	Valeur-T	dl	P-value
25°C/0min	0,791	0,280	5	0,125	1,140	-2,788	4	0,057
100°C/20min	0,732	0,226	5	0,101	1,140	-4,026	4	0,016
100°C/40min	0,651	0,169	5	0,076	1,140	-6,453	4	0,003

Annexe 04 : Les résultats de test de comparaison de moyennes à un standard pour l'activité anti oxydante

Concentration	10µg/ml	40µg/ml	80µg/ml	120µg/ml	160µg/ml	200µg/ml
Acide ascorbique	23%±0,007	33,00%±0,16	45,10%±0,01	59,62%±0,01	80,60%±0,00	100,00%±0,12
Ext à T°amb	22,33%±0,01	28,82%±0,009	36,50%±0,01	42,57%±0,01	46,58%±0,04	57,35%±0,05
Ext à 100°C pendant 20mn	21,68%±0,01	29%±0,01	34,92%±0,00	39,03%±0,01	46,15%±0,01	48,68%±0,01
Ext à 100°C pendant 40mn	22,97%±0,01	24,97%±0,01	33,08%±0,00	34,32%±0,00	37,80%±0,00	42,85%±0,00

Annexe 05: Pourcentage de l'activité anti-inflammatoire des trois extraits et de l'Aspirine

Concentration	100µg/ml	200µg/ml	300µg/ml	400µg/ml	500µg/ml
Aspirine	51,42%±0,35	80,3%±3,83	81%±2,44	80%±0,77	74,1%±1,52
Ext à T° ambiante	55,5%±0,56	69,3%±0, 32	67,6%±0,29	71,8%±0, 32	76,1%±0,24
Ext à 100°C pendant 20mn	73%±2,44	84%±1,63	88%±2,44	87%±0,16	89,8%±0,00
Ext à 100°C pendant 40mn	80,5%±0,16	87,8%±0,16	89,5%±0,40	89,2%±0,08	90,4%±0,16

Annexe 06 : Les résultats de test de comparaison de moyennes à un standard pour l'activité anti inflammatoire

Variable	Moyenne	Ecartype	N	Erreur-T	Valeur de référence	Valeur-T	dl	P-value
25°C/0min	68,080	7,714	5	3,450	73,280	-1,507	4	0,206
100°C/20min	84,360	6,689	5	2,992	73,280	3,704	4	0,021
100°C/40min	87,480	4,012	5	1,794	73,280	7,914	4	0,001

Annexe 07 : le diamètre des zones de l'inhibition pour la CMI

Bacillus cereus				
C	500	300	150	75
T° amb	8	8	7	7
20 mn	9	10	9	7
40 mn	10	9	8	7
Salmonella typhimurium				
T° amb	9	12	10	8
20 mn	9	7	7	7
40 mn	10	9	10	7
Citrobacter freundii				
T° amb	8	9.9	9.9	7
20 mn	8	9	7.5	7
40 mn	10	9	9	8

Annexe 08 : Résultats de l'analyse de la variance à trois facteurs sur les zones d'inhibition antibactérienne

Facteur	Type	Moyenne± écart-type	Groupes homogènes	Analyse de la variance				
				SCE	DDL	CM	Test F	PROBA
Température	T1 (25°C)	13,65±1,91	A	1,602	1	1,602	4,97	0,03
	T2 (100°C)	13,31±1,92	B					
durée	D1 (0min)	13,65±1,93	A	3	2	1,602	4,66	0,01
	D2 (20min)	13,64±1,94	A					
	D3 (40min)	13,15±1,89	B					
Type	Bacillus	14,5±1,08	A	172,21	2	86,107	267,36	0
	salmonella	14,97±0,07	B					

Résumé :

Arbutus unedo L appartenant à la famille des Ericaceae, cette espèce connue sous le nom «Arbousier », est très répandue en Algérie, largement utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs pathologies. Dans ce contexte, cette étude a pour objectif d'évaluer l'effet de la température sur l'activité anti-oxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne des extraits aqueux obtenus des feuilles séchées d'arbousier.

La teneur totale des composés phénoliques qui est déterminée par la méthode colorimétrique pour les trois extraits, non traité (à température ambiante) et traités (à 100°C pendant 20 mn et à 100°C pendant 40 mn) est respectivement de $17,54 \pm 0,19$ mg équivalent acide gallique /g extrait sec, de $18,34 \pm 0,69$ mg équivalent acide gallique /g extrait sec et de $17,94 \pm 0,34$ mg équivalent acide gallique /g extrait sec.

L'évaluation de l'activité anti-oxydante des différents extraits par la méthode de FRAP a montré que l'extrait à température ambiante présente une meilleure activité par rapport aux extraits traités à la concentration 200 µg/ ml qui est estimée à 57%, un résultat satisfaisant par rapport à celui de l'acide ascorbique qui est de 100% à la même concentration.

Cette étude a également montré que toutes les fractions utilisées présentent une excellente activité anti-inflammatoire à la concentration de 500 µg/ml. Elle varie de 76% à 90% de protection de l'albumine contre 74% pour l'aspirine à la même concentration.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur trois souches bactériennes, selon la méthode de diffusion par disque. La concentration minimale inhibitrice (CMI) manifestée par les trois extraits sur les trois souches *Citobacter freundii*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* est de 75 mg/ml.

Ces résultats, en plus de confirmer le potentiel de l'extrait pour les différentes activités étudiées, ces derniers mettent en évidence la résistance thermique des biomolécules qu'il contient et ainsi sa possible incorporation dans divers procédés biotechnologiques impliquant un traitement thermique.

Mots clés : *Arbutus unedo L*, polyphénols, traitement thermique, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, activité antimicrobienne.

Abstract:

Arbutus unedo L of the Ericaceae family, known as strawberry tree, widely used in traditional medicine to treat different diseases. In this context, this study aims to evaluate the temperature effect antioxidant, anti-inflammatory and anti-bacterial activity of aqueous extract obtained from dried leaves of strawberry tree.

The total polyphenols (TPP) determined by the colorimetric method for the three extracts no treated (at ambient temperature), treated (at 100°C for 20 mn and 100°C for 40 mn) respectively is $17,54 \pm 0,19$ mg equivalent acid Gallic /g dry extract , de $18,34 \pm 0,69$ mg equivalent acid Gallic /g dry extract et de $17,94 \pm 0,34$ mg equivalent acid Gallic /g dry extract .

The evaluation of antioxidant activity of different extracts by the FRAP method shown that the extract at ambient temperature present a better activity compared to treated extracts to concentration 200µg/ml who is estimate to 75%, satisfactory result compared to the result of ascorbic acid who is 100% at the same concentration.

This study also showed that all the used extracts present excellent anti-inflammatory activity to concentration of 500µg/ml. It varies between 76% at 90% of albumin protection against 74% for aspirin at the same concentration.

The antimicrobial sensibility was determinate on three bacteria tested: *Citobacter freundii*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* using the disc diffusion method. The minimal inhibitory concentration (MIC) is estimate to 75%.

This results, confirmed the potential of the extract for different activities studied, these last highlight the thermic resistance of biomolecules which contain also its possible incorporation in various biotechnological processes involving a heat treatment.

Keys words: *Arbutus unedo* L, polyphenols, heat treatment, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, antimicrobial activity.