

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 Sciences Agronomiques.

Département de Biochimie et Microbiologie.



Mémoire de fin de cycle.

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie.

Spécialité : Biotechnologie Microbienne.

THEME

Analyse quantitative et évaluation des activités antioxydantes et des activités antibactériennes et antibiofilms des extraits de racines de l'olivier de Laperrine *Olea europaea* subsp. *laperrinei* (Batt. et Trab.) Cifferi sur deux souches bactériennes

Présenté par

ADDI Lylia Farida

BELHOCINE Amina

GRAINE Anaïs

Devant le jury

Président du Jury : Mme AICHE-IRATNI G.

Maître de conférences à l'Université Mouloud Mammeri TO.

Promoteur : Mr HOUALI K.

Professeur à l'Université Mouloud Mammeri TO.

Co-promotrice : Mme LAHCENE S.

Maître de conférences à l'Université Mouloud Mammeri TO.

Examinatrice : Mme OUZID Y.

Maître de conférences à l'Université M'hamed Bougara de Boumerdès.

Année universitaire

2022-2023

Remerciements

Nos remerciements s'adressent au Docteur AICHE-IRATNI G. pour l'honneur qu'elle nous fait en présidant le jury de notre mémoire.

Nous remercions également Mme OUZID Y. qui nous fait l'honneur de juger ce travail en tant qu'examinatrice. Veuillez trouver Mme l'expression de notre profonde gratitude.

Nous tenons à exprimer de même nos sincères remerciements à notre promoteur Mr HOUALI K. professeur au département de Biochimie et de Microbiologie de l'Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou et directeur de laboratoire LABAB pour sa patience, sa confiance, ses conseils judicieux, son suivi et ses directives qui nous ont énormément servi pour la concrétisation de ce travail ainsi que pour son accueil au LABAB, pour les moyens nécessaires et les conditions favorables mises à notre disposition pour le bon déroulement de notre travail.

Nous remercions finalement notre Co-promotrice le Docteur LAHCENE S. qui nous a dirigé durant ce travail avec une grande rigueur scientifique. Merci pour ses conseils et ses remarques qui nous ont été d'une aide précieuse et surtout pour la confiance qu'elle nous a témoigné tout au long de notre expérimentation.

Un grand merci à toutes les personnes de la faculté qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Nous tenons à présenter nos remerciements et notre profonde gratitude à nos chers parents qui nous ont toujours accompagnés, aidés, soutenus et encouragés tout au long de notre parcours. Nous ne saurons oublier nos familles et nos amis pour leur soutien continu et inconditionnel, pour l'intérêt et la patience qu'ils nous ont porté, qu'ils trouvent ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

ملخص

الصحراء يمثل مورداً وراثياً هاماً ويمكن استخدامه كأصل جذري لأنواع مختلفة من أشجار الزيتون التي تزرع في المناطق القاحلة بفضل جودة مقاومتها للجفاف الشديد في البيئة تساهم هذه الدراسة في التحديد الكمي والتقييم لبعض الخصائص المضادة للأكسدة للمستخلص المائي لجذور شجرة الزيتون كشفت الاختبارات الكيميائية للمركبات الفينولية عن محتويات ملحوظة من إجمالي الفينولا (5±0,327 mg EAG/g RS) و الفلافونويدات (12,5 ± 2,16 mg EQ/g RS) وإجمالي العفص (104,22± 22,45 mg EAT/g RS). أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر للمستخلص قوة مضادة للأكسدة كبير (290±53,03 mg/EAA/gRS) وقدرة اختزال عالية. (IC₅₀ = 433µg /ml) تظهر هذه النتائج أن المستخلصات من جذور شجرة زيتون لابيريني يمكن اعتبارها مصدراً للمركبات الفينولية التي لا يجب إهمالها، ومن المحتمل أن تستخدم في مكافحة الجذور الحرة بفضل الجزيئات النشطة بيولوجياً التي تحتوي عليها والتي يتم استخدامها المتبرعين. تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات لجذور الزيتون باستخدام طريقة انتشار الأجار ضد الإشريكية القولونية ATCC 25922 والمكورات العنقودية الذهبية ATCC 25923 على وسط MH للنشاط المضاد للبكتيريا، وعلى وسط أحمر الكونغو أجار لنشاط المضاد الحيوي ضد المكورات العنقودية الذهبية. كل من المستخلصات المائية والإيثانولية لجذور الزيتون تمنع نمو المستعمرات البكتيرية والأغشية الحيوية.

كلمات البحث: لابيريني، مستخلص مائي، مضادات الأكسدة، مركبات الفينول، النشاط المضاد للبكتيريا ومضادات الأغشية الحيوية.

Remerciements

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Page

Introduction générale 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Première partie Présentation de l'olivier de Laperrine

1-Caractéristiques générales de l'olivier de Laperrine 3
1-1-Classification 5
1-2-Description botanique 5
1-2-1-Appareil végétatif 5
1-2-2-Appareil reproducteur 6

Deuxième partie : Synthèse sur les radicaux libres et composés phénoliques

1-Généralités sur les radicaux libres..... 8
2-Généralités sur les polyphénols 10
2-1-Les flavonoïdes 12
2-1-1- Rôle des flavonoïdes 13
2-2-Les tannins..... 14
2-2-1-Les tannins hydrolysables 14
2-2-2-Les tannins condensés 14
2-2-3-Rôle des tannins 14
3- Activités biologiques des oliviers et de leurs extraits 15

Troisième partie : Synthèse sur les biofilms

Introduction 16

1-Définition.....	17
2-Étapes de formation du biofilm.....	17
3-Facteurs favorisant la formation de biofilm.....	19
3-1-Caractéristiques du milieu et de la surface	19
3-2-La présence de différents microorganismes	20
3-3-Les communications cellulaires.....	20

Chapitre II : Matériel et méthodes

2-1-Matériel	21
2-1-1-Matériel végétal	21
2-2-Méthodes	21
2-2-1- Procédure d'extraction	21
2-2-2-Analyse quantitative.....	22
2-2-2-1-Détermination de la teneur en polyphénol totaux.....	22
2-2-2-2-Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux.....	23
2-2-2-3-Détermination de la teneur en tannins totaux.....	23
2-2-2-4- Activité antioxydante	24
2-2-2-4-1-Capacité antioxydante totale ou test du phosphomolybdate	24
2-2-2-4-2-Détermination du pouvoir réducteur	25
2-2-3-Activité antibactérienne et activité antibiofilm	26
2-2-3-1-Souches bactériennes testées.....	27
2-2-3-2-Caractéristiques des souches	27
2-2-3-3-Milieus de culture.....	27
2-2-3-4-Préparation de l'inoculum.....	27
2-2-3-4-1-Préparation des pré-cultures.....	27
2-2-3-4-2-Préparation des suspensions bactériennes.....	28
2-2-3-5-Préparation des extraits à tester	28
2-2-3-6-Détermination de l'activité antibactérienne des extraits aqueux de racines	28
2-2-3-6-1-Protocole expérimental	28
2-2-3-6-2-Lecture	29

2-2-3-7-Évaluation de la formation de biofilms <i>in vitro</i>	30
2-2-3-7-1-Préparation des cultures sur Rouge Congo Agar (RCA)	30
2-2-3-8-Détermination de l'activité antibiofilm des extraits aqueux de racines	30
2-2-3-8-1-Protocole expérimental	30
2-2-3-8-2-Lecture	31

Chapitre III : Résultats et discussion

1-Dosages des extraits bruts de racines d'olivier	32
1-1-Dosage des polyphénols totaux.....	32
1-2-Dosage des flavonoïdes totaux	34
1-3-Dosage des tannins totaux	35
2-Détermination du potentiel antioxydant de l'extrait de racines	37
2-1-La capacité antioxydante totale CAT	37
2-2-Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)	38
3-Détermination de l'activité anti bactérienne et antibiofilms de l'extrait EAR	40
3-1-Évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des racines de l'olivier de Laperrine	40
3-2-Évaluation de la production de biofilm sur Rouge Congo	44
3-3-Évaluation de l'activité antibiofilm de l'extrait aqueux de racines de l'olivier Laperrine.	45
Conclusion et perspectives.....	48
Références bibliographiques	49

AHL	Acyl-homosérine lactone
EPS	Extracellular polymeric substance
ERO	Espèces réactives de l'oxygène
PGA	Poly-beta-1,6-N-acyl-D-glucosamine
PIA	Polysaccharides intercellular adhesin
PSS	Polysaccharide de silme
RCA	Rouge Congo agar
RFC	Réactif follin ciocalteu
TIA	Toxi-infection alimentaires
UFC	Unité formant colonies

Figure 1 : L'olivier de Laperrine (Baali-Cherif, 2007).	03
Figure 2 : Caractères morphologiques des feuilles de l'olivier de Laperrine A : Disposition opposée des feuilles (Baali-Cherif, 2007) ; B : Face supérieure et face inférieures des feuilles (Dr Lahcene, 2020).....	06
Figure 3 : Représentation des fleurs de l'olivier de Laperrine ; I : Inflorescence ; F : Fleur (Photo Dr Lahcene, 2021).....	06
Figure 4 : Représentation du fruit de l'olivier de Laperrine ; A : Etat immature ; B : Etat mature (Photo Dr Lahcene, 2021).....	07
Figure 5 : Origine des différentes espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2006).....	08
Figure 6 : Déséquilibre de la balance entre oxydants et antioxydants provoquant le stress oxydant (Rahman et <i>al.</i> , 2012).....	09
Figure 7 : Structure des bases des flavonoïdes (Abedini, 2013).....	12
Figure 8 : Structure de différentes familles de flavonoïdes.....	13
Figure 9 : Représentation schématique de la formation d'un biofilm d'une espèce bactérienne sur une surface solide, (1) : Fixation initiale (adsorption), (2) : Adhésion, (3) : Formation de microcolonies, (4) : Maturation, (5) : Dispersion (Guzmán-Soto et <i>al.</i> , 2021).....	17
Figure 10 : Schéma représentant les différentes étapes de l'extraction aqueuse	21
Figure 11 : Schéma récapitulatif des étapes du dosage des polyphénols totaux.....	22
Figure 12 : Schéma récapitulatif des étapes du dosage des flavonoïdes totaux.....	23
Figure 13 : Schéma récapitulatif des étapes du dosage des tannins totaux.....	24
Figure 14 : Schéma récapitulatif des étapes du test de phosphomolybdate.....	25
Figure 15 : Schéma récapitulatif des étapes de la détermination du pouvoir réducteur du Fer.....	26
Figure 16 : Schéma récapitulatif des étapes de la détermination de l'activité antibactérienne	29
Figure 17 : Schéma récapitulatif des étapes de détermination de l'activité antibiofilms.	31
Figure 18 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	32
Figure 19 : Courbe d'étalon de la quercétine.....	34
Figure 20 : Courbe d'étalonnage à l'acide tannique.....	36
Figure 21 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique	37
Figure 22 : Evaluation du pouvoir réducteur (FRAP) de l'acide ascorbique et de l'extrait brut EAR	39

- Figure 23 :** Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition en (mm) de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'olivier de Laperrine sur milieu solide en fonction des souches bactériennes. 42
- Figure 24 :** Figure résumant les résultats du test antibactérien des deux souches bactériennes testées sur le milieu MH de notre extrait EAR. **A :** Résultat du test antibactérien *E.coli* C1; **B :** Résultat du test antibactérien *E.coli* C2; **C :** Résultat du test antibactérien *S.aureus* C1 ; **D :** Résultat du test antibactérien *S.aureus* C2..... 44
- Figure 25 :** Résultat du criblage de la production de biofilm sur Rouge Congo. **A :** *S.aureus* productrice de biofilm (colonies noires) ; **B :** *E.coli* non productrice (colonies rouges) 45
- Figure 26 :** Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition (*S.aureus* sur RCA). 46
- Figure 27 :** Résultats de l'activité antibiofilm sur milieu Rouge Congo Agar. **A :** Zone d'inhibition au tour du disque imbibé de l'extrait EAR C1 ; **B :** Zone d'inhibition au tour du disque imbibé de l'extrait EAR C2. 47

Tableau I : Sous-espèces du complexe taxonomique <i>Olea europaea</i> (Green, 2002).....	4
Tableau II : Position systématique de l'olivier de Laperrine.....	5
Tableau III : Les principales classes des composés phénoliques (Boubekri, 2014).....	11
Tableau IV : Résultats des différentes teneurs en PPT, FT, TT.....	33
Tableau V : Résultats des différentes teneurs en PPT, FT, TT, des différents organes de l'olivier de Laperrine.	33
Tableau VI : Comparaison des résultats du test CAT de l'extrait aqueux des racines et les résultats obtenus à partir des extraits de différents organes de l'olivier de Laperrine.....	38
Tableau VII : Comparaison des résultats du test FRAP de l'extrait aqueux des racines et les résultats obtenus à partir des extraits de différents organes de l'olivier de Laperrine.....	40
Tableau VIII : Degrés de sensibilité des souches bactériennes testées.....	41
Tableau IX : Résultats de l'inhibition de biofilm de l'extrait aqueux des racines interprétés selon Ponce et <i>al.</i> 2003.	46

Introduction générale

Le Sahara est le plus grand désert du monde, il couvre plus de 9.4 millions km² d'Afrique du nord. Le nombre d'espèces qu'il comprend est limité, mais quelques taxons endémiques sont signalés dont l'olivier de Laperrine (*Olea europaea* subsp. *laperrinei*). Cet arbre appartient à la famille des *Oleaceae*, il est caractérisé par sa grande résistance aux conditions climatiques extrêmes auxquelles il est soumis telles que les températures élevées, l'exposition solaire soutenue et la sécheresse (Besnard et *al.*, 2012). Cela a pour conséquence la biosynthèse des métabolites secondaires. Ces derniers jouent un rôle important dans la capacité adaptative de la plante à son milieu.

Les antibiotiques représentent de nos jours un réel problème, en effet ils sont responsables de l'apparition d'une multi-résistance chez les bactéries de par leur utilisation abusive. Certaines bactéries manifestent une résistance totale à toute thérapie antibiotique. Ainsi, la recherche de nouvelles molécules comme alternative aux molécules chimiques fait appel aux biomolécules végétales à effet antibactériens. Par ailleurs, lors de leur attachement à un support biotique ou abiotique, les biofilms sont impossibles à éradiquer. L'inhibition de leur formation devient de plus en plus difficile en raison de l'antibiorésistance des bactéries. Parmi les souches bactériennes formatrices de biofilms, nous citons *Staphylococcus aureus* qui peut causer des dangers mortels dans les milieux hospitaliers. Dans le but de remédier à ce problème, les recherches s'orientent vers les molécules biologiques d'origine végétale.

L'olivier est reconnu pour ses innombrables vertus pour la santé humaine, et pour sa richesse en composés phénoliques qui représentent l'une des principales classes des métabolites secondaires. Ils ont un grand pouvoir antioxydant, ils sont anticancéreux, antimicrobiens, jouent un rôle important, dans la lutte contre les maladies cardiovasculaires, inflammatoires... (Guillouty, 2016). Par ailleurs, ils jouent un rôle important en tant qu'antibiofilms.

Les polyphénols exercent une activité antioxydante par leur capacité à piéger les espèces radicalaires et la chélation des métaux de transition tels que le fer et le cuivre, ce qui entraîne une inhibition de la réaction de Fenton et par conséquent la formation de radicaux libres dans les milieux physiologiques (Pietta, 2000). Ainsi, l'exploitation des biomolécules constitutives des extraits de plantes devient une alternative thérapeutique incontournable aux molécules synthétiques de par leur effet secondaire limités ou inexistant. Leur étude est parmi les objectifs prioritaires pour les recherches scientifiques et les industries alimentaires et pharmaceutiques.

Notre travail consiste à caractériser l'extrait aqueux des racines de l'olivier de Laperrine à travers une analyse quantitative et une évaluation de deux activités antioxydantes (CAT et FRAP). Ce travail est complété par une évaluation de l'activité antibactérienne et antibiofilms.

Notre mémoire est structuré en trois chapitres :

- Le chapitre I illustre la description botanique et écologique de l'olivier de Laperrine, donne des généralités sur les radicaux libres et les composés phénoliques et définit les biofilms.
- Le chapitre II est relatif à l'ensemble des techniques sur lesquelles se base notre expérimentation.
- Dans le chapitre III, nous discutons les résultats obtenus.

Nous terminons notre discussion par une conclusion générale et la présentation de quelques perspectives.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

Première partie
Présentation de l'olivier de
Laperrine

1-Caractéristiques générales de l'olivier de Laperrine

Olea europaea subsp. *laperrinei*, ou olivier de Laperrine, est une *Oleaceae*, endémique des régions montagneuses du Sahara central (Baali-Cherif et *al.*, 2007).

En Algérie, elle se localise dans les massifs du Hoggar, du Mouydir, du Tafedest et du Tassili n'Ajjer (Fig.1). Les populations de ce taxon relictuel sont en déclin depuis les changements climatiques du Pléistocène. De plus, cette sous-espèce ne montre aucun signe de régénération naturelle récente, en conséquence, elle est localement menacée (Baali-Cherif et *al.*, 2007).



Figure 1 : L'olivier de Laperrine (Baali-Cherif, 2007).

L'olivier de Laperrine est tolérant et résiste à la sécheresse, cette qualité fait de lui une ressource génétique importante qui pourrait potentiellement être utilisée comme porte greffe des différentes variétés d'olivier cultivées dans les régions arides. Son existence depuis des milliers d'années dans un environnement vaste et isolé avec des échanges génétiques très limités entre les populations se traduit par un patrimoine génétique hautement conservé (Baali-Cherif, 2007).

L'olivier de Laperrine représente l'une des six sous-espèces du complexe taxonomique *Olea europaea* défini par Green (2002) (Tab.I).

Tableau I : Sous-espèces du complexe taxonomique *Olea europaea* (Green, 2002).

Sous-espèces de <i>Olea europaea</i>	Localisation
<i>Olea europaea</i> subsp. <i>europaea</i>	Caractéristique du bassin méditerranéen, dont deux variétés cultivées et désignées sous le nom d'oléastre, l'olivier (var. <i>europaea</i>) et la variété sauvages (var. <i>sylvestris</i>).
<i>Olea europaea</i> subsp. <i>cupidata</i>	La plus répandue dans le monde, présente dans toute l'Afrique et dans de nombreuses régions arides d'Asie, de l'Arabie saoudite jusqu'en Chine (Wall et Don) cif. (1942)
<i>Olea europaea</i> subsp. <i>cerasiformis</i>	Endémique de Madère
<i>Olea europaea</i> subsp. <i>guanchica</i>	Endémique des îles canaries
<i>Olea europaea</i> subsp. <i>laperrinei</i>	Présente dans les montagnes sahariennes (Battandier et Trabut, 1911)
<i>Olea europaea</i> subsp. <i>maroccana</i>	Représentée par une population isolée du haut Atlas marocain (Greuter et Burdet) (Vargas et <i>al.</i> , 2001)

1-1- Classification

Cronquist (1981), classe l'olivier de Laperrine dans la famille des *Oleaceae* (Tab.II).

Tableau II : Position systématique de l'olivier de Laperrine.

Règne	Plantae
Sous Règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	Scroprulariales
Famille	<i>Oleaceae</i>
Genre	<i>Olea</i>
Espèce	<i>Europaea</i>
Sous espèce	<i>O. e.laperrinei</i>

1-2-Description botanique

1-2-1- Appareil végétatif

L'olivier de Laperrine sous forme de pied franc est rarement trouvé, le plus commun est sous une forme buissonnante formée de 3 à 6 rejets (Baali-Cherif ,2007).

Selon Battandier et Trabut (1911), les oliviers Laperrine sont généralement représentés par des individus avec une taille moyenne des rejets comprise entre 1,5 à 4 m de haut et un tronc d'environ 0,4 à 0,5 m de diamètre.

L'olivier prend l'allure soit d'un arbuste à rameaux intriqués, soit d'un arbre au tronc noueux. Les rameaux feuillés forment un enchevêtrement serré caractéristique de l'action anthropique, fourrage aux animaux (Benichou, 1962).

Les feuilles sont coriaces, opposées et entières portées par des rameaux qui sont grêles et flexibles (Fig.2A). Elles présentent une forme lancéolée-linéaire de 4 à 6 cm de long et 0,5 à 0,7 cm de largeur en moyenne. Une couleur verte cendrée sur la face supérieure, argentée sur la face inférieure (Fig.2B). La surface foliaire est réduite, limitant les pertes en eau (Baali-Cherif et Besnard, 2005).

Ainsi, le système racinaire adapté de ce taxon lui permet d'absorber l'eau à des grandes profondeurs (Baali-Cherif et Besnard, 2005).

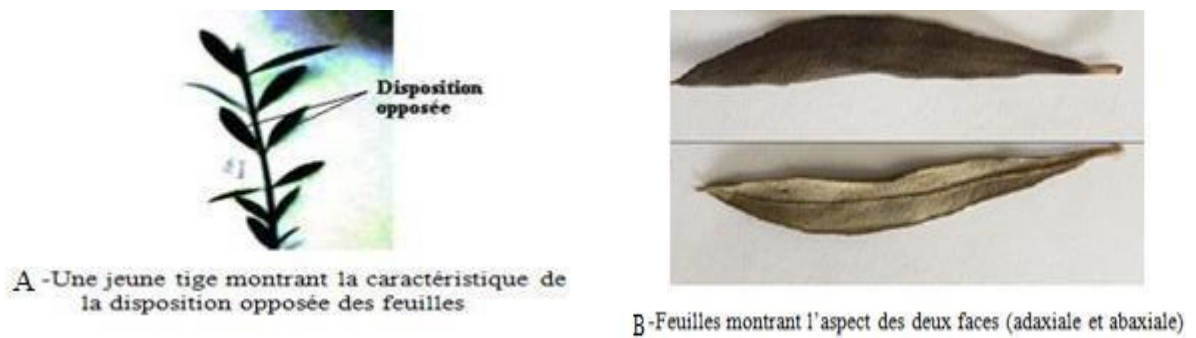


Figure 2 : Caractères morphologiques des feuilles de l'olivier de Laperrine

A : Disposition opposée des feuilles (Baali-Cherif, 2007) ; **B :** Face supérieure et face inférieures des feuilles (Dr Lahcene, 2020).

1-2-2-Appareil reproducteur

L'inflorescence de l'olivier de Laperrine est caractérisée par une grappe, flexible comportant un axe principal avec 2 à 4 ramifications secondaires.

Les fleurs sont axillaires de 4 à 6 mm de diamètre, de couleur blanchâtre avec des bractéoles présentes et bien développée (Fig. 3). L'olivier du sud porte rarement des fruits (Baali-Cherif et Besnard, 2005) et peu arbres produisent des graines (Besnard et *al.*, 2007).

Les fruits ou les olives sont rassemblés en panicules, de forme ovoïde à sphérique, mesurant 4 à 5 mm de diamètre et 5 à 8 mm de longueur. La pulpe est de couleur violète (Medail et *al.*, 2001).



Figure 3 : Représentation des fleurs de l'olivier de Laperrine ; **I :** Inflorescence ; **F :** Fleur (Photo Dr Lahcene, 2021).

Au cours de la maturation, les olives passent d'une couleur vert tendre (Fig.4A) à une couleur noirâtre (Fig.4B). Le mésocarpe est charnu et mou, contenant un noyau très dur à endocarpe scarifié renfermant 1 à 2 graines.



Figure 4 : Représentation du fruit de l'olivier de Laperrine ; **A** : Etat immature ; **B** : Etat mature (Photo Dr Lahcene, 2021).

Deuxième partie
Synthèse sur les radicaux libres et composés
phénoliques

1-Généralités sur les radicaux libres

L'oxygène est indispensable à la vie. En effet, c'est cette molécule qui fournit de l'énergie à l'être humain grâce à son rôle d'accepteur final d'électron au sein de la mitochondrie (Guillouty, 2016). Dans les conditions physiologiques environ 1 à 3 % de l'oxygène consommé par les mitochondries sont incomplètement réduits et produisent des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Garait, 2006). Ces derniers sont impliqués dans la dégradation des biomolécules, tel que les lipides, les protéines et l'ADN (Favier, 2006).

Les ERO sont physiologiquement et continuellement produits par des organismes aérobies, en particulier par la respiration mitochondriale et la phagocytose. Elles peuvent également être le résultat de facteurs externes comme les rayonnements UV, la pollution, le tabac et l'alcool ainsi que certains herbicides et pesticides.

Selon Droge (2002), les antioxydants sont des substances qui, à des concentrations relativement faibles, peuvent entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ralentir ou empêcher l'oxydation de ces substrats.

Les radicaux libres sont des molécules avec un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe (Bouchouka, 2016). La présence d'électrons non appariés rend ces molécules très instables et très réactives (Carange, 2010).

La figure 5 résume les principales ERO.

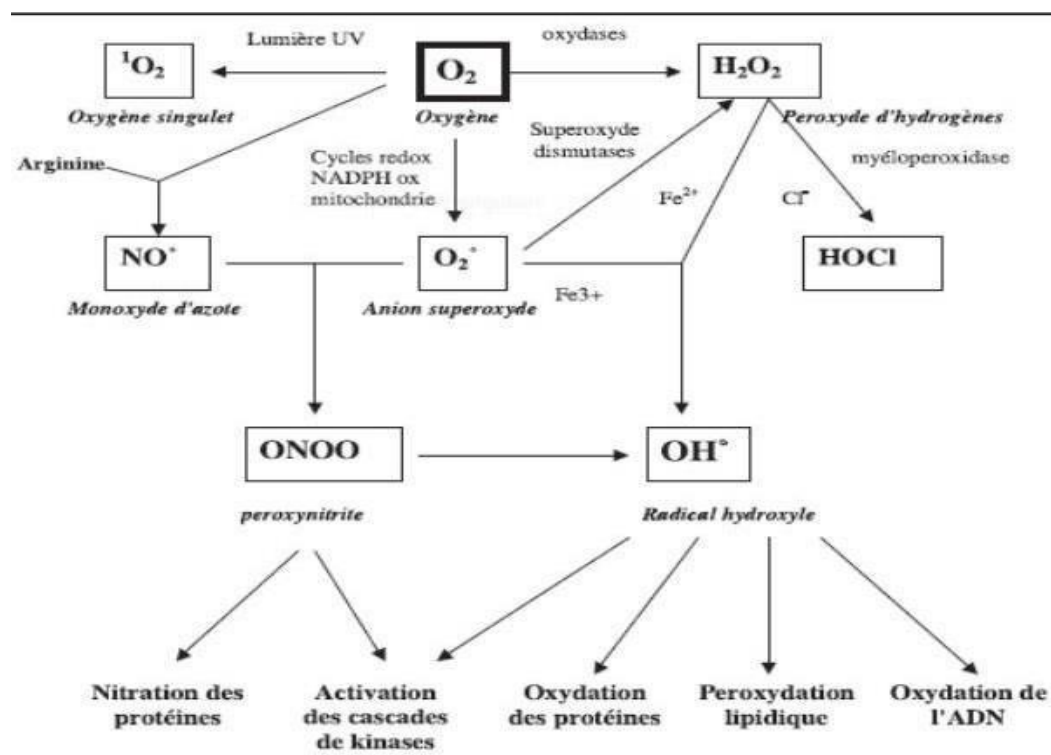


Figure 5 : Origine des différentes espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2006).

Les radicaux libres agissent comme des accepteurs d'électrons, volant ainsi des électrons à d'autres molécules pour atteindre un état stable. Cette perte caractéristique d'électrons correspond à un phénomène d'oxydation, ainsi, les radicaux libres incitent les molécules à donner des électrons et sont donc considérés comme des agents oxydants (Carange, 2010).

La production de ces radicaux se fait naturellement chez les organismes, ce mécanisme est régulé par de nombreux processus de détoxification chimiques ou enzymatiques. En effet, l'organisme possède ses propres mécanismes de défense qui lui permettent de lutter contre les radicaux libres (Hadj Salem, 2009).

Le stress oxydant survient lorsque ce système de protection perd de son efficacité, en cas d'altérations des mécanismes de défense, telles que des mutations, inactivation enzymatique, carences en vitamines...etc., ou en cas de forte augmentation du nombre de radicaux libres (Fig.6).

Ce dernier est responsable de pathologies graves chez l'homme (Hadj Salem, 2009), à titre d'exemples de nombreuses maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson, Huntington...), les maladies cardiovasculaires et inflammatoires, le diabète, certains cancers, le vieillissement cellulaire. (Favier, 2006 ; Richard, 2013).

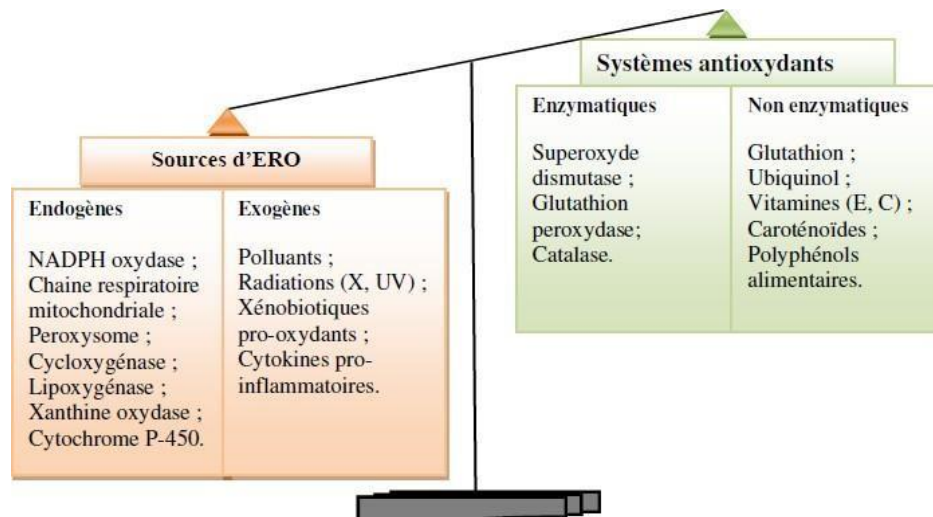


Figure 6 : Déséquilibre de la balance entre oxydants et antioxydants provoquant le stress oxydant (Rahman et al., 2012).

2-Généralités sur les polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires propres règne végétal. Ces biomolécules représentent une large gamme de substances chimiques (Bruneton, 1993). Les composés phénoliques ne sont pas directement impliqués dans la croissance et la reproduction des plantes. Cependant, ils jouent un rôle important dans l'interaction des plantes avec leur environnement (Patra et Saxena, 2010), intervenant dans la protection des végétaux contre les insectes, les herbivores et le rayonnement ultraviolet solaire. Ils jouent également un rôle attractif vis-à-vis de la pollinisation des insectes (Houdjedje et Mehimmedtsi, 2018).

Structurellement, ils contiennent un noyau benzénique aromatique (Urquia et Leighton, 2000 ; Frankel et *al.*, 1998 ; Chira et *al.*, 2008) avec au moins un groupe hydroxyle directement lié, libre ou impliqué dans une fonction éther, ester ou hétéroside. Ces groupements hydroxyles permettent la polymérisation de composés phénoliques simples pour donner des phénols complexes ou polymérisés (Nagendran, 2006). Les composés phénoliques sont synthétisés dans le cytosol. Certains enzymes impliqués dans la biosynthèse des phénylpropanoïdes sont liés à la membrane du réticulum endoplasmique, où ils s'organisent en métabolones (Bénard, 2009). Ils sont principalement synthétisés via la voie du shikimate (Hoffmann, 2003). Ils sont présents dans toutes les parties de la plante, des racines aux fruits, mais diffèrent par leur distribution quantitative dans différents organes et tissus (Madi, 2018). Les polyphénols sont principalement distribués dans deux compartiments, la vacuole et la paroi (Bénard, 2009).

Ces composés forment une grande famille de plus de 8000 composés chimiques (Bouchouka, 2016) classés en deux groupes : les composés flavonoïdes et les composés non flavonoïdes, dont les tanins (Cathy, 2008). Boubekri (2014), les a organisés en 8 classes selon leurs structures chimiques globales comme le montre le tableau III

Tableau III : Les principales classes des composés phénoliques (Boubekri, 2014).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C6	Phénols simple	Catéchol	Nombreuses espèces
C6-C3	Acides hydroxy-benzoïques	p-Hydrox benzoïques	Epices, fraise
C6-C3	Acides hydroxy-cinnamique	Acide caféique, acide Férulique, esculétine, Scopolétine	Pomme de terre, Pomme Citrus
C6-C2-C6	Silènes	Resvératrol	Vigne
C6-C3-C6	Flavonoïdes : • Flavonols • Anthocyanes • Flavanols • Flavanones • Isoflavonols	Kamphérol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Epicatéchine, Catéchine Naringénine Daidzéine	Fruits, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Pomme, raisin Citrus Soja
(C6-C3)₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C6-C3)_n	Lignines		Bois, noyau de fruits
(C15)_n	Tannins		Raisin rouge, kaki

2-1-Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent la majorité des composés phénoliques caractérisés par un faible poids moléculaire. Les flavonoïdes sont responsables de la pigmentation des plantes, ces pigments sont responsables de la coloration (jaune, orange et rouge) de divers organes végétaux (Chdira, 2005).

Tous les flavonoïdes ont la même structure de base (squelette) avec 15 atomes de carbone combinés à une configuration C₆-C₃-C₆ (Tapas *et al.*, 2008), constitué de deux noyaux benzéniques A et B accolés par un cycle pyranique central (Fig. 7).

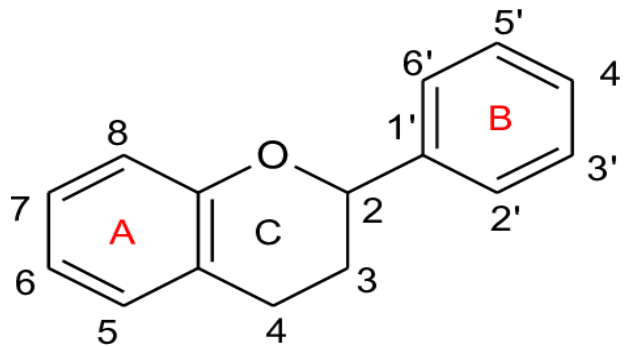


Figure 7 : Structure des bases des flavonoïdes (Abedini, 2013).

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes (Fig. 8) telles que : les flavones, les flavonols, les flavon-3-ols, les isoflavones, les anthocyanidines (Chira, 2008).

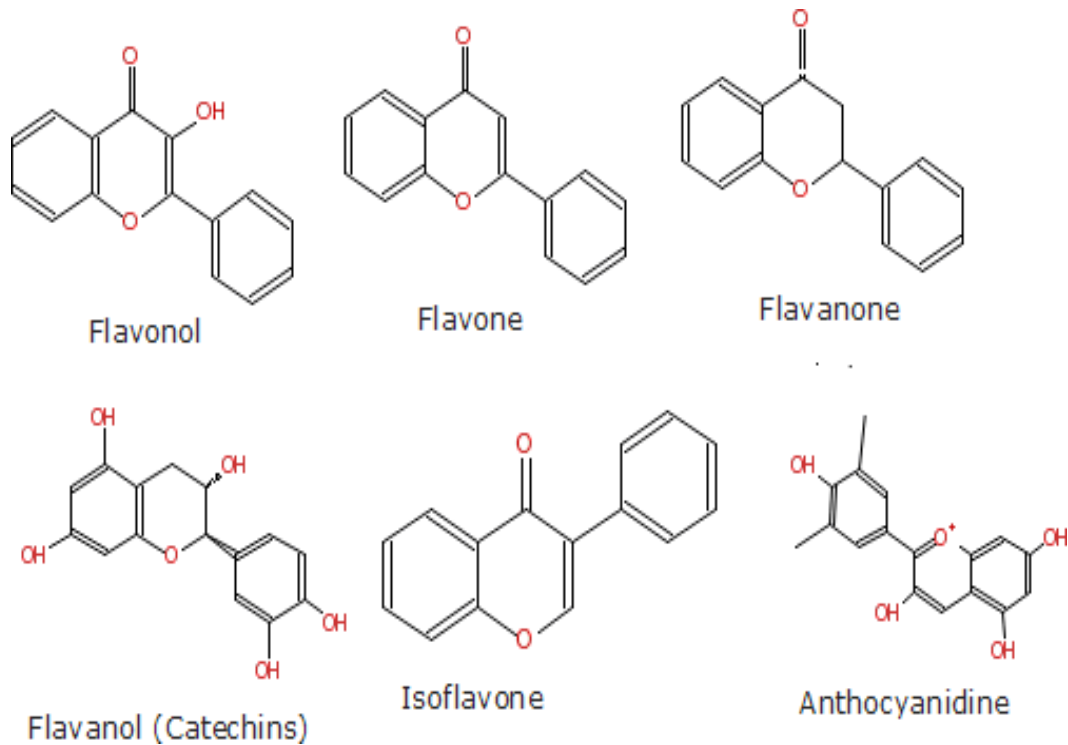


Figure 8 : Structure de différentes familles de flavonoïdes.

2-1-1- Rôle des flavonoïdes

Les flavonoïdes agissent comme catalyseurs de la photosynthèse et/ou en tant que régulateurs des canaux ioniques impliqués dans la phosphorylation. Ils fonctionnent également comme des protecteurs du stress oxydatif dans les cellules végétales en piégeant les espèces réactives à l'oxygène et à l'azote, produites par le système de transport d'électrons photosynthétiques (Pietta, 2000 ; Stalikas, 2007). Leurs goûts désagréables repoussent les herbivores et agissent comme un protecteur pour les plantes. Certaines d'entre eux agissent aussi comme des phytoalexines, des métabolites que les plantes synthétisent en grande quantité pour combattre les infections causées par des champignons ou des bactéries (Wetterson et Butler, 1983).

Selon Guillouty (2016), les régimes riches en flavonoïdes ont des effets bénéfiques sur la santé humaine. De nombreuses études ont montré que les flavonoïdes réduisent l'incidence de nombreuses maladies telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et antivirales (Hanhineva, 2010). En outre, leurs propriétés antioxydantes (Pisoschi et *al.*, 2009), antimicrobiennes (Yala et *al.*, 2001) et anti-inflammatoires leur confèrent la capacité d'être utilisé comme agent prophylactique contre certains types de cancer, l'athérosclérose, l'obésité et le diabète (Stagos et *al.*, 2012 ; Leonoudakis et *al.*, 2017).

2-2-Les tannins

Une propriété majeure de ces substances est leur capacité à lier de grosses molécules comme les protéines (Hagerman et Butler, 1978 ; Mc Manus et *al.*, 1981).

Deux groupes de tannins, distingués par leur structure et leur origine biogénétique, sont :

2-2-1-Les tannins hydrolysables

Ces tannins sont des dimères d'acides galliques condensés sur un dérivé glycosyle, ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphéniques. Comme leur nom l'indique, ces tannins sont facilement sensibles à l'hydrolyse acide et basique et sont hydrolysés par action enzymatique et aqueuse à l'eau chaude (Conrad et *al.*, 1998).

2-2-2-Les tannins condensés

Les tannins condensés sont des polyphénols de masse molaire élevée. Ils proviennent principalement de la polymérisation auto-oxydative ou enzymatique des unités de flavon-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C₄-C₈ des unités adjacentes (Wollgast et Anklam, 2000). Leurs structures chimiques sont très diverses, mais ils contiennent toujours des groupements polyphénoliques. Ils peuvent donc être classés comme suit : *tannins hydrolysables*, qui produisent de l'acide gallique ou de l'acide ellagique après l'hydrolyse ; *tannins condensés*, non hydrolysables, qui produisent du pyrocatechol après oxydation (Kholkhal, 2014).

2-2-3-Rôle des tannins

La synthèse des tannins par les végétaux est un des mécanismes de défense contre les agressions des phytopathogènes (bactéries, champignons, virus) et des prédateurs (Herbivores, insectes). Ils possèdent un large spectre d'activités biologiques, antibactériennes, antivirales antioxydantes (Rina, 2019). Selon, les recherches de Ray et *al.* (2000), ils jouent également un rôle dans la prévention des formes d'apoptose et de nécrose.

3- Activités biologiques des oliviers et de leurs extraits

De nombreuses études scientifiques ont montré qu'*Olea europaea* L. est une source naturelle des composés phénoliques dont un grand nombre présente un large éventail d'activités biologiques. L'olivier est utilisé en médecine traditionnelle, ses feuilles sont diurétiques et préconisées dans l'hypertension artérielle en infusion, elles réduisent la fièvre, la malaria (Lee et al., 2009) et le paludisme (Ferreira et al., 2007).

L'HPLC (chromatographie en phase liquide à haute performance) obtenue à partir des extraits de feuilles de l'olivier montre la présence de l'oleuropéine, l'hydroxytyrosol, la lutéoline, l'apigénine, la catéchine, la vanilline, la rutine, l'acide vanillique, l'acide caféique, le tyrosol et la lutéoline, elles sont caractérisées par des activités antifongiques, antidiabétiques, hypoglycémiantes et hypotensives (Benavente-Garcia et al., 2000 ; Lahcene et al., 2018).

De nombreuses études ont montré que l'olivier représente une source très riche en composés phénoliques et possède de nombreuses propriétés biologiques liées au pouvoir antioxydant des constituants actifs de ses extraits et leur rôle en tant que piègeurs de radicaux libres (Le Tutour et Guedon, 1992 ; Caturla et al., 2005 ; Visioli et Galli, 2002 ; Bouaziz et Sayadi, 2005 ; Lahcene, 2020).

Troisième partie
Synthèse sur les biofilms

Introduction

Au cours des dernières décennies, la santé mondiale fait face à une crise d'antibiotiques due à l'émergence et à la propagation de la résistance aux antimicrobiens. En raison de l'utilisation fréquente et irrationnelle d'antibiotiques ayant entraîné une forte adaptation des souches bactériennes. Les pays en voie de développements présentent un facteur aggravant du fait de l'accès libre aux antibiotiques.

Ce qui implique donc le développement de souches de microorganismes multirésistant vivants dans un bouclier protecteur appelé biofilms, ce sont des agrégats multicellulaires enfermés dans une matrice biopolymère auto-créée. Les biofilms représentent un problème de santé publique mondial, car ils permettent aux microorganismes d'échapper aux mécanismes de défense produits par des sources hôtes et synthétiques (Hamed et *al.*, 2019). Il est certain que la formation de biofilms peut être le mode de vie bactérien préféré dans la nature puisque les bactéries adhèrent facilement à la plupart des surfaces biotiques et abiotiques (Kierek-Pearson et *al.*, 2005).

Ainsi, le biofilm a un impact considérable dans le domaine de la médecine, notamment, les infections nosocomiales liées aux dispositifs à demeure tels que les cathéters, les implants, les valves cardiaques artificielles et les prothèses articulaires. En effet, la formation de biofilm est un mécanisme adaptatif des cellules bactériennes, leur permettant de survivre et de persister dans des environnements hostiles (Koo et *al.* 2017).

Le développement d'alternatives aux antibiotiques pour l'inhibition et l'éradication de la formation de biofilms est une préoccupation majeure. C'est pourquoi, l'utilisation des produits naturels trouve de plus en plus d'applications en raison de leurs fonctions biologiques et écologiques de régulation des interactions entre microorganismes.

Plusieurs études ont mis en évidence l'activité antibiofilm des polyphénols. Leur activité sur la croissance bactérienne étant principalement liée à la souche, à la structure des polyphénols et à la dose.

Il a été rapporté que des extraits de plantes, riches en polyphénols, inhibent la formation de biofilms (Federico et *al.*, 2019).

1- Définition

Les biofilms sont définis comme étant des couches protectrices polymériques extracellulaires sur des surfaces biotiques ou abiotiques, dans lesquelles les bactéries se multiplient. Ces dernières sont recouvertes d'une matrice autoproduite, composée de polysaccharides intercellulaires bactériens, de protéines et d'acides nucléiques libérés de manière extracellulaire (Slobodníková *et al.*, 2016 ; Yum *et al.*, 2022 ; Koudoro *et al.*, 2022). Les biofilms représentent des communautés organisées et complexes de cellules bactérienne (Federico *et al.*, 2019), qui peuvent être constitués d'une ou plusieurs espèces de micro-organismes (Behlau et Gilmore, 2008).

Ils sont constitués d'un assemblage de microorganismes séparés par des espaces dépourvus de bactéries et parcourus par des "canaux" qui agissent comme des courants aqueux, ceux-ci assurent la circulation des fluides, fournissent les nutriments aux bactéries et permet à la fois l'élimination de leurs produits de dégradation (Roux et Gigot, 2006).

2- Étapes de formation du biofilm

La formation de biofilm bactérien est un processus dynamique et complexe qui implique de nombreuses étapes moléculaires et biochimiques, ce processus se déroule en quatre étapes principales (Fig.9) : l'adhésion, la colonisation, la maturation et la dispersion (Yin *et al.*, 2019 ; Vanzielegem et Delmée, 2020 ; Guzmán-Soto *et al.*, 2021).

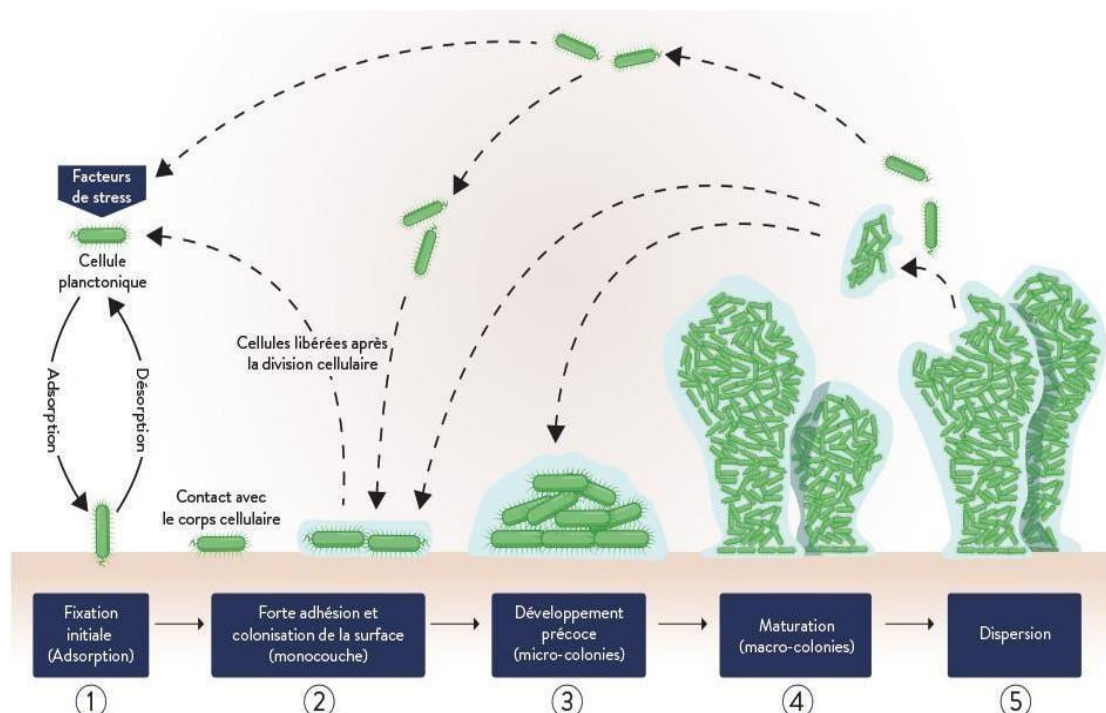


Figure 9 : Représentation schématique de la formation d'un biofilm d'une espèce bactérienne sur une surface solide, (1) : Fixation initiale (adsorption), (2) : Adhésion ; (3) : Formation de microcolonies, (4) : Maturation, (5) : Dispersion (Guzmán-Soto *et al.*, 2021).

La première étape consiste à former un film primaire ou « film conditionnant », il s'agit d'une adsorption des molécules du milieu liquide sur une surface, ceci a lieu spontanément et rapidement après l'exposition à un support (Othmani, 2014). Une fois le support fixé, les bactéries peuvent se déplacer sur la surface par deux stratégies, l'une est dite passive qui correspond à un rapprochement aléatoire des bactéries résultant d'une sédimentation par mouvement brownien et une force de gravité entraînée sur tout le corps, bien que le milieu dans lequel les bactéries évoluent (viscosité du milieu, force ionique) intervient dans le rapprochement des bactéries sur la surface (Banks et Bryers 1992). La deuxième est dite active, elle est fondée sur la motilité et chimiotactisme bactériens par l'utilisation des pili et flagelles (O'Toole et Kolter, 1998 ; Harshey, 2003 ; Klausen *et al.*, 2003 ; Verstraeten *et al.*, 2008).

Une fois, les bactéries fixées et en mouvement sur la surface, elles adhèrent aux surfaces grâce à deux types d'adhésion réversible et irréversible (Hori et Matsumoto, 2010). L'adhésion irréversible implique des interactions spécifiques entre les molécules de surface de la bactérie et les ligands de la surface solide (An et Friedman, 1998). Les cellules bactériennes peuvent produire des adhésines, des protéines qui se lient spécifiquement aux ligands de la surface solide (Flemming *et al.*, 2016). L'adhésion réversible est principalement due aux forces physiques, telles que la force de Van der Waals, la force d'attraction électrostatique et la force d'attraction de la surface hydrophobe (Flemming *et al.*, 2016). La composition du milieu de culture peut également influencer l'adhésion bactérienne (An et Friedman, 1998). Par exemple, l'ajout d'ions de calcium au milieu de culture a été montré pour augmenter l'adhésion bactérienne (Flemming *et al.*, 2016).

Après l'adhésion, les bactéries commencent à former des microcolonies sur la surface solide. Ces dernières sont constituées de cellules bactériennes agrégées maintenues par des liaisons cellulaires et des interactions physico-chimiques. Au fil du temps, les microcolonies se développent et se fusionnent pour former un biofilm mature (Hall-Stoodley *et al.*, 2004). Pendant cette phase, le biofilm se structure et des canaux d'eau et de nutriments se forment. Les bactéries commencent à produire une matrice extracellulaire qui est composée de polysaccharides, de protéines, de lipides. Cette matrice fournit un environnement protecteur pour les bactéries et favorise leur croissance (Flemming et Wingender, 2010). Elles deviennent également plus résistante aux agents antimicrobiens et au système immunitaire de l'hôte (Flemming *et al.*, 2016).

Le biofilm subit une maturation puis un détachement et donc sa dispersion dans le milieu environnant, ceci peut être déclenché par des signaux environnementaux tels que les gradients de nutriments, les modifications de pH ou les perturbations mécaniques, mais aussi la synthèse et sécrétion d'enzymes de dégradation de la matrice (nucléases, glycosidases, protéases) et la modification de surface des bactéries (Tremblay *et al.*, 2014 ; Aumeran *et al.*, 2020).

Il existe plusieurs mécanismes moléculaires connus pouvant réguler la dispersion des biofilms. Séviour et *al.* (2021) ont montré que les bactéries du biofilm peuvent libérer des enzymes telles que les DNases pour cliver l'ADN extracellulaire que possède le biofilm. Les cellules bactériennes du biofilm peuvent également produire des molécules de signalisation telles que les auto-inducteurs (AHL) pour réguler la dispersion (McDougald et *al.*, 2011).

Les mécanismes moléculaires impliqués dans la dispersion sont complexes et peuvent varier en fonction de l'espèce bactérienne et des conditions environnementales (McDougald et *al.*, 2011). La dispersion peut avoir des implications importantes pour la santé publique, car elle peut contribuer à la transmission des infections bactériennes (Aumeran et *al.*, 2020).

3- Facteurs favorisant la formation de biofilm

3-1- Caractéristiques du milieu et de la surface

Les conditions environnementales, telles que la température, le pH, la salinité, les surfaces d'adhésion, la présence de composés bactéricides, hydrodynamique du fluide, la concentration en oxygène, concentration en nutriments, les sources de carbone disponibles...etc., peuvent avoir un impact significatif sur la formation et la structure des biofilms bactériens (Hamadi et *al.*, 2004 ; Branger et *al.*, 2007 ; Martinez et Casadevall, 2007 ; Dumas, 2007 ; Marchal, 2010).

Les bactéries ont besoin de nutriments pour leur croissance. La disponibilité de ces derniers joue un rôle clé dans la régulation de l'adhésion bactérienne et la formation de biofilms, ceci en favorisant l'expression des gènes impliqués dans l'adhésion et en stimulant la production de polysaccharides extracellulaires (EPS), qui sont des composants clés des biofilms (Spormann, 2008). La présence de nutriments peut également être un facteur de risque pour la formation de biofilms pathogènes. Les environnements riches en nutriments, tels que les plaies ou les cathéters urinaires, peuvent favoriser la croissance et la prolifération de bactéries pathogènes formatrices des biofilms provoquant des infections chroniques et de graves problèmes de santé (Percival et *al.*, 2015).

La rugosité de la surface, la charge électrostatique et les propriétés hydrophobes peuvent toutes influencer l'adhérence bactérienne et la formation de biofilms (Byers, 2008). Les surfaces rugueuses et poreuses, telles que les implants médicaux, les prothèses et les cathéters, peuvent fournir des niches pour les bactéries et faciliter l'adhérence des bactéries, tandis que les surfaces lisses peuvent la rendre difficile (Stewart, 2003). Les surfaces hydrophobes favorisent la formation de biofilms par des souches pathogènes de *Pseudomonas aeruginosa* (Boles et *al.*, 2004).

Les variations de températures peuvent avoir un impact significatif sur la mobilité cellulaire et la production de flagelles, l'adhérence bactérienne et la production d'EPS (Dumas, 2007).

Ainsi, les fluctuations de pH peuvent influencer l'adhérence bactérienne et la production d'EPS, en affectant la charge de surface des microorganismes et des supports solides dû au déplacement des équilibres d'ionisation (protonation/déprotonation) des groupements fonctionnels exposés selon leur pKa (Hamadi et *al.*, 2004).

De plus, certains processus physiologiques des microorganismes sont dépendants du pH, c'est le cas de la synthèse de la matrice extracellulaire qui ne peut s'effectuer qu'à pH voisin de la neutralité, pour la plupart des bactéries (Garrett *et al.*, 2008 ; Martinez et Casadevall, 2007). Les variations de la salinité peuvent influencer l'adhérence bactérienne et la formation de biofilms en modifiant la charge de surface des bactéries et en affectant l'interaction bactérie-substrat.

3-2- La présence de différents microorganismes

Les biofilms peuvent être composés de différents microorganismes, y compris des bactéries, des champignons et des protozoaires. Ces microorganismes peuvent coopérer pour former des biofilms en partageant des nutriments, en prévoyant des conditions environnementales favorables et en évitant les mécanismes de défense de l'hôte (Donlan et Costerton, 2002).

Ces complexes de communautés microbiennes peuvent influencer l'adhérence et la croissance bactérienne, la production d'EPS, la structure et la stabilité du biofilm.

La présence de champignons peut favoriser la formation de biofilms bactériens en fournissant des nutriments, des sites de fixation et des substrats pour les bactéries (Ramage *et al.*, 2002 ; Harriott *et al.*, 2011). Les protozoaires sont également connus pour influencer la formation de biofilms bactériens, dû à leur capacité d'ingérer des bactéries, mais certaines espèces peuvent également fournir des sites de fixation pour les bactéries et stimuler la production d'EPS (Hentzer *et al.*, 2001 ; Abisado *et al.*, 2018).

3-3- Les communications cellulaires

Les interactions bactériennes jouent un rôle crucial dans la formation et la stabilité des biofilms.

Les bactéries communiquent entre elles par des signaux moléculaires, un processus appelé « Quorum Sensing ». Cette communication cellulaire leur permet de définir leurs activités et de réguler leur comportement en fonction de leur densité cellulaire.

Les molécules de signalisation peuvent activer l'expression de gènes impliqués dans la production de facteurs de virulence, la colonisation de surfaces et la formation de biofilms. (Waters et Bassler, 2005).

Les interactions bactériennes peuvent influencer la production et la composition de la matrice extracellulaire, en modifiant la signalisation « quorum sensing » ou en produisant des enzymes qui dégradent ou modifient la matrice (Hall-Stoodley *et al.*, 2009 ; Flemming et Wingender, 2010 ; Flemming *et al.*, 2016), facilitant ainsi la colonisation de nouvelles surfaces. Cependant, des interactions compétitives peuvent également avoir lieu, où des espèces bactériennes cherchent à dominer la colonisation de la surface, entraînant des conflits et des changements dans la structure du biofilm (Parsek *et al.*, 2005).

Chapitre II

Matériel et méthodes

2-1-Matériel

2-1-1-Matériel végétal

Les racines de l'olivier de Laperrine utilisées au cours de notre expérimentation, proviennent de la station de Tamanrasset. Notre matériel végétal est fourni par le Dr Lahcene (2021).

Les racines séchées sont broyées et conservées à l'obscurité et à température ambiante. La poudre obtenue servira pour les différentes extractions.

2-2-Méthodes

Les extractions et les divers protocoles visant à évaluer le potentiel antioxydant, antibactérien et antibiofilm des extraits de l'olivier de Laperrine ont été réalisés au niveau du laboratoire de recherche en biochimie analytique et biotechnologie (LABAB) de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

2-2-1- Procédure d'extraction

Nous avons procédé à la dissolution de 20 grammes de poudre racines dans 200 ml d'eau distillée. Après une macération pendant 24h à l'obscurité sous agitation (100rpm) à température ambiante, la phase aqueuse du macérât est filtrée sur papier Wattman n°1 (Aiche- Iratni et al., 2015 ; Moualek et al., 2016).

Le filtrat résultant de l'extraction est lyophilisé. La poudre végétale ainsi obtenue est conservée à l'obscurité à 4°C dans des flacons, hermétiquement fermés en vue de son utilisation ultérieure (Fig.10).

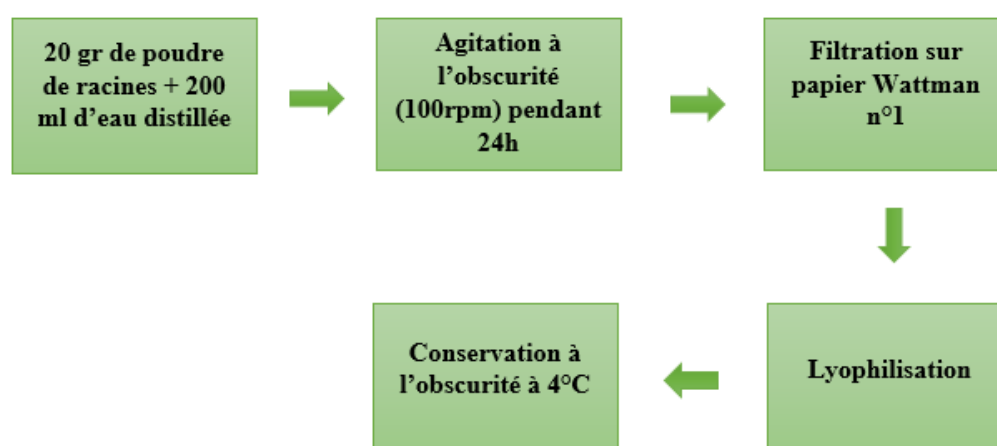


Figure 10 : Schéma représentant les différentes étapes de l'extraction aqueuse

2-2-2-Analyse quantitative

L'analyse quantitative est menée par une série de dosages spectrophotométriques UV-visible.

2-2-2-1-Détermination de la teneur en polyphénols totaux

Les phénols totaux sont estimés par la méthode au Folin-ciocalteu décrite par Singleton et Rossi (1965).

Les phénols présents dans les différents extraits subissent une réaction d'oxydation en présence du réactif de Folin-ciocalteu (RFC) aboutissant à une coloration bleue proportionnelle à la quantité de polyphénols contenus dans les extraits de racines d'olivier.

La teneur en polyphénols totaux est déterminée par extrapolation sur la courbe étalon, établie à partir d'une série de dilutions (10 -100 $\mu\text{g/ml}$) d'acide gallique servant de référence. Dans chaque tube à essai sont ajoutés 0,25 ml de l'échantillon à doser et 1,25 ml du réactif RFC (1/10) et 1 ml de carbonate de sodium (75 g/l). Les différentes solutions sont incubées à 40°C pendant 30 minutes. L'absorbance est par la suite mesurée à 765 nm par un spectrophotomètre Meline MD 2000 (Fig.11). La teneur polyphénols totaux est exprimée en milligramme équivalent acide gallique par gramme résidu sec (mg EAG/g RS).

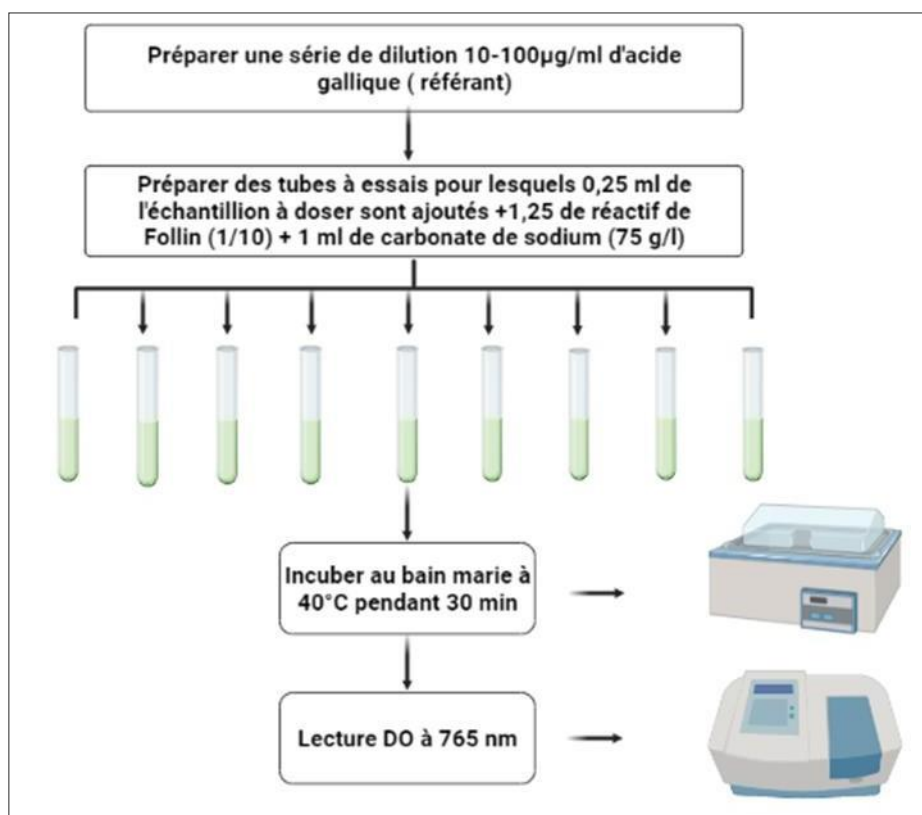


Figure 11 : Schéma récapitulatif des étapes du dosage des polyphénols totaux.

2-2-2-2-Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

La méthode utilisée est celle décrite par Chang et *al.* (2002). Elle est basée sur l'utilisation du chlorure d'aluminium donnant une coloration jaunâtre par chélation des flavonoïdes. Ainsi, à 0,5 ml de la solution de l'extrait, sont ajoutés 1,5 ml de méthanol, 0,1 ml de chlorure d'aluminium, 0,1 ml d'acétate de potassium et 2,8 ml d'eau distillée.

Le mélange est incubé pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 415 nm (Fig.12). Le courbe étalon est réalisé avec la quercétine (100 µg/ml), et l'équation de régression linéaire, permet de calculer la teneur totale en flavonoïdes exprimée en milligramme équivalent quercétine par gramme de résidu sec (mg EQ/g RS).

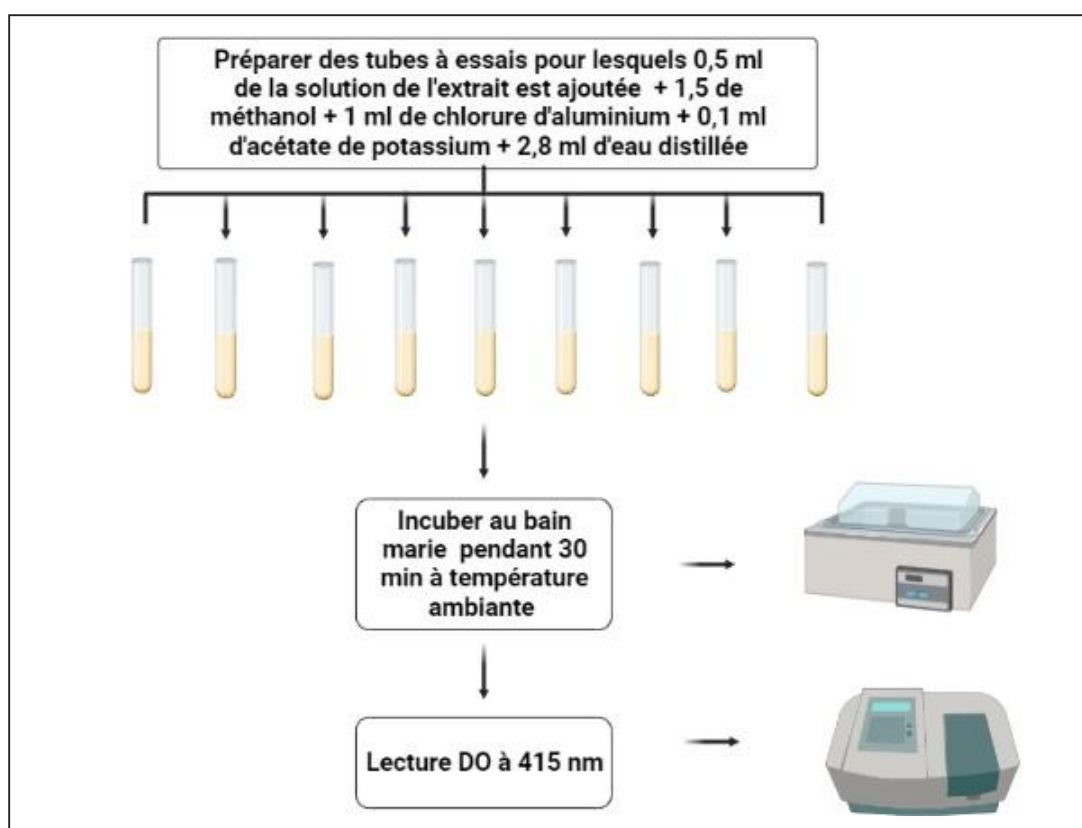


Figure 12 : Schéma récapitulatif des étapes du dosage des flavonoïdes totaux.

2-2-2-3-Détermination de la teneur en tannins totaux

Le dosage des tannins est réalisé selon le protocole mis au point par Hagerman et Butler (1978), (Fig.13). La teneur totale en tannins exprimée en milligramme équivalent acide tannique par gramme de résidu sec (mg EAT/g RS), est déterminée par l'utilisation de l'équation de régression linéaire obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide tannique.

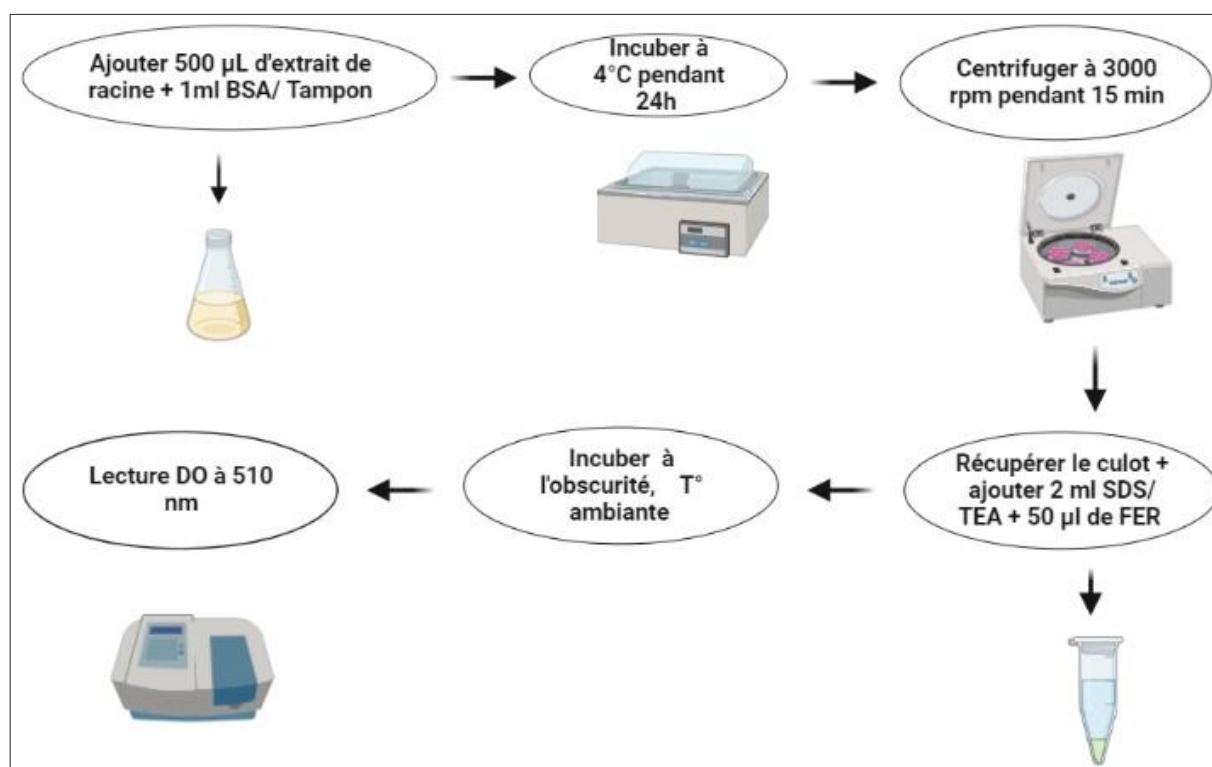


Figure 13 : Schéma récapitulatif des étapes du dosage des tannins totaux.

2-2-2-4- Activité antioxydante

Ce sont des méthodes spectrophotométriques le plus souvent utilisées pour l'évaluation des activités antioxydantes des extraits de fruits. Tous les tests sont répétés trois fois.

2-2-2-4-1-Capacité antioxydante totale ou test du phosphomolybdate

Le test du phosphomolybdate permet d'évaluer la capacité antioxydante totale des extraits végétaux. Il est basé sur la réduction des ions molybdate Mo (VI) en molybdène Mo(V).

La capacité antioxydante totale est estimée par le dosage du phosphomolybdène selon le protocole mis au point par Prieto et *al.* (1999). Le test consiste à mélanger 0,1 ml de l'extrait végétal à différentes concentrations (100-1600µg/ml) avec 1 ml du réactif de molybdate composé de 0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM NaH₂PO₄ et 4 Mm molybdate d'ammonium.

Après, une incubation de 90 minutes à 95°C et refroidissement du mélange à température ambiante, l'absorbance est lue à 695 nm (Fig.14). Le courbe étalon est établi avec l'acide ascorbique (20-140µg/ml), la droite de régression permet de calculer la teneur totale de la TAC. Cette dernière est exprimée en milligramme équivalent acide ascorbique par gramme d'extrait (mg EAA/g d'extrait).

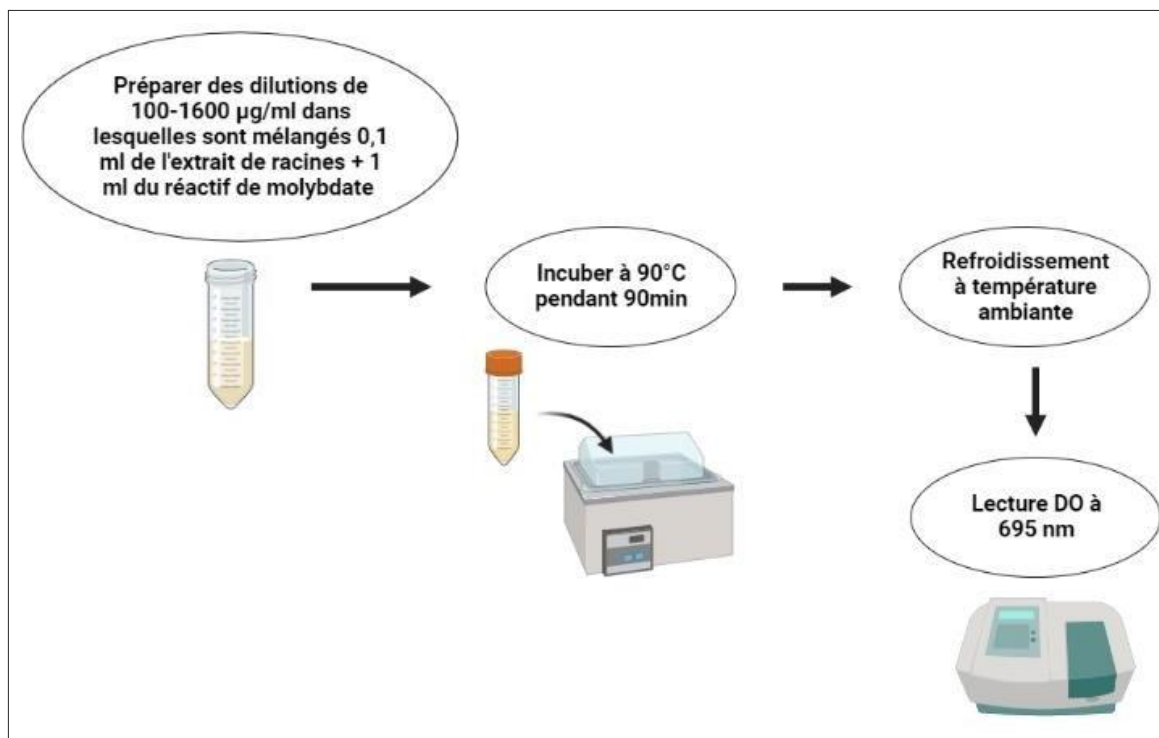


Figure 14 : Schéma récapitulatif des étapes du test de phosphomolybdate.

2-2-2-4-2-Détermination du pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des extraits est évalué selon la méthode d'Oyaizu (1986). Différentes concentrations d'extrait de racines d'olivier de Laperrine (100-800 µg/ml) sont préparées dans de l'eau distillée et mélangées avec 2,5 ml de tampon phosphate (200 mM, pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ (1% m/v). Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 minutes, puis 2,5 ml d'acide trichloracétique (10%) sont ajoutés. Le mélange est ensuite centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes.

Nous prenons 5 ml du surnageant que nous mélangeons à 5 ml d'eau distillée et 1 ml de $FeCl_3$ (0,1%). Enfin, l'absorbance est mesurée à 700 nm (Fig.15).

L'augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel indique une augmentation du pouvoir réducteur. L'acide ascorbique est utilisé comme témoin positif dans les mêmes conditions expérimentales.

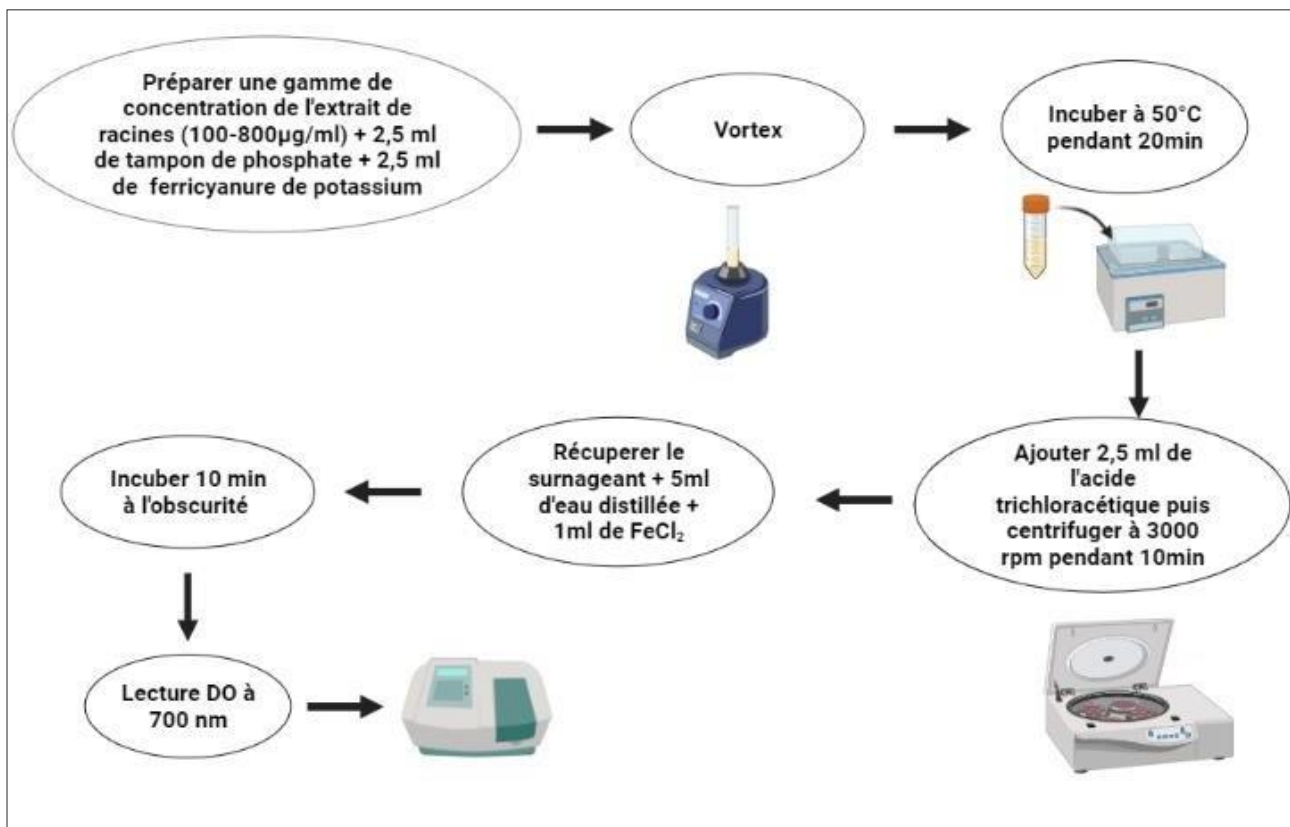


Figure 15 : Schéma récapitulatif des étapes de la détermination du pouvoir réducteur du Fer.

2-2-3- Activité antibactérienne et activité antibiofilm

Des extraits aqueux de racines d'olivier Laperrine ont été testés pour évaluer leur capacité à inhiber la croissance bactérienne et la formation de biofilm de deux souches (*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923).

Nous suivons la méthode de diffusion en milieu solide décrite par Benjillali *et al.* (1986) ; Treki *et al.* (2009) pour sa simplicité et son efficacité dans les tests de sensibilité bactérienne.

La méthode de diffusion sur gélose a été conçue essentiellement pour la réalisation des antibiogrammes, mais en remplaçant les disques d'antibiotiques par des disques imprégnés de la solution à tester (Schroeder et Messing, 1949).

La diffusion des extraits dans la gélose inhibera la croissance bactérienne dans le cas de potentielles activités antibactériennes et antibiofilms, ceci est révélé après incubation par un anneau clair autour du disque appelé halo ou zone d'inhibition.

La méthode suivie est validée par le LABAB à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

2-2-3-1- Souches bactériennes testées

Deux souches bactériennes ont été sélectionnées pour évaluer les activités antibactériennes et antibiofilms de l'extrait aqueux de racine d'*Olea europaea* subsp. *laperrinei*, *Escherichia coli* à Gram - (ATCC 25922) et *Staphylococcus aureus* à Gram + (ATCC 25923).

2-2-3-2- Caractéristiques des souches

Escherichia coli appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, bacilles à Gram -, anaérobies facultatives, non sporulantes, oxydase négative, catalase positive et mobiles grâce à la présence de flagelles (Brinon, 2007). C'est une bactérie intestinale normale de l'homme et de l'animal et comprend plusieurs sérotypes dont certains sont pathogènes et peuvent provoquer des infections gastro-intestinales chez l'homme (Delarras, 2007 ; Smith et al., 2007 ; Wiles et al., 2008).

Staphylococcus aureus appartient à la famille des *Staphylococcaceae*, il s'agit d'une cocci à Gram +, non capsulé, non-mobile, mésophile, catalase positive, coagulase positive, oxydase négative, aéro-anaérobie, généralement de couleur blanche ou jaune doré dans les milieux de cultures (Hermans et al., 2010). C'est une bactérie commensale de la peau humaine et animale qui peut provoquer de graves infections cutanées sévères (NNIS, 2004) et peut également provoquer des nécroses cutanées, un choc staphylococcique et des toxi-infection alimentaires (TIA) (Perscott et al., 2010).

2-2-3-3- Milieux de culture

Deux milieux de culture ont été sélectionnés :

Le milieu Muller Hinton (MH) a été utilisé pour évaluer l'activité antibactérienne des deux souches. En effet, il s'agit du milieu le plus couramment utilisé pour tester la sensibilité des souches aux agents antimicrobiens (Gachkar et al., 2006 ; Mayachiew et Devahastin, 2008 ; Hussein et al., 2010).

Le milieu Rouge Congo agar (RCA) a été choisi pour évaluer la capacité des deux souches à former des biofilms et pour déterminer l'activité antibiofilm d'extraits aqueux de racines sur *S. aureus*, car il permet de révéler la formation de biofilm par apparition de colonies noires (Ouchar et al., 2013).

2-2-3-4- Préparation de l'inoculum

2-2-3-4-1- Préparation des précultures

Un enrichissement des souches bactériennes a été réalisé sur le milieu liquide BHIB, puis incubé pendant 24 h à 37 °C. Après incubation des cultures jeunes, en phase de croissance

exponentielle ont été prélevés et ensemencés sur milieu solide MH, suivis d'une incubation à l'étuve à 37 °C pendant 18 à 24 h.

2-2-3-4-2- Préparation des suspensions bactériennes

Selon le protocole décrit par Hernandez *et al.* (2000) ; Greisiele *et al.* (2003) ; Djenane *et al.* (2012), les colonies bactériennes préalablement ensemencées sur le milieu MH, ont été prélevées et mises en suspension dans 9 ml d'eau physiologique stérile (0.9‰) puis bien homogénéisées à l'aide d'un vortex, la turbidité de la suspension a été ajustée à 108 UFC/ml, correspondant à une densité optique mesurée comprise entre 0,08 et 0,1 sur une longueur d'ondes de 620 nm.

2-2-3-5- Préparation des extraits à tester

Afin, d'évaluer l'activité antibactérienne et antibiofilm des racines de l'olivier, nous avons opté pour la préparation de deux solutions de différentes concentrations.

- L'extrait C1 : 580 mg d'extrait de racine ont été dissous dans 1 ml d'eau distillée stérile. (L'eau distillée a été ajoutée au fur et à mesure jusqu'à ce que l'extrait soit saturé, de manière à ne plus pouvoir le pipeter). C'est la concentration saturante.
- L'extrait C2 : à partir de l'extrait C1, une dilution de 1/2 est réalisée et correspond à la C2.

2-2-3-6- Détermination de l'activité antibactérienne des extraits aqueux de racines

La méthode de diffusion en milieu solide sur Muller Hinton a été utilisée pour étudier l'activité antibactérienne d'extraits aqueux de racine vis-à-vis des souches sélectionnées.

L'antibiotique gentamicine est considéré comme témoin positif, tandis que le témoin négatif s'agit d'un disque imbibé d'eau distillée stérile.

2-2-3-6-1- Protocole expérimental

En respectant les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CASFM-2017). Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum, puis ensemencé en stries serrées sur la totalité de la surface gélosée du milieu MH, en effectuant trois reprises et en assurant de tourner la boîte à 60° à chaque fois, l'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'une boîte de Pétri est ensemencée.

À l'aide d'une pince stérile, des disques de papier Wattman stérile n°1 de 6 mm sont déposés et imprégnés sur la surface de la gélose, les disques sont ensuite imbibés de 10 µl des deux extraits. Un disque de gentamicine est également placé sur la gélose pour servir de contrôle positif et un disque de papier Wattman stérile de 6 mm trempé dans 10 µl d'eau distillée stérile sert de contrôle négatif.

Ainsi, les boîtes de pétri sont mises au réfrigérateur à 4 °C pendant 2 à 4 h, pour assurer une diffusion suffisante de l'extrait de racine et empêcher une croissance rapide de la souche, car dans la méthode de diffusion, il existe une compétition entre la croissance microbienne et la diffusion du produit (Broadasky *et al.*, 1976). Enfin, les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 24 h (Fig.16).

2-2-3-6-2- Lecture

Après, 24 heures d'incubation à 37 °C, les résultats sont lus et consistent à mesurer le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques déposés sur la gélose (y compris le diamètre du disque de 6 mm), dans le cas d'une éventuelle activité antibactérienne. Les résultats sont donnés en mm (Baser et Buchbauer, 2010) et sont interprétés selon la méthode développée par Ponce *et al.* (2003). Cette méthode classe la sensibilité aux échantillons en fonction du diamètre de la zone d'inhibition :

- Non-sensible (-) pour les diamètres < à 8 mm ;
- Sensible (+) pour des diamètres de 8 à 14 mm ;
- Très sensible (++) pour des diamètres de 15 à 19 mm ;
- Extrêmement sensible (+++) pour les diamètres > à 20 mm.

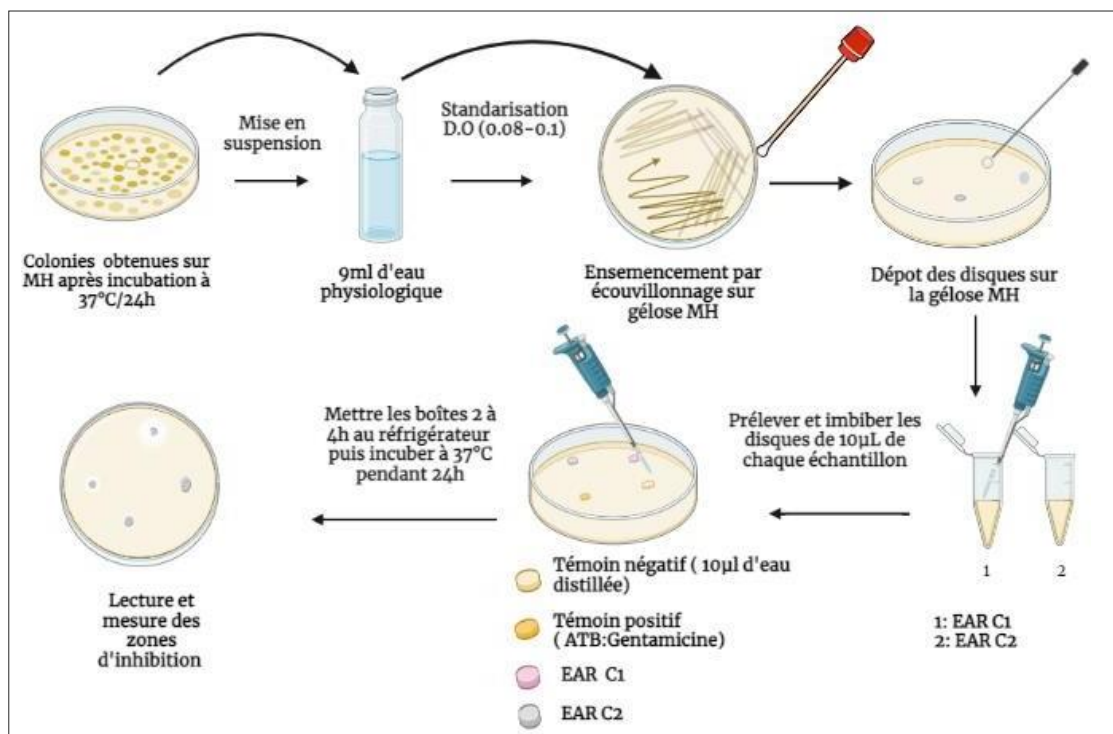


Figure 16 : Schéma récapitulatif des étapes de la détermination de l'activité antibactérienne.

2-2-3-7- Évaluation de la formation de biofilms *in vitro*

Pour mettre en évidence la capacité de formation de biofilm, des deux souches bactériennes testées (*E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923), nous avons utilisé la méthode recommandée par Freeman et al. (1989) par culture des souches sur Gélose Rouge Congo et incubation pendant 24 h à 37 °C en condition aérobie.

2-2-3-7-1- Préparation des cultures sur Rouge Congo Agar (RCA)

Il s'agit d'une technique qualitative indirecte qui évalue la production de « slime » sur milieu solide « Rouge Congo Agar » (RCA) (Chaieb et al., 2005 ; Mariana et al., 2009).

Le milieu RCA a été ensemencé par des stries serrées, à partir de cultures jeunes, puis incubé à 37 °C pendant 24 h (Freeman et al., 1989 ; Mathur et al., 2006).

Les souches productrices de slime (exprimant le PIA) forment des colonies noires avec un anneau clair au centre sur milieu RCA, la formation du slime et la coloration noire sont due à l'interaction directe du Rouge Congo avec certains polysaccharides bactériens, contrairement aux colonies non-productrices qui restent rouge (Mathur et al., 2006 ; Nasr et al., 2012 ; Rewatkar et Wadher, 2013 ; Kara Terki, 2014).

2-2-3-8- Détermination de l'activité antibiofilm des extraits aqueux de racines

L'activité antibiofilm des extraits aqueux de racine a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose uniquement sur la souche *S.aureus*.

La gélose MH a été remplacée par le milieu Rouge Congo, qui permet la visualisation des biofilms.

2-2-3-8-1- Protocole expérimental

Le milieu RCA a été ensemencé en tapis par écouvillonnage avec la suspension de *S.aureus*, à l'aide d'une pince stérile 3 disques de papier wattman stérile sont placés sur la surface de la gélose, 2 disques sont ensuite imbibés de 10 µl des extraits aqueux des racines (C1 et C2), le dernier disque est trempé dans 15 µl d'eau distillée stérile servant de témoin négatif. Ainsi, un disque de l'antibiotique gentamicine est déposé sur la gélose pour servir de témoin positif.

Suivant les mêmes étapes du protocole expérimental de l'activité antibactérienne, les boîtes sont mises au réfrigérateur pendant 2 h à 4 h pour permettre la bonne diffusion des extraits, puis incubées à 37 °C pendant 24 h (Fig.17).

2-2-3-8-2- Lecture

Après 24 heures d'incubation, une lecture est obtenue en mesurant le diamètre des zones d'inhibition entourant les disques déposés sur la gélose. Les valeurs sont exprimées en millimètres et interprétées selon la méthode de sensibilité aux échantillons élaborée par Ponce *et al.* (2003).

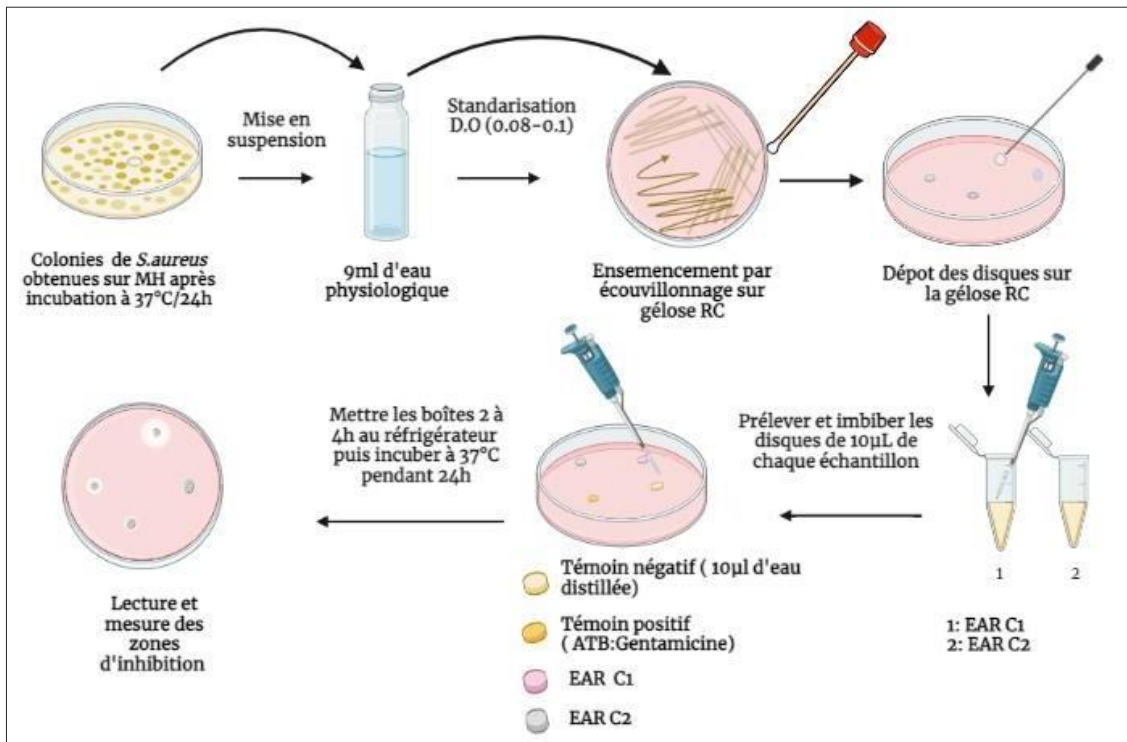


Figure 17 : Schéma récapitulatif des étapes de détermination de l'activité antibiofilms

Chapitre III

Résultats et discussion

1-Dosages des extraits bruts de racines d'olivier

L'évaluation quantitative des composés phénoliques contenus dans l'extrait aqueux de racines de l'olivier de Laperrine a été réalisée par des dosages de polyphénols totaux (PPT), de flavonoïdes totaux (FT) et tannins totaux (TT), et effectuée par les méthodes spectrophotométriques.

Peu de travaux sont publiés sur les composés phénoliques des racines de l'olivier en général et de l'olivier de Laperrine en particulier. Ainsi, en raison du manque de données scientifiques, nous comparons nos résultats à ceux obtenus sur d'autres parties de la plante et par rapport à d'autres espèces végétales.

1-1-Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé selon la méthode de Folin-Ciocalteu. Nous avons utilisé l'acide gallique comme standard. En se basant sur la valeur d'absorbance de la solution de l'extrait, ayant réagi avec le réactif de Folin-Ciocalteu et comparée à la solution étalon en équivalence d'acide gallique. La quantification des composés phénoliques a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire générée à partir d'extraits standards d'acide gallique (Fig.18).

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de résidu végétal sec.

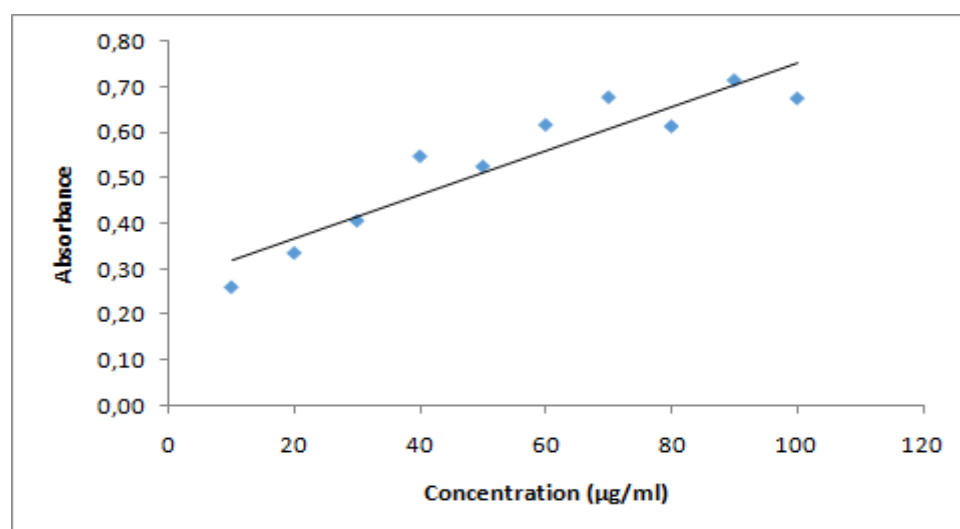


Figure 18 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats des teneurs en composés phénoliques de l'extrait aqueux des racines sont regroupés dans le tableau IV.

Tableau IV : Résultats des différentes teneurs en PPT, FT, TT.

	Polyphénols totaux (mg EAG/ g RS)	Flavonoïdes (mg EQ / g RS)	Tannins totaux (mg EAT/ g RS)
Teneurs	5 ± 0,327	12,5 ± 2,16	104,22 ± 22,45
Équations derégression de la courbe	Y= 0,004x + 0,273 R ² = 0,871	Y= 0,001x + 0,028 R ² = 0,977	Y= 0,0009x + 0,0064 R ² = 0,99

Si nous comparons les valeurs du dosage des polyphénols totaux de l'extrait à tester par rapport aux autres organes d'*Olea europaea* subsp. *laperrinei*, résumés dans le tableau VII, nous constatons que la teneur de l'extrait EAR correspondant à 5 ± 0,327 mg EAG/ g RS est nettement inférieur aux teneurs indiquées dans le tableau V.

Nous remarquons en effet, que l'extrait de feuilles est le plus riche en polyphénols. Nous pouvons expliquer ce résultat par le fait que les feuilles sont le principal siège de la synthèse de ces métabolites (Brzowska et Hanower, 1976 ; Del Rio et al., 2003), étant donné leur rôle protecteur contre les herbivores et les rayons ultraviolets (Borchardt et al., 2008).

Tableau V : Résultats des différentes teneurs en PPT, FT, TT, des différents organes de l'olivier de Laperrine.

Extraits de l'olivier de Laperrine	Polyphénols totaux (mgEAG/g RS)	Flavonoïdes totaux (mg EQ / gRS)	Tannins totaux (mg EAT/gRS)	Bibliographie
Extrait de feuilles	776,81	124,35	214,75	(Lahcene, 2020)
Extrait de tiges	94 ,51 ± 1,64	24,97 ± 0,95	90,00 ± 1,47	(Benseddik et al., 2021)
Extrait de fruits	38,79 ± 0,27	10,01 ± 0,64	51,79 ± 0,20	(Outtara, 2021)
Extrait de graines	42,38 ± 6,56	1 ± 0,87	3,13 ± 0,47	(Berkal et al., 2022)

Nous remarquons que la teneur en polyphénols totaux de l'extrait EAR est supérieure à celle obtenue dans le cas de l'extrait aqueux de *Pituranthos scoparius* (Houria et al., 2015) dont la valeur est de 2,86 ± 0,03 mg EAG /g d'extrait. Nguinambaye et al. (2015) enregistrent une teneur en polyphénol de 216,94 ± 6,36 mg d'EAG/g à partir de racines d'une plante médicinale de l'Afrique de l'ouest connue sous le nom d'*Ampelocissus multistriata*.

Quant à Mohamadi et Tababouchet (2022), ils ont obtenu une teneur de $165,5 \pm 6,36 \mu\text{g EAG}/\text{mg}$ extrait, à partir d'un extrait aqueux de racines d'*Olea europaea L*, valeur clairement inférieure à celle obtenue dans notre expérimentation.

En outre, les teneurs en polyphénols totaux obtenues à partir d'une extraction éthanolique par Kassi et al. (2020) de *Voacanga Africana* est de $166,67 \pm 11,5 \text{mg EAG}/\text{g}$ d'extrait. De même Kodjo et al. (2017) ont abouti à une teneur de $327,16 \pm 3,99 \text{mg EAG}/\text{g}$ à l'issue de leur travail sur *Cassia sieberiana*.

Ces différences de teneurs chez ces espèces végétales peuvent être dues à la composition phénolique des extraits (Hayouni et al., 2007), au solvant utilisé, à la méthode d'extraction et à la température d'extraction (Ayoola et al., 2006 ; Eva et al., 2016).

D'autres études, ont montré que les facteurs géographiques, climatiques et génétiques, mais aussi le degré de maturation de la plante, l'espèce, l'organe, les conditions de séchage et la durée de stockage ont une forte influence sur la teneur en polyphénols des espèces végétales (Alain et al., 2011 ; Merouane et al., 2014 ; El Hazzat et al., 2015).

1-2-Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes de l'extrait aqueux de racines a été déterminée selon le protocole colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et l'étalon est la quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait ($\text{mg EQ}/\text{g}$ d'extrait).

Nous avons obtenu une teneur totale en flavonoïdes de $12,5 \pm 2,16 \text{mg EQ}/\text{g RS}$ d'un extrait aqueux (Tableau IV). Cette valeur est déterminée à partir de l'équation de régression ($Y = 0,001x + 0,028$; $R^2 = 0,977$) de la courbe d'étalon de la quercétine (Fig. 19).

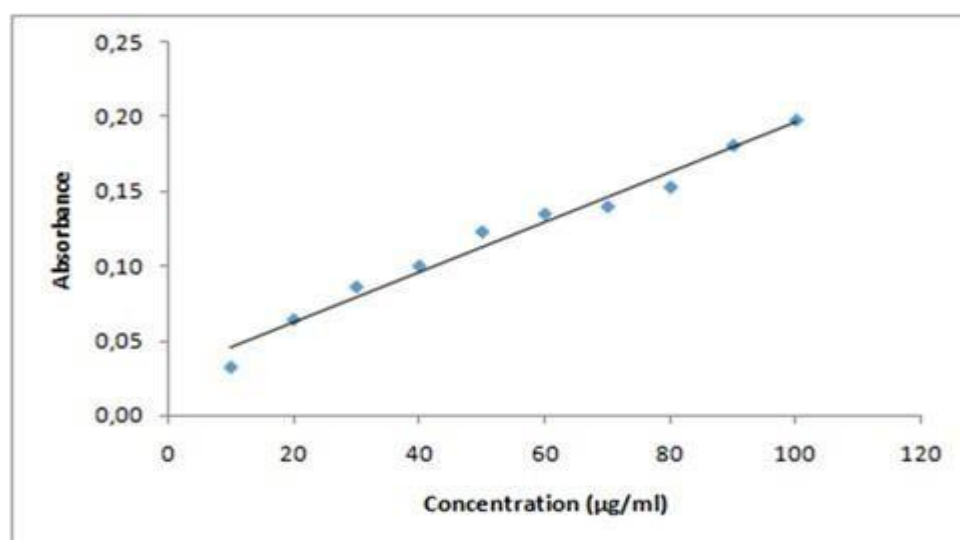


Figure 19 : Courbe d'étalon de la quercétine

La teneur en flavonoïdes totaux de racines de l'olivier de Laperrine est en moyenne 6 fois moins importante que la teneur obtenue dans l'extrait aqueux de feuilles (Tableau V) qui correspond à la valeur de 124,35 mg EQ/g RS. Cette inégale répartition des flavonoïdes peut être due au fait que les feuilles sont plus exposées à l'ensoleillement que les autres organes de la plante. Les flavonoïdes en effet assurent la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement solaire (Gehin et *al.*, 2006).

Cependant, si nous comparons les résultats obtenus au cours de notre expérimentation à ceux de Lahcene (2020), Benseddik et Rami (2021), Outtara (2021) et Berkal et *al.* (2022) (Tableau V), notre valeur est non négligeable.

La variabilité des concentrations de flavonoïdes chez les oranges végétales est influencée par un certain nombre de facteurs, dont l'origine génétique, le degré de maturation et le mode de conservation (Klimczak et coll, 2007).

Mohamadi et Tababouchet (2022) enregistrent une teneur en flavonoïdes totaux de $8,40 \pm 1,90$ µg EQ/mg d'extrait aqueux de *Olea europaea L* qui est relativement négligeable comparé à la valeur que nous avons obtenu dans notre travail.

En outre, Kholkhal et *al.* (2013) ont obtenu une teneur de 90,75 mg EC/g à partir d'un extrait méthanolique de racine de *Thymus Ciliatus* ssp. Les travaux de Kassi et *al.* (2020) ont abouti à une teneur de $88,67 \pm 1,15$ mg EQ /g d'extrait éthanolique de *Paullinia pinnata*. Ces valeurs sont relativement plus élevées que notre extrait EAR.

D'après, Bonnaillie et *al.* (2012) l'eau et le méthanol représentent les meilleurs solvants d'extraction. Ainsi, l'eau augmenterait la perméabilité des tissus végétaux et favoriserait le phénomène de diffusion de masse dans l'étape d'extraction (Arimboor et Arumugan, 2011).

1-3-Dosage des tannins totaux

Le dosage des tannins est réalisé selon le protocole mis au point par Hagerman et Butler (1978) qui est basé sur la formation de complexe Protéine-Tannin.

La teneur totale en tannins est exprimée en milligramme équivalent acide tannique par gramme de résidu sec (mg EAT/g RS), est déterminée en utilisant l'équation de régression de la courbe d'étalonnage ($Y = 0,0009x + 0,0064$; $R^2 = 0,99$) de l'acide tannique (Fig. 20).

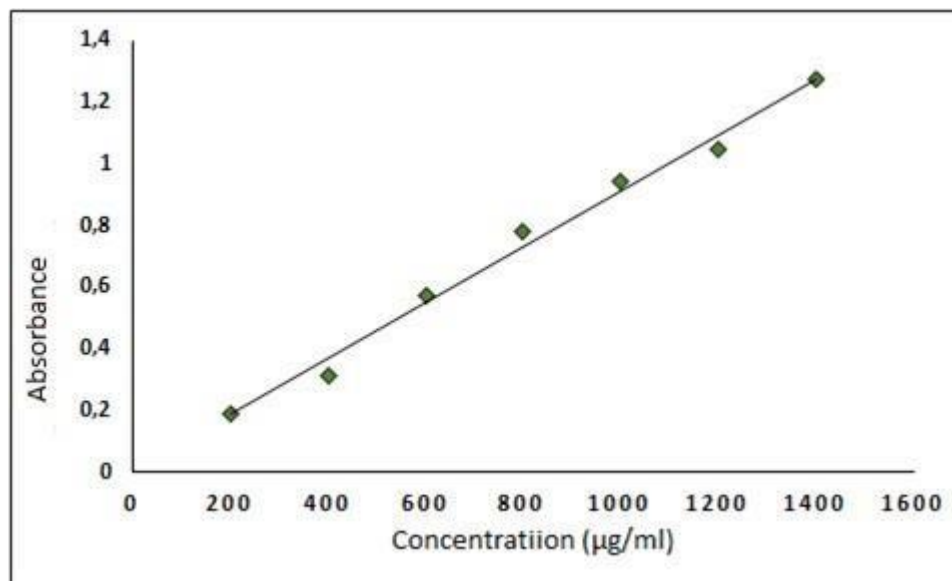


Figure 20 : Courbe d'étalonnage à l'acide tannique.

À partir, de différents travaux réalisés sur les différents organes de Laperrine (Tableau V), nous notons que Lahcene (2020) obtient une teneur de 214,75 mg EAT/gRS sur l'extrait aqueux des feuilles, une valeur 2 fois plus élevée que notre résultat obtenu $104,22 \pm 22,45$ (mg EAT/gRS).

D'une part, Berkal et *al.* (2022) ont déterminé une teneur de $3,13 \pm 0,47$ mg EAT/gRS, (Benseddik et Rami, 2021) obtiennent une valeur de $90,00 \pm 1,47$ mg EAT/gRS, à partir d'un extrait aqueux des tiges. Quant à Outtara (2021), il obtient une teneur de $51,79 \pm 0,20$ mg EAT/g RS à partir d'un extrait de fruit. D'après ces travaux, ce sont les feuilles qui donnent la teneur la plus élevée en tannins totaux ; en comparant à l'extrait de feuille, les résultats obtenus par l'extrait de racine sont 2 fois moins élevés, mais significatifs et supérieurs par rapport aux autres organes de l'olivier de Laperrine.

Nous remarquons, que la valeur obtenue en tannins totaux de l'extrait EAR, est importante par rapport aux flavonoïdes totaux et aux polyphénols totaux, ceci peut être expliqué par rapport aux solvants utilisés lors de l'extraction, selon Mahmoudi et *al.* (2012) la quantité obtenue d'un dosage des composés phénoliques est liée aux types de solvants utilisés. Dans notre expérimentation l'extraction a été réalisée avec de l'eau, ce dernier, permet d'extraire une forte quantité des tannins par rapport à d'autres solvants.

Cependant, Enneb et *al.* (2015) enregistrent une teneur de $5,32 \pm 1,06$ mg EC/gMS à partir d'un extrait méthanolique de racines de la plante de henné (*Lawsonia inermis*), qui est nettement inférieur à la teneur obtenue à partir de notre extrait EAR.

De même, Shang-Ju et *al.* (2010) mentionnent une teneur $116,33 \pm 10,65$ mg/g poids sec de tannins totaux à partir d'un extrait de racines de *Casuarina equisetifolia*, cette valeur est légèrement supérieure à la teneur obtenue des racines de l'olivier de Laperrine.

2- Détermination du potentiel antioxydant de l'extrait de racines

Dans la présente étude, deux tests ont été utilisés pour évaluer la capacité antioxydante de l'extrait aqueux obtenu à partir des racines d'olivier de Laperrine, notamment, le test de la capacité antioxydante totale (CAT), et le test de la réduction de fer (FRAP).

2-1- La capacité antioxydante totale CAT

La capacité antioxydante totale de l'extrait de racines de l'olivier de Laperrine a été déterminée quantitativement par la méthode de phosphomolybdène, les résultats obtenus sont exprimés en milligrammes d'équivalent acide ascorbique par gramme de résidus secs (mg EAA/g de RS). À partir d'une courbe étalon et sa droite de régression, nous avons calculé la teneur totale de la CAT.

À partir de l'équation de régression ($Y = 0,004 X + 0,036$; $R^2 = 0,992$) de référence (Fig.21), nous avons obtenu une valeur de $290 \pm 53,03$ mg EAA / g de RS correspondant à la capacité antioxydante totale de l'extrait. Cette valeur est nettement plus élevée comparé aux teneurs calculées à partir des différents organes d'*Olea europaea* subsp. *laperrinei* (Tableau VI).

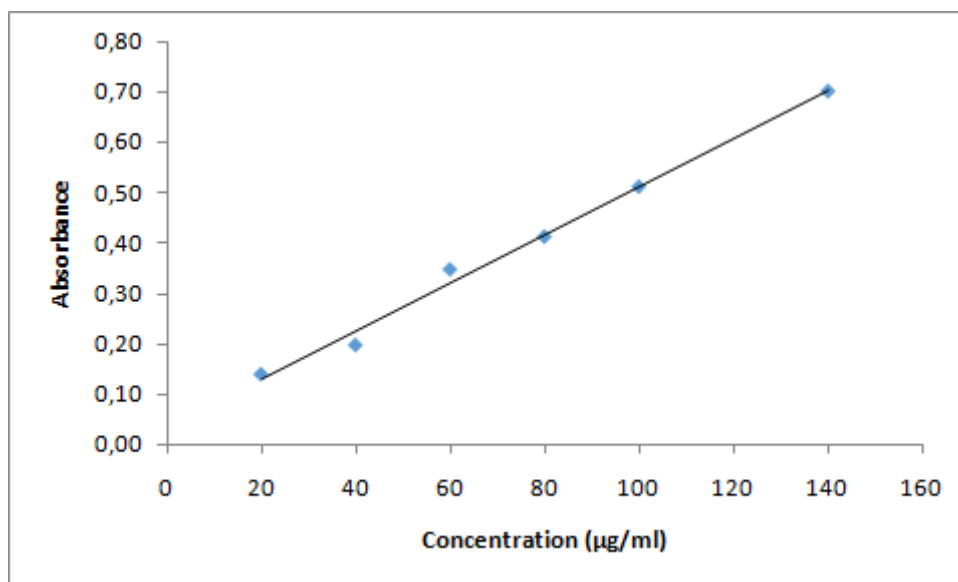


Figure 21 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

Tableau VI : Comparaison des résultats du test CAT de l'extrait aqueux des racines et les résultats obtenus à partir des extraits de différents organes de l'olivier de Laperrine.

Extraits de l'olivier de Laperrine	Teneur total de la CAT (mg EAA/g de RS).	Bibliographie
Extrait de racines	290 ± 53,03	Notre résultat
Extrait de feuilles	267,26 ± 2,67	(Lahcene, 2020)
Extrait de tiges	259,02 ± 17,24	(Benseddik et al., 2021)
Extrait de fruits	154,05 ± 6,22	(Outtara, 2021)
Extrait de graines	58,25 ± 1,75	(Berkal et al., 2022)

Lahcene (2020) ; Benseddik et Rami (2021) ont mis en évidence une corrélation positive entre la teneur totale en composés phénoliques des extraits végétaux et l'activité antioxydante totale CAT. Cette relation étroite est confirmée par de nombreux auteurs (Djeridane et al., 2006 ; Wong et al., 2006 ; Turkmen et al., 2007 ; Wojdylo et al., 2007).

La teneur élevée en tannins de l'extrait EAR explique la valeur élevée de la CAT. En effet, l'activité antioxydante peut être attribuée composés présents tannins, saponines, phénanthrènes dont leur teneur au niveau des végétaux est non négligeables (Mota et al., 1985).

En outre, l'effet antioxydant produit par les extraits de feuilles de l'olivier est toujours le plus fort grâce à la synergie des flavonoïdes, des phénols et de la richesse en Oleuropéine (Rauwald et al., 1994).

Dans ce contexte, la teneur de la CAT obtenue est également supérieure à celle de Bouzidi, (2018) qui enregistre une teneur de $135,5 \pm 1,107 \mu\text{g AA/mg}$ d'extrait à partir des racines de *Eryngium L.* À notre avis, cette différence de teneur est due à la composition chimique différente de cette espèce, qui dépend de divers facteurs, y compris des facteurs de région géographique, les conditions climatiques qui peuvent affecter la composition chimique des principes actifs et la capacité antioxydante des plantes (Khadri et al., 2008).

2-2- Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)

La méthode FRAP est basée sur la réduction des ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}). Cette méthode met en évidence le pouvoir réducteur d'un composé ou d'un extrait. L'agent réducteur présent dans l'extrait végétal provoque la réduction du complexe Fe^{3+} /ferricyanure à la forme ferreuse. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et vérifiant l'augmentation de la densité du bleu cyanée dans le milieu réactionnel 700 nm (Es-Safi, 2012 ; Bougandoura et al., 2013).

À partir, de l'équation de la courbe d'étalonnage ($y = 0,01x - 0,038$ et $R^2 = 0,868$) de l'acide ascorbique, nous avons obtenu une valeur de $270,5 \pm 27,56$ mg/ g de résidu sec.

L'activité antioxydante de l'extrait EAR et celle de l'acide ascorbique est déterminée à partir de la concentration nécessaire pour réduire 50% des radicaux libres (IC50). Plus, ce dernier est faible plus le pouvoir réducteur est important. L'IC50 de l'extrait calculée correspond à la valeur de 433 $\mu\text{g/ml}$.

Nous constatons, que la capacité de l'extrait EAR à réduire le fer est largement inférieure à celle de l'acide ascorbique (IC50=53,8 $\mu\text{g/ml}$). Cette différence pourrait être expliquée du fait que nous avons testé un extrait brut qui en dehors des molécules possédant des activités réductrices, il peut contenir un mélange de molécules, qui peuvent avoir un effet antagoniste sur la réduction d'ion Fe^{3+} , donc il englobe plusieurs molécules de nature chimique différente, contrairement, à l'acide ascorbique qui est un produit pur reconnu pour ses vertus antioxydantes.

À partir, des résultats obtenus (Fig. 22), nous remarquons que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits.

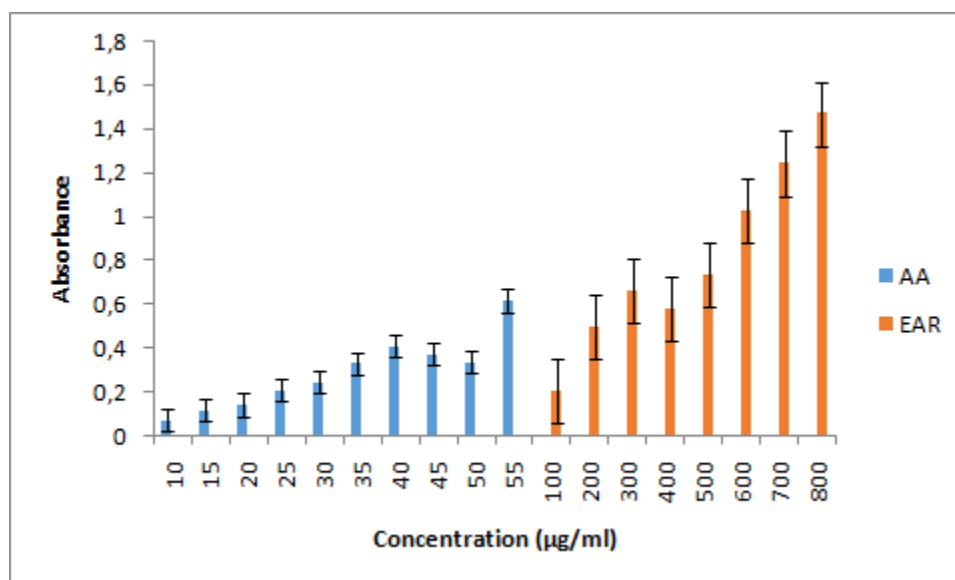


Figure 22 : Evaluation du pouvoir réducteur (FRAP) de l'acide ascorbique et de l'extrait brut EAR.

Comparé aux études réalisées par Lahcene (2020) à partir d'extraits aqueux des feuilles et des tiges (Benseddik et Rami, 2021) et de fruits (Ouattara, 2021), ainsi que l'extrait de graines (Berkal et *al.*, 2022) de l'olivier de Laperrine illustrée dans (Tableau VII), nous constatons que l'extrait aqueux EAR présente une activité réductrice relativement élevée par rapport aux tiges, feuilles, fruits et graine d'*Olea europaea* subsp *L.*

Tableau VII : Comparaison des résultats du test FRAP de l'extrait aqueux des racines et les résultats obtenus à partir des extraits de différents organes de l'olivier de Laperrine.

Extraits de l'olivier de Laperrine	FRAP	Bibliographie
Extrait de racines	270,5 ± 27,56 mg/ g/RS	Notre résultat
Extrait de feuilles	234,91 ± 7,69 (µg/ml)	(Lahcene, 2020)
Extrait de tiges	383,17 ± 12,36 (µg/ml)	(Benseddik et al., 2021)
Extrait de fruits	387,5 (µg/ml)	(Outtara, 2021)
Extrait de graines	1021,25 ± 11,36 (µg/ml)	(Berkal et al., 2022)

En outre, la comparaison de nos résultats avec les travaux de Nguinambaye et al, (2015) à partir de extraits aqueux de racines de *Ampelocissus multistriata* dont le pouvoir réducteur est de 34,54 ± 2,55 mg d'ET/g. Ainsi, que ceux de Bouzidi (2018), à partir d'extrait de racines d'*Eryngium L* qui enregistre un pouvoir réducteur de 371,222 ± 13,082 µg/ml suggère que l'extrait EAR possède un pouvoir réducteur élevé.

Dans la littérature, plusieurs auteurs attestent que le potentiel antioxydant d'un extrait dépend de sa teneur en composés phénoliques (Katsube et al., 2004 ; K a l i a et al., 2008 ; Stagoset al., 2012 ; Amri et al., 2015 ; Guettaf et al., 2016).

3- Détermination de l'activité antibactérienne et antibiofilms de l'extrait EAR

3-1- Évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des racines de l'olivier de Laperrine

Afin d'évaluer le pouvoir antibactérien de l'extrait EAR, une étude *in vitro* par la méthode de diffusion sur le milieu MH a été effectuée. L'activité bactérienne de nos échantillons vis-à-vis des deux souches bactériennes testées *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, est estimée par la mesure des diamètres en millimètre de zones d'inhibition autour des disques.

Nous avons réalisé deux concentrations C1 et C2. Le tableau VIII représente le degré de sensibilité des deux souches bactériennes testées sur notre extrait EAR.

Tableau VIII : Degrés de sensibilité des souches bactériennes testées.

	Témoin positif	Témoin négatif	C1	C2
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	(+)	(-)	(-)	(-)
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	(+)	(-)	(++)	(-)

(+) : absence de croissance (sensible) ; (-) : présence de croissance (non sensible)
 (++) : Absence de croissance (très sensible).

Selon notre observation

Pour *E.coli* les zones d'inhibition présentent un diamètre de 35 mm pour le témoin positif pour C1 et C2 et un diamètre de 6 mm pour C1 de l'extrait EAR. La souche bactérienne est donc non sensible à l'extrait EAR.

Pour *S.aureus* les zones d'inhibition présentent un diamètre de 38 mm pour le témoin positif pour C1 et C2 et de 15 mm pour C1 de l'extrait EAR. La souche bactérienne est donc très sensible à l'extrait EAR.

Les résultats obtenus illustrés dans le tableau VIII montrent que notre extrait EAR ne présente pas une activité antibactérienne vis-à-vis de *E.coli* (ATCC 25922). Cette observation est donc confirmée par les travaux de Ponce et al. (2003).

Et vis à vis de *S.aureus* utilisée, notre extrait à la concentration C1 présente une activité antibactérienne.

Cependant, l'extrait EAR n'a pas le même effet sur *E.coli* (bactérie à gram +) et *S.aureus* (bactérie à gram -).

La figure 23 illustre les diamètres des zones d'inhibition obtenus avec les différents extraits sur les différentes souches bactériennes testées.

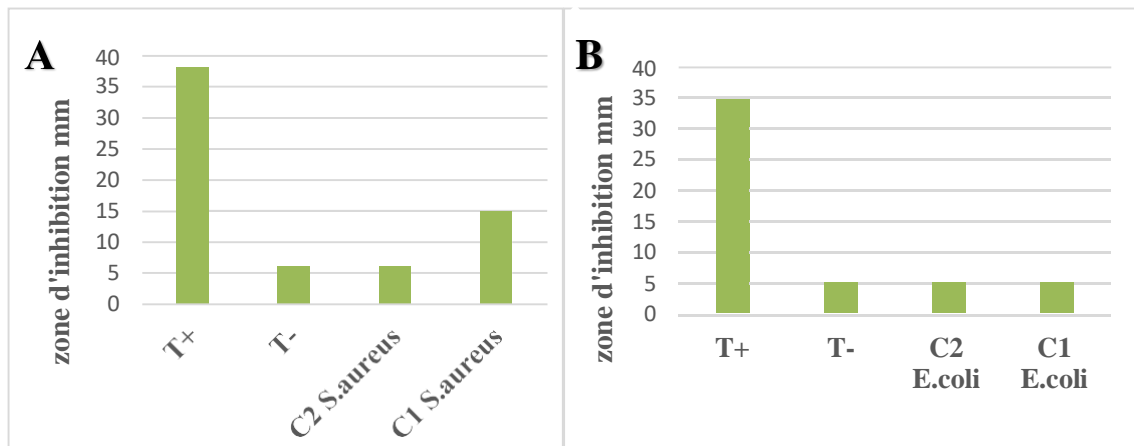


Figure 23 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition en (mm) de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'olivier de Laperrine sur milieu solide en fonction des souches bactériennes, **A** : *S.aureus* ; **B** : *E.coli*.

A l'issue de ces résultats on peut témoigner que la différence se situe entre la souche bactérienne *E.coli* (gram-) et la souche *S.aureus* (gram+), sachant que *S.aureus* présente une sensibilité vis à vis de l'extrait EAR comparé à l'antibiotique.

Selon Yakhlef et al. (2011), la résistance des bactéries à gram - aux agents antimicrobiens hydrophobes est en relation avec la structure de leur membranes externes composées de lipopolysaccharides qui forment une barrière imperméable et favorisent la résistance à ces agents.

Djenane et al. (2008), mettent en évidence l'effet antibactérien d'un extrait de feuilles de *Olea europaea L*, et obtiennent une zone d'inhibition de $16,33 \pm 1,80$ mm pour *S.aureus*.

L'extrait éthanolique de feuilles de l'olivier sauvage (*olea europae subsp.sylvestris*) présente une zone d'inhibition de $20,00 \pm 0,57$ mm, selon les travaux effectués par Labane et Tadala (2015).

Bendermane et Djouab (2016), ont étudié la capacité antibactérienne des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de l'olivier de Laperrine sur neuf souches bactériennes. Ils notent la sensibilité des souches à gram + *S.aureus* (FRI S6) et *S.aureus* (LGA 251) aux extraits étudiés et affirment la résistance des souches à gram - *E.coli* (ATCC 25922) vis-à-vis des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de l'olivier.

Boussadia et Djennoune (2016) confirment bien la sensibilité des souches de *S.aureus* vis-à-vis de différents extraits de feuilles des oliviers *Olea europaea subsp laperrinei* et *Olea europaea subsp sylvestris* et constatent, ainsi, la résistance des souches à gram - *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853), *Escherichia coli* (ATCC25922) et BLSE (E88) à l'effet antibactérien des feuilles des deux oliviers.

Hamoud et al. (2022), confirment la présence d'une éventuelle activité antibactérienne des extraits de feuilles des oliviers *Olea europaea* et *Olea europaea subsp laperrinei* vis-à-vis de *S.aureus* (ATCC 25923) et constatent la résistance d'*E.coli* (ATCC 25922) aux extraits de feuilles.

De plus, Berkal et *al.* (2022), attestent que l'effet bactéricide des extraits bruts de feuilles de l'olivier de Laperrine contre *S.aureus* (LGA 251). Nos résultats confirment la sensibilité de la souche *S.aureus* (ATCC 25923) vis-à-vis de l'extrait des racines de l'olivier en présentant une bonne activité antimicrobienne avec un diamètre moyen de 15mm, et la résistance d'*E.coli* à cet extrait.

Agouazi et Ferrag (2018), testent des extraits éthanoliques et aqueux des racines de *Tamus communis L* contre *S.aureus* (ATCC 43 300), *E.coli* (ATCC 25922) et remarquent qu'ils ne sont pas actifs sur aucune des souches testées. Dans le même contexte Kebour et Menad (2022), étudient l'activité antibactérienne des racines de gombo et notent que les souches bactériennes *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), testées sont résistantes vis-à-vis des extraits (aqueux, éthanoliques) de la chaire racinaire de gombo.

Quant à Belloum et Nani (2020), montrent que l'extrait éthanolique de racine du *P.tomentosa* a aucun effet sur la croissance bactérienne d'*E.coli* (ATCC 8737), *S.aureus* (ATCC 6538), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) et *Aspergillus carbonarius* M 333.

En comparant nos résultats obtenus à partir de l'extrait aqueux des racines de l'olivier, nous constatons que ce dernier a un effet antibactérien non-négligeable particulièrement sur les bactéries à gram+.

Les résultats concernant les diamètres des zones d'inhibitions sont regroupés dans la figure 24.

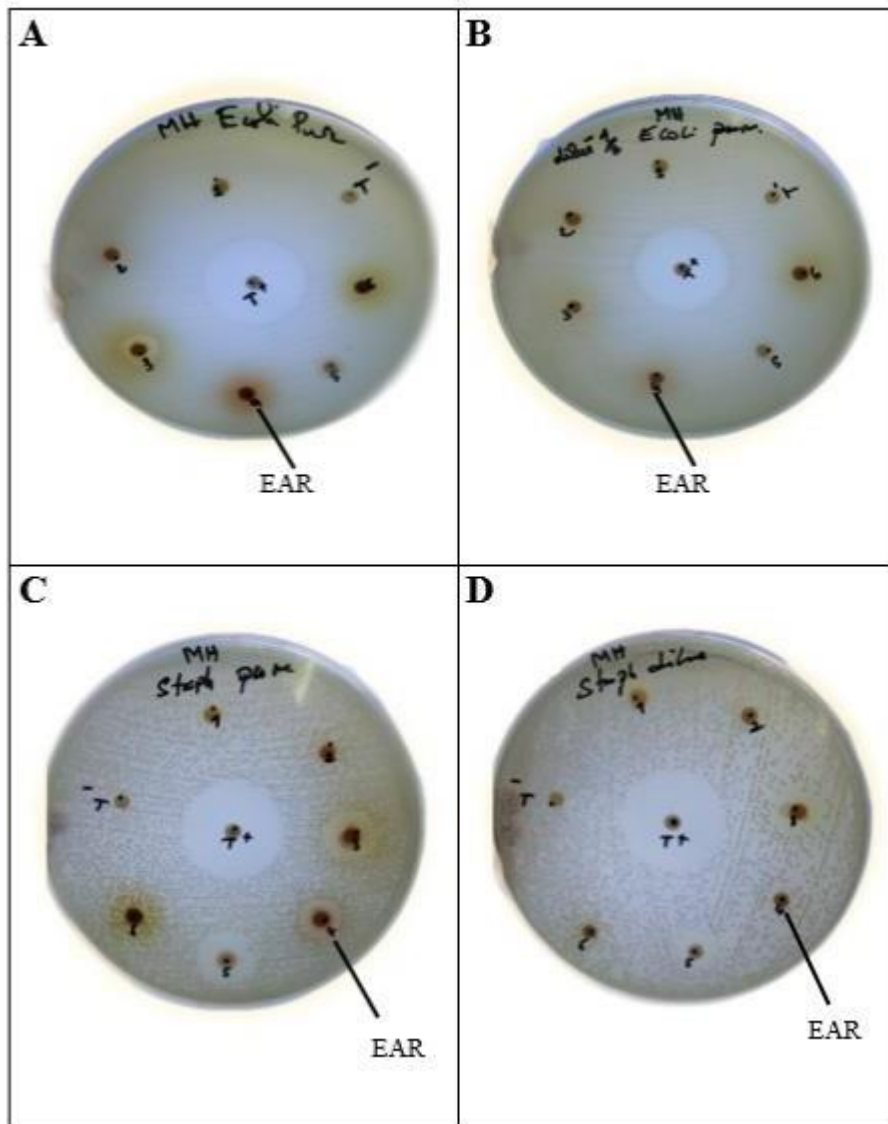


Figure 24 : Figure résumant les résultats du test antibactérien des deux souches bactériennes testées sur le milieu MH de l'extrait EAR; **A** : Résultat du test antibactérien *E.coli* C1; **B** : Résultat du test antibactérien *E.coli* C2; **C** : Résultat du test antibactérien *S.aureus* C1 ; **D** : Résultat du test antibactérien *S.aureus* C2.

3-2- Évaluation de la production de biofilm sur Rouge Congo

La capacité des souches testées à former des biofilms a été révélée par la méthode du Rouge Congo Agar décrite par Freeman *et al.* (1989). C'est une technique qualitative classique. En effet, la détection est fondée sur la capacité des souches à produire un slime et la morphologie de ces dernières, ainsi, les souches productrices apparaissent noires ou de couleur plus ou moins noire, contrairement aux souches non productrices qui présentent des colonies rouges.

L'évaluation de la production de biofilm sur nos deux souches testées révèle que la souche *S.aureus* (ATCC 25923) présente des colonies noires, à l'opposé de la souche *E.coli* (ATCC 25922) qui forme des colonies de couleur rouges.

Certaines bactéries à Gram + ou à Gram - présentent sur leur surface extérieure une couche d'exo-polysaccharides plus ou moins épaisse et visqueuse recouvrant ainsi la paroi, cette couche est principalement composée de poly- β , 6-*N*-acetyl-D-glucosamine (PGA) (Robertet *al.*, 2007). Ces polysaccharides se retrouvent soit attachés à la paroi par des liaisons covalentes ou par des interactions fortes en tant que polysaccharides capsulaires (PSC) ou forment une couche diffuse facilement détachable de la surface et se trouvent par la suite dans le milieu extracellulaire en tant que polysaccharides de « slime » (PSS) (Yang *et al.*, 2010).

Ainsi, *S.aureus* (ATCC 25923) est fortement formatrice de biofilms, présentant des colonies noires avec un cristallin de consistance sèche sur Gélose Rouge Congo. Cet aspect est dû à la production des exo-polysaccharides (EPS) ou (SLIME) qui réagissent avec le Rouge Congo (Fig.25).

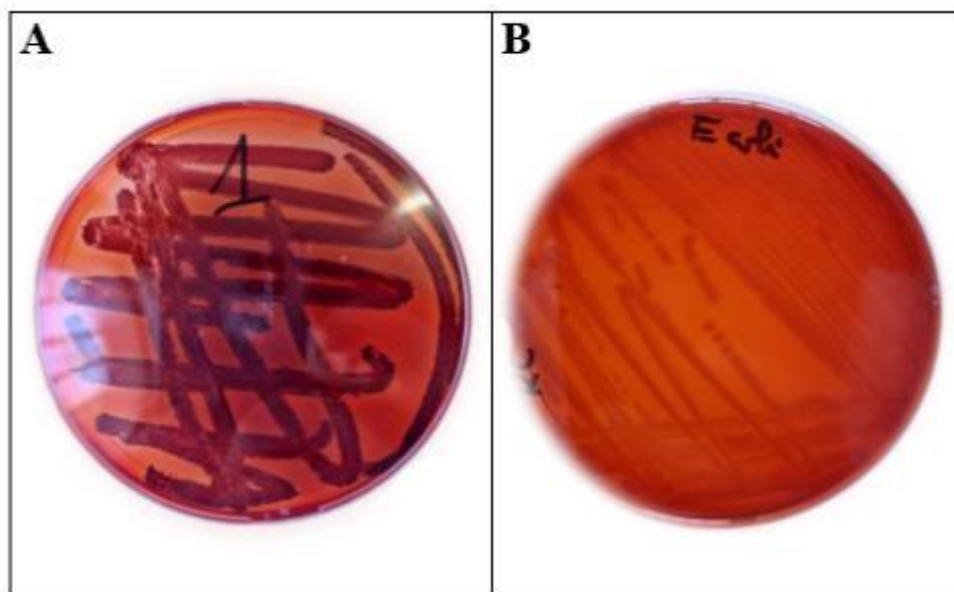


Figure 25 : Résultat du criblage de la production de biofilm sur Rouge Congo
A : *S.aureus* productrice de biofilm (colonies noires) ; **B** : *E.coli* non productrice (colonies rouges).

3-3- Évaluation de l'activité antibiofilm de l'extrait aqueux de racines de l'olivier Laperrine

L'activité antibiofilm de l'extrait aqueux de racine de l'olivier Laperrine vis-à-vis de *S.aureus* (ATCC 25923) a été déterminée par la technique de diffusion sur milieu RCA solide après incubation de 24h, des zones d'inhibition apparaissent aux tours des disques imbibés de

l'extrait (Tab IX), les diamètres des halos sont illustrés dans la (Fig.26).

Tableau IX : Résultats de l'inhibition de biofilm de l'extrait aqueux des racines interprétés selon Ponce et *al.* 2003.

	Témoin positif	Témoin négatif	C1	C2
<i>S.aureus</i> (ATCC 25923)	(+)	(-)	(+)	(+)

(+) : absence de croissance (sensible) ; (-) : présence de croissance (non-sensible).

Nous constatons que la souche testée est sensible à l'extrait EAR. Il présente un effet inhibant la formation de biofilm sur gélose RCA.

L'extrait C2 présente une zone d'inhibition égale à 8 mm, le diamètre augmente en fonction de la concentration de l'extrait, notamment l'extrait C1 présente un diamètre supérieur ou égal à 11 mm. Quant au témoin positif (gentamicine) qui présente un diamètre d'inhibition supérieur ou égal à 28 mm comparable aux résultats de nos extraits (Fig.26).

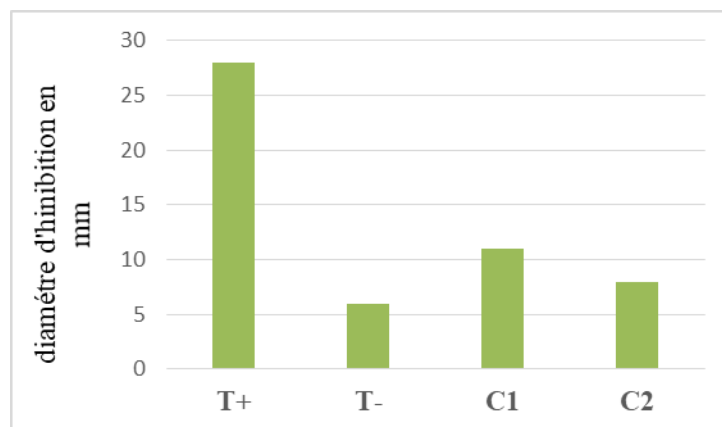


Figure 26 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition (*S.aureus* sur RCA).

La présence de zone d'inhibition $<$ à 8 mm indique l'insensibilité à l'encontre de l'extrait, alors que les diamètres compris entre 8 et 14 mm font référence à une sensibilité limitée, cependant, la sensibilité est qualifiée de moyenne si le diamètre est entre 14 et 20 mm. De plus, un diamètre \geq à 20 mm indique une forte sensibilité (Duraffourd et *al.*, 1990), confirmant l'activité antibiofilm de notre extrait.

Ainsi, la souche testée *S.aureus* montre une sensibilité vis-à-vis de l'extrait aqueux de racines de l'olivier Laperrine. Comparativement à l'étude menée par Berkal et *al.* (2022), celles-ci qui ont étudiés l'activité antibiofilm des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de l'olivier Laperrine vis-à-vis de *S.aureus* (LGA 251) confirment, ainsi, que l'activité antibiofilm de l'olivier de Laperrine est proportionnelle aux concentrations.

Hamoud et *al.* (2022), mettent en évidence la présence d'une activité antibiofilm des feuilles de l'olivier Laperrine vis-à-vis de *S.aureus* (ATCC 25923), avec deux types de solvants (éthanolique et aqueux), affirmant la sensibilité de *S.aureus* aux extraits de l'olivier. Ces auteurs affirment également la présence d'une activité antibiofilm des feuilles de l'olivier du Nord.

Cette activité antibiofilm peut être expliquée par le fait que les extraits végétaux ont la capacité à réduire l'adhérence des biofilms sur les surfaces (Sandasi et *al.*, 2007). Le traitement avec de fortes concentrations des extraits de végétaux augmentent l'inhibition des biofilms.

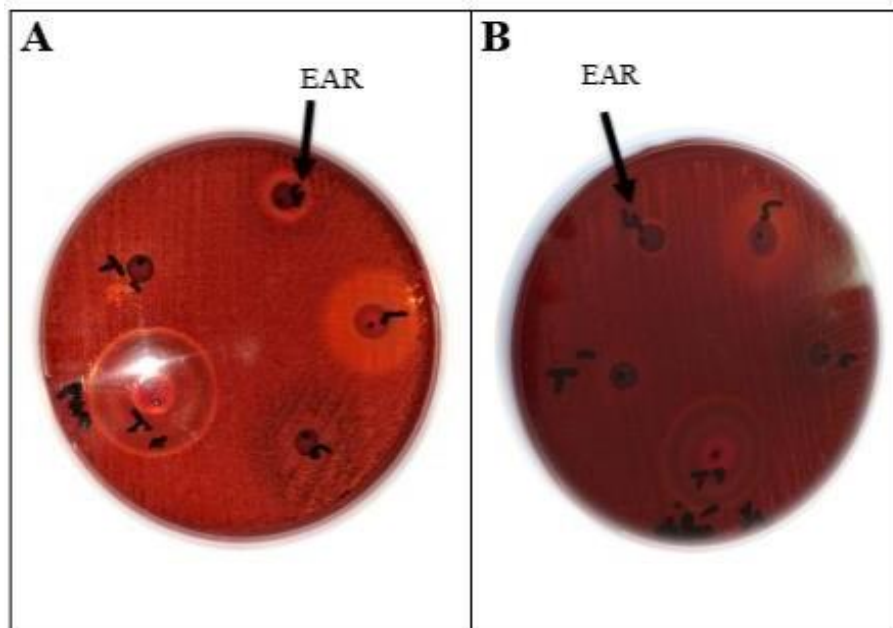


Figure 27 : Résultats de l'activité antibiofilm sur milieu Rouge Congo Agar.
A : Zone d'inhibition au tour du disque imbibé de l'extrait EAR C1 ; **B :** Zone d'inhibition au tour du disque imbibé de l'extrait EAR C2.

Conclusion et perspectives

La présente étude rentre dans le cadre de la valorisation de l'olivier de Laperrine (*Olea europaea* subsp. *laperrinei*), espèce endémique des hautes montagnes sahariennes de l'Algérie. L'olivier se caractérise par sa remarquable résistance à un environnement hostile et sec, il présente en effet, des caractéristiques morphologiques et physiologiques qui lui permettent de s'adapter aux conditions arides de son habitat. Cette adaptation se manifeste entre autres par la synthèse des métabolites secondaires. Ces dernières constituent les éléments essentiels dans les interactions de la plante avec son environnement.

L'objectif de cette étude est de quantifier le contenu phénolique de l'extrait aqueux de racines à travers les méthodes spectrométriques et d'évaluer leurs propriétés antioxydantes par le test de la capacité antioxydante totale (CAT) et le pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP). De plus, une évaluation de l'activité antibactérienne et antibiofilms est menée sur l'extrait EAR.

L'estimation quantitative des phénols totaux et des flavonoïdes démontre que les racines de l'olivier de Laperrine renferment bien des polyphénols qui sont présents cependant en une infime quantité par rapports à celles enregistrées dans les feuilles, les tiges et les fruits. Cependant, la teneur en tannins totaux obtenue dans l'extrait de racine est importante par rapport aux précédentes teneurs totales de polyphénols et des flavonoïdes.

La CAT et la FRAP attestent que l'extrait aqueux de racine possède une capacité antioxydante totale non-négligeable et d'un pouvoir réducteur élevé par apports aux différents organes de l'olivier. Ces deux variables sont corrélées avec le contenu en polyphénols de l'extrait étudié. C'est pour cela que l'extrait de racine s'avère un éventuel piègeur de radicaux libres dans la plante et donc réduire les dommages occasionnés par le stress oxydatif.

D'une autre part, nous soulignons que notre extrait aqueux de racine présente une bonne activité antibactérienne et un bon potentiel antibiofilm contre la souche *S.aureus*.

Il serait aussi intéressant de réaliser :

- Une identification des molécules présentes dans les extraits bruts sur lesquels a porté notre expérimentation avec des méthodes chromatographiques ;
- Une évaluation de l'activité antioxydante par d'autres tests notamment le test DPPH ;
- Une évaluation de l'activité antimicrobienne et antibiofilms sur des souches bactériennes multirésistantes.

Références bibliographiques

- Abedini A. (2013).** Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit. (*Lamiaceae*), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. Thèse de doctorat en Biologie. Université du Droit et de la Santé - Lille II, France.
- Abisado R.G., Benomar S., Klaus, J.R., Dandekar A.A. (2018).** Bacterial Quorum Sensing and Microbial Community Interactions. *mBio - ASM Journals - American Society for Microbiology*. 9(3) ,02331-17.
- Adiba H., Benariba N., Bechiri A., Chekroun E., Djaziri R. (2015).** Étude phytochimique et évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius*. *Phytothérapie, Lavoisier SAS*.1-6.
- Agouazi W., Ferrag K. (2018).** Evaluation de Certaines Propriétés Biochimiques, Biologiques et Pharmacologiques des racines de *Dioscorea communis*. Master en Biotechnologie Microbienne. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algerie.86p.
- Aiche-Iratni G., Moualek I., Mestar-Guechaoui N., Mezaache-Aichour S., Zerroug M.M., Houali K. (2015).** *In vitro* evaluation of biological activities of *Pistacia lentiscus* aqueous extract. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 7(11), 133-139.
- Alain H.O., N'Guessan C.E.D., Janat AM-B., Yves-Alain B. (2011).** Teneurs en composés phénoliques de 10 plantes médicinales employées dans la tradithérapie de l'hypertension artérielle, une pathologie émergente en Côte d'Ivoire. *Revue de Génie Industriel*. 6, 55- 61.
- Amri O., Elguiche R., Tahrouch S., Zekhnini A., Hatimi A. (2015).** Antifungal and antioxidant activities of some aromatic and medicinal plants from the southwest of Morocco. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(7) ,672-678.
- An Y.H., Friedman R.J. (1998).** Concise review of Mechanisms of bacterial adhesive to biomaterial surfaces. *Journal de recherche sur les matériaux biomédicaux*. 43(3), 338-348.
- Arimboor R., Arumughan C. (2011).** Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) proanthocyanidins inhibit *in vitro* enzymatic hydrolysis of protein. *Journal of Food Science*. 76(6), 130-7.
- Aumeran C., Balestrino D., Forestier C. (2020).** Biofilms bactériens et santé. *Encyclopédie de l'environnement*. 1-7.
- Ayoola G.A., Sofidiya T., Odukoya O., Coker H.A.B. (2006).** Phytochemical screening

- and free radical scavenging activity of some Nigerian medicinal plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Pharmacy Practice*. 8,133-136.
- Baali-cherif D. (2007).** Etude des populations d'olivier de Laperrine (*Olea europaea* subsp. *laperrinei*) du Sahara central algérien (Hoggar et Tassili) : Aspects biologiques et caractérisation moléculaire. Thèse de doctorat en Biologie Végétale. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, Algérie.102p.
- Baali-Cherif D., Besnard G. (2005).** High genetic diversity and clonal growth in relict populations of *Olea europaea* subsp. *Laperrinei* (*Oleaceae*) from Hoggar, Algeria. *Annals of Botany*. 96 (5) ,823-830.
- Baali-Cherif D., Bouguedoura N., Besnard G., Bouhired L. (2007).** Etude des populations de l'olivier de Laperrine (*Olea europaea* subsp. *Laperrinei* Batt. Et Trab.) du Sahara Central algérien (Hoggar et Tassili) : aspects biologiques et caractérisation moléculaire. *Annales de l'Institut National Agronomique El Harrach*. 28(1-2), 35-73.
- Banks K.M., Bryers J.D. (1992).** Deposition of bacterial cells onto glass and biofilm surface. *Biofouling*. 6, 81-86.
- Baser K.H.C., Buchbauer G. (2010).** Manuel des huiles essentielles : Science, technologie et applications. CRC Press, Boca Raton/Londres/New York.
- Battandier M.J.A., Trabut L. (1911).** Contribution à la flore du pays des Touaregs. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 58 (6), 623-629.
- Behlau I., Gilmore M.S. (2008).** Microbial Biofilms in Ophthalmology and Infectious Disease. *Archives Ophthalmology*. 126(11), 1572-1581.
- Bellifa S. (2014).** Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen. Thèse de doctorat. Université abou bekr belkaid Tlemcen, Algérie.
- Bénard C. (2009).** Étude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. Thèse de doctorat en sciences agronomiques. Université de Nancy, France.
- Benavente-Garcia O., Castillo J., Lorente J., Ortuño A., Del Rio J.A. (2000).** Antioxydant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*. 68(4), 457-462.
- Bendermane E., Djouab L. (2016).** Screening phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne des extraits bruts des feuilles de l'olivier de Laperrine *europaea* subsp. *Laperrinei* Batt et Trab sur neuf souches bactériennes. Master en Biochimie Appliquée.

- Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algérie.73p.
- Benichou A. (1962).** Recherches critiques sur l'Olivier de Laperrine. Botanique Saharienne. Bulletin N° 6 de l'IRS. Université d'Alger, Algérie, 6,1–55.
- Benjelali B., Tantaoui E.A., Esmaili-Alaoui M. (1986).** Méthodes d'études des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. Plantes Médicinales Phytothérapie. 20,155–67.
- Bensedike S., Rami K. (2021).** Analyse quantitative et évaluation de quelques activités antioxydantes d'extrait de tiges de l'olivier de Laperrine *Olea europaea* subsp. *Laperrinei* (Batt. et Trab.) Cifferi. Master en Biochimie de la nutrition. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algérie.60 p.
- Berkal D., Guedoul T. N., Rouane Amghar K. (2022).** Analyse quantitative et évaluation des activités antioxydantes d'extrait de graines et Evaluation des activités antibactérienne et antibiofilms des extraits bruts de feuilles l'olivier de Laperrine *Olea europaea* subsp.*laperrinei* (Batt. et Trab.) Cifferi sur deux souches bactériennes. Master en Microbiologie Appliquée. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algérie.71 p.
- Besnard G., Anthelme F., Baali-Cherif D. (2012).** The Laperrine's olive tree (*Oleaceae*): a wild genetic resource of the cultivated olive and a model-species for studying the biogeography of the Saharan Mountains. Acta Botanica Gallica.159 (3), 319-328.
- Besnard G., Christin P.A., Baali-Cherif D., Bouguedoura N., Anthelme F. (2007a).** Spatial genetic structure in the Laperrine's olive (*Olea europaea* subsp. *laperrinei*), a long-living tree from the central Saharan mountains. Heredity. 99 (6), 649-657.
- Besnard G., Rubio de Casas R., Vargas P. (2007b).** Plastid and nuclear DNA polymorphism reveals historical processes of isolation and reticulation in the olive tree complex (*Olea europaea*). Journal of Biogeography. 34, 736–752.
- Boles B.R., Thoendel M., Singh P.K. (2004).** La diversité auto-générée produit des « effets d'assurance » dans les communautés de biofilms. Actes de l'Académie nationale des sciences. 101(47), 16630–16635.
- Bonnaillie C., Salacs M., Vassiliova E., Saykova I. (2012).** Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.). Revue de génie industriel. 7, 35-45.
- Borchardt J.R., Wyse D.L., Sheaffer C.C., Kauppi K.L., Fulcher R.G., Ehlke N.J., Biesboer D.D., Bey R.F. (2008).** Antioxidant and antimicrobial activity of seed fromplants of the Mississippi river basin. Journal of Medicinal Plants Research. 2(4),

081-093.

- Bouaziz M., Sayadi S. (2005).** Isolation and evaluation of antioxidants from leaves of a Tunisian cultivar olive tree. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 107(7-8), 497-504.
- Boubekri C. (2014).** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en Chimie. Université Mohamed Khider Biskra. Algérie. 210p.
- Bouchouka E. (2016).** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse de Doctorat en science Phytochimie. Université de Badji-Mokhtar, Annaba (UBMA), Algérie. 126p.
- Bougandoura N., Bendimerad N. (2012).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie*, (9), 14 – 19.
- Boussadia D., Djenoune S. (2017).** Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits bruts des feuilles de l'olivier de Laperrine (*Olea europaea laperrinei*) et de l'oléastre (*Olea europaea sylvestris*) sur cinq souches bactérienne et l'étude de l'association extrait brut-antibiotique. Master en Microbiologie Appliquée. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algérie. 86p.
- Bouzidi S. (2018).** Evaluation des activités biologiques des extraits de deux plantes : *Eryngium L*, *Paronychia Capitata L*. Thèse de doctorat en Biotechnologies des molécules bioactives et pathologies moléculaires. Université Mostefa Ben Boulaïd, Algérie. 181p.
- Branger A., Richer M.M., Roustel S. (2007).** Quelque système microbien : les biofilms Dans : *Microbiochimie et alimentation*. Educagri éditions, Dijon. 131-164p.
- Broadasky T. F., Lewis C., Eble, T.E. (1976).** Bioautographic thin layer chromatographic analysis of antibiotics and their metabolites in the whole animal. I Clindamycin in the rat. *Journal of Chromatography*. 123, 33-44.
- Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie et phytochimie, plantes médicinales. Edition Technique et Documentation. Lavoisier. Paris, 278-279.
- Bryers J.D. (2008).** Medical biofilms. *Biotechnology and Bioengineering*. 100 (1) ,1-18.
- Brzozowska J., Hanower P. (1976).** Sur les composés phénoliques des végétaux et leur rapport avec un déficit hydrique chez des cotonniers. Tome.XII.p: 65-87.
- Carange J. (2010).** Rôle antioxydant et anti-apoptotiques des brassinostéroïdes, une

nouvelle stratégie de neuroprotection, Comme exigences partielle de la maîtrise en biophysique et biologie cellulaires. Thèse de doctorat en Biophysique et Biologie Cellulaire. Université du Québec à trois-rivières.138p

Cathy S. (2008). Mes petites soupes magiques. Mincir grâce aux soupes aromatiques : Tous les bienfaits des légumes et des plantes dans un verre. Éditeur : Leduc.S Editions. EAN : 9782848992488 .224p.

Caturla N., Perez-Fons L., Estepa A., Micol V. (2005). Differential effects of oleuropein, abiophenol from *Olea europaea*, on anionic and zwitterionic phospholipid model membranes. Chemistry Physical Lipids. 137, 2-17.

Chaieb K., Mahdouani K., Bakhrouf A. (2005). Detection of icaA and icaD loci by polymerase chain reaction and biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* isolated from dialysate and needles in a dialysis unit. Journal of Hospital Infection. 61(3), 225-230.

Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M., Chern J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of food and drug analysis, 10(3), 178-182.

Chira K., Suh J.H., Saucier C., Teissedre P.L. (2008). Les polyphénols du raisin. Phytothérapie 6, 75-82. 32 p.

Chira, K. (2009). Structures moléculaire et perception tannique des raisins et des vins (Cabernet-Sauvignon, Merlot) du Bordelais. Thèse de doctorat, Université Bordeaux 2, France.

Conrad J., Volger B., Klaiber I., Roos P. (1998). Deux esters triterpéniques d'écorce de *Terminalia macroptera*. ISSN :0031-9422, 48(4) ,647-650.

Cronquist A. (1981). An integrated system of classification plant. Columbia University Press. New York. 1262p.

Del Río J.I., Báidez A.G., Botía J.M., Ortuño A. (2003). Enhancement of phenolic compounds in olive plants (*Olea europaea L.*) and their influence on resistance against *Phytophthora sp.* Food Chemistry.83, 75-78.

Delarras C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou le contrôlesanitaire. Rue Lavoisier : Technique & Documentation. 475p.

Djenane D., Yangüela J., Derriche F., Bouarab L., Roncales P. (2012). Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens ; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. Revue « Nature et Technologies ». 07, 53-

61.

- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*.97.
- Donlan R.M., Costerton J.W. (2002).** Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*. 15(2), 167-193.
- Droge W. (2002).** Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*. 82(1), 47–95.
- Dumas C. (2007).** Catalyse électro-microbienne dans les piles à combustible. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse, France. 306p.
- Duraffourd C., D’Hervicourt L., Lapraz J. C. (1990).** Cahiers de phytothérapie clinique
1. Examens de laboratoires galéniques. Eléments thérapeutiques synergiques ,2^{ème} éd. Masson, Paris.
- El Hazzat N., Iraqi R., Bouseta A. (2015).** Identification par GC-MS et GC-FID-O des composés volatils des olives vertes de la variété « Picholine marocaine » : Effet de l’origine géographique. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 9(4).
- Enneb H., Belkadhi A., Cheour A., Ferchichi A. (2015).** Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (*Lawsonia inermis L.*). *Journal of new sciences Agriculture and Biotechnology*. 20(2) ,788-793.
- Es-Safi N. E. (2012).** Plant polyphenols: Extraction, structural characterization, hemisynthesis and antioxidant properties. In *Phytochemicals as Nutraceuticals-Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health*. IntechOpen.
- Eva B.M., Maša K.H., Mojca Š., Željko K., Urban B. (2016).** Polyphenols: Extraction methods, Antioxidative action, Bioavailability and Anticarcinogenic effects. *Molecules*. 21, 901.
- Favier A. (2003).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L’actualité chimique*, Novembre-Décembre. 108-115.
- Federico B., Rossella R., Carmine N., Luigi D.B., Stefania F. (2019).** Antimicrobial and Antibiofilm Activity against *Staphylococcus aureus* of *Opuntia ficus-indica* (L) Mill Cladode Polyphenolic Extracts. *Antioxydants*. 8(117), 1-13.
- Ferreira I.C.F.R., Barros L., Soares M.E., Bastos M.L., Pereira J.A. (2007).** Antioxidant activity and phenolic contents of *Olea europaea L.* leaves sprayed with

- different copper formulations. *Food Chemistry*. 103(1), 188-195.
- Flemming H.C., Wingender J. (2010).** The Biofilm Matrix. *Nature Reviews Microbiology*. 8(9), 623-633.
- Flemming H-C., Jost A., Szewzyk U., Steinberg P., Scott U.R., Kjelleberg S. (2016).** Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*. 14(9), 563-75.
- Frankel E., Kanner J., German J. B., Parks E., Kinsella J. E. (1993).** Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet*. 341, 454-457p.
- Freeman D.J, Falkiner F.R, Keane C.T. (1989).** New method for detecting slime production by coagulase negative *Staphylococci*. *Journal Clinical Pathology*. 42, 872–4.
- Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astanch S.A., Rasooli L. (2007).** Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*. 102, 898-904.
- Garait B. (2006).** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®. Thèse de doctorat, discipline en Biologie Cellulaire. Université Joseph Fournier, Grenoble I, France. 189p.
- Garrett T.R., Bhakoo M., Zhang Z.B. (2008).** Bacterial adhesion and biofilms on surface. *Progress in Natural Science*. 18 (9) ,1049-1056.
- Gehin A., Guyon C., Nicod L. (2006).** Glyphosate-induced antioxidant imbalance in HaCaT: The protective effect of Vitamins C and E. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 22(1), 27–34.
- Green P.S. (2002).** A revision of *Olea* L. (*Oleaceae*). *Kew Bull*. 57(1) ,91-140.
- Guettaf S., Abidli N., Kariche S., Bellebcir L., Bouriche H. (2016).** Phytochemical screening and antioxidant activity of aqueous extract of *Genista Saharae* (Coss. & Dur.). *Der Pharmacia Lettre*. 8 (1) ,50-60.
- Guillouty A. (2016).** Plantes médicinales et antioxydants. Thèse de doctorat en Pharmacie. Université III Paul Sabatier Toulouse, France. 94 p.
- Guzman-Soto I., Mc Tiernan C., Gonzalez-Gomez M., Ross A., Keshav G., Suuronen J.E., Thien-Fah M., Griffith M., Alarcon E.I. (2021).** Mimicking biofilm formation and development: Recent progress *in vitro* and *in vivo* biofilm models. *Iscience*. 24(5), 102443.

- Hadj Salem J. (2009).** Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse dérivés acylés de ces molécules par voie enzymatique. Doctorat de l'institut national polytechnique de Lorraine. France. 251 p.
- Hagerman A.E., Butler L.G. (1978).** Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 26(4), 809-812.
- Hall-Stoodley L., Costerton J.W., Stoodley P. (2004).** Bacterial Biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology*. 2(2), 95-108.
- Hall-Stoodley L., Stoodley P. (2009).** Evolving concepts in biofilm infections. *Cellular Microbiology*. 11(7), 1001-1150.
- Hamadi F., Latrache H., El Ghmari A., Ellouali M., Mabrouki M., Kouider N. (2004).** Effect of pH and ionic strength on hydrophobicity and electron donor and electron acceptor characteristics of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Annals of Microbiology*. 54(2), 213-225.
- Hamed M., Mojtah M., Abdolmajid G. (2019).** An overview on anti biofilm properties of quercetin against bacterial pathogens. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 35(143), 1-16.
- Hamoud G., Hamidchi L. (2022).** Evaluation de l'activité antibiofilm et antibactériennes des extraits des feuilles d'olivier et des gousses d'ail. Master en Agroalimentaire et contrôle de qualité. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algérie. 138p.
- Hanhineva K., Törrönen R., Bondia-Pons I., Pekkinen J., Kolehmainen M., Mykkänen H., Poutanen K. (2010).** Impact of Dietary Polyphenols on Carbohydrate Metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*. 11(4), 1365–1402.
- Harriott M.M., Noverr M.C. (2011).** Importance of Candida-bacterial polymicrobial biofilms in disease. *Trends in Microbiology*. 19(11), 557-563.
- Harshey R.M. (2003).** Bacterial motility on a surface: many ways to a common goal. *Annual Reviews in Microbiology*. 57 (1), 249-273.
- Hayouni E., Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M. (2007).** The effects of solvent and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quecus coccifera L.* and *Juniperus phoenicea L.* fruit extracts. *Food Chemistry*. 105(3), 1126-1134.
- Hentzer M., Teitzel G.M., Balzer G.J., Heydorn A., Molin S., Givskov M., Parsek M.R. (2001).** Alginate overproduction affects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm structure and function. *Journal of bacteriology*. 183(18), 5395-401.

- Hermans K., Devriese L.A., Haesebrouck F. (2010):** *Staphylococcus*. In: Gyles C.L., Prescott J.F., Songer G. et Thoen C.O. (EDS.). Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals, 4th Edition, Wiley-Blackwell, 75-89.
- Hernandez N.E., Terschuk M.L, Abdala I.R. (2000).** Antimicrobial activity of flavonoids in medicinal plants from Tafi del Valle (Tucuman, Argentina). *Journal of Ethnopharmacology*. 73, 317-322.
- 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 6 caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-CoA : shikimate/quinatate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT) .Thèse de doctorat en Biologie Cellulaire. Université Louis Pasteur Strasbourg, France.289p.
- Hori K., Matsumoto S. (2010).** Bacterial Adhesion: From Mechanisms to Control. *Biochemical Engineering Journal*. 48(3) ,424-434.
- Houdjedje C., Mehimmedetsi D. (2018).** Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits d'olives. Mémoire de Master en sciences de Toxicologie. Université des Frères Mentouri Constantine, Algerie.119p.
- Hussain A.I., Anwar F., Chata S.A.S., Jabbar A., Mahboob S., Nigm P.S. (2010).** Rosmarinus officinalis essentielles oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterialactivites. *Brazilian journal of Microbiology*. 41, 1070-1078.
- Kalia K., Sharma K., Singh H.P., Singh B. (2008).** Effects of extraction methods on phenolic contents and antioxidant activity in aerial aarts of *Potentilla atosanguinea* Lodd. and quantification of its phenolic constituents by RP-HPLC. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 56, 10129– 10134.
- Kara Terki I. (2014).** Caractérisation et évaluation de la formation de biofilm de souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires chez des patients hospitalisés au CHU de Tlemcen. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, Algérie.
- Kassi A., Ballo D., Kabran A., Sissouma D., Adjou A. (2020).** Evaluation du pouvoir antioxydant et de la teneur en polyphénols totaux de six plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies cardiovasculaires. *Journal of Applied Biosciences*. 153, 15788 – 15797.
- Katsube T., Tabata H., Ohta Y., Yamasaki Y., Anuurad E., Shiwaku, K. (2004).** Screening for antioxidant activity in edible plant products: Comparison of low-density

- lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay and Folin–Ciocalteu assay. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 52, 2391–2396.
- Kebbour N.E., Menad W. (2022).** Evaluation de quelques activités biologiques des racines de gombo : Application *in vitro*. Master en Biotechnologie Microbienne. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algérie.94p.
- Khadri A., Serralheiro M.L.M., Nogueira J.M.F., Neffati M., Smiti S., Araujo M.E.M. (2008).** Antioxidant and antiacetyl cholinesterase activities of essential oils from *Cymbopogon Schoenanthus* L. Spreng. Determination of chemical composition by GC–massspectrometry and ¹³C NMR. *Food Chemistry*.109, 630–637.
- Kholkhal F. (2014).** Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *eucliliatus*. Thèse de doctorat en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, Algérie.200p.
- Kholkhal F., Hamadi A., Lazouni-Bendahou M., Boublenza I., Daoudi S., Chaouch T. (2013).** Étude phytochimique et évaluation de l’activité anti-oxydante de *Thymus.Ciliatus* ssp. *Coloratus*. *Afrique Science*. 09(1), 151 – 158.
- Kierek-Pearson K., Karatan E. (2005).** Biofilm development in bacteria. *Advances in Applied Microbiology*. 57, 1-33.
- Klausen M., Aaes-Jørgensen A., Molin S., Tolker-Nielsen T. (2003).** Involvement of bacterial migration in the development of complex multicellular structures in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Molecular Microbiology*. 50 (1), 61-68.
- Klimczak I., Malecka M., Szlachta M., Gliszczynska-Swiglo A. (2007).** Effect of storage on the content of polyphenols; vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Com position and Analysis*. 20, 313.
- Kodjo S., Kafui K., Oudjaniyobi S., Pakoupati B., Amegnona A., Messanvi G. (2017).** Etude comparative des activités antioxydantes d’extraits éthanoliques de feuilles, d’écorces et de racines de *Cassia sieberiana*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 11(6), 2924.
- Koo H., Allan R.N., Howlin R.P., Stoodley P., Hall-Stoodley L. (2017).** Targeting Microbial Bioflms: Current and Prospective Therapeutic Strategies. *Nature Reviews Microbiology*.15(12), 740–755.
- Koudoro Y. A., Alfred N.T., Selcuk K., Ozgur C., Agbangnan D. C.P., Avlessi F., Sohounhloue C. K.D., Mehmet E.D., Rodica M.D. (2022).** Phenolic profiles, Antioxidant, Antiquorum Sensing, Antibiofilm and Enzyme Inhibitory Activities of

- selected Acacia species collected from Benin. LWT Food Science and Technology. 171(114126).
- Labane S., Tadala F. (2015).** Evaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits bruts des feuilles de l'olivier sauvage (*Olea europaea* subsp. *sylvestris*). Master en Microbiologie Appliquée. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie. 74p.
- Lahcene S. (2020).** Caractérisation biochimique et activités biologiques des extraits de l'olivier de Laperrine *Olea europaea* subsp *laperrinei* (Batt. et Trab.) Cifferi. Thèse de doctorat en Biotechnologie. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algérie.143p.
- Lahcene S., Taibi F., Mestar N., Ali Ahmed S., Boumendjel M., Ouafi. S, Houali K. (2018).** Insecticidal effects of the *Olea europaea* subsp. *laperrinei* extracts on the flour Pyralid *Ephestia kuehniella*. Cellular and Molecular Biology. 64(11) ,6-12.
- Le Tutour B., Guedon D. (1992).** Antioxidative activities of *Olea europaea* related phenolic compounds. Phytochemistry.31(4), 1173-1178.
- Lee O.H., Lee B.Y., Lee J., Lee H.B., Son J.Y., Park C.S., Shetty K., Kim Y.C. (2009).** Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. Bioresource Technology. 100(23), 6107-6113.
- Leonoudakis D., Rane A., Angeli S., Lithgow G.J., Andersen J.K., Chinta S.J. (2017).** Anti-inflammatory and neuroprotective role of natural product securinine in activated glial cells, implications for Parkinson's disease. Mediators of inflammation, 2017, 1-11.
- Madi A. (2018).** Caractérisation phytochimique et évaluation des activités biologiques de *Cleome arabica*. Thèse de doctorat en science. Université des frères Mentouri Constantine, Algérie .106p.
- Mahmoudi S., Khali M., Mahmoudi N. (2012).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*). Revue Nature et Technologie. 5(2), 35-40.
- Marchal M. (2010).** Etude des biofilms bactériens arsénite-oxydants. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg, France.
- Mariana N.S., Salman S.A., Neela V., Zamberi S. (2009).** Evaluation of modified Congo red agar for detection of biofilm produced by clinical isolates of methicillin-resistance *Staphylococcus aureus*. African Journal of Microbiology Resaerch. 3,330-338.
- Martinez L.R., Casadevall A. (2007).** *Cryptococcus neoformans* biofilm formation depends on surface support and carbone source and reduces fungal cells susceptibility to heat, cold and UV light. Applied and Environmental Microbiology. 73(14):4592-601

- Mathur T., Singhal S., Khan S., Upadhyay DJ., Fatma T., Rattan A. (2006).** Detection of biofilm formation among the clinical isolates of *staphylococci*: an evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Medical Microbiolog.* 24, 25-29.
- Mayachiew P., Devahastin S. (2008).** Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *Food Science and Technology.* 41,1153-1159.
- MC Manus J.P., Davis K.G., Beart J.E., Gaffney S.H., Lilley T.H., Haslam, E. (1985).** Polyphenol interactions. Part 1. Introduction; some observations on the reversible complexation of polyphenols with proteins and polysaccharides. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions.* 2 (9), 1429-1438.
- McDougald D., Scott A.R., Barraud N., Steinberg, P.D., Kjelleberg, S. (2011).** Should we stay or should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. *Nature Reviews Microbiology.* 10(39) ,1-12.
- Medail F., Quezel P., Besnard G., Khadari B. (2001).** Systematics, ecology and 10 phylogeographic significance of *Olea europaea* L. ssp. *maroccana* (Greuter & Burdet) P. Vargas et al un olivier relictuel du sud-ouest du Maroc. *Journal botanique de la Linnean Society.* 137(3), 249–266.
- Merouane A., Noui A., Medjahed H., Nedjari B.A.K., Saadi A. (2014).** Activité antioxydante des composés phénoliques d’huile d’olive extraite par méthode traditionnelle. *International Journal of Biological and Chemistry Sciences.* 8(4), 1865-1870.
- Mohamadi I., Tababouchet S. (2022).** Activité antioxydante des racines et l’écorce d’*olea europaea* L. Master en Biochimie. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Bordj Bou Arreridj, Algérie.
- Mota R., Thomas G., Barbosa Filho J.M. (1985).** Anti-inflammatory actions of tannins isolated from the bark of *Anarcadium occidentale* L. *Journal of Ethnopharmacology.* 13, 289-300.
- Moualek I., Iratni Aiche G., Mestar Guechaoui N., Lahcene S., Houali K. (2016).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Arbutus unedo* aqueous extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* 6(11), 937–944.
- Nagendran B., Kalyana S., Samir S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agrindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry.*12 (99), 191–20.
- Nanni N., Belloum N. (2020).** Contribution à l'étude phytochimique de racine de

- Pergularia tomentosa* L. dans la région d'El•Oued. Master en Toxicologie. Université Université Echahid Hamma Lakhdar EL•OUED, Algérie.87p.
- Nasr R., AbuShady H., Hussein H. (2012).** Biofilm formation and presence of icaAD gene in clinical isolates of *Staphylococci*. The Egyptian Journal of Medical Human Genetics. 13, 269-274.
- National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report.** Data summary from January 1992 through June 2004. American Journal of Infection Control. 32, 470-485.
- Nguinambaye M., Nana R., Savadogo A., Alain I., Tamini Z. (2015).** Composés organiques et activités antioxydantes d'*Ampelocissus multistriata* du Tchad. Journal of Applied Biosciences. 91, 8470 – 8479.
- Othmani A. (2014).** Médiation chimique entre l'algue brune méditerranéenne *Taonia atomaria* et la communauté bactérienne associée à sa surface. Thèse de doctorat en Ecologie Chimique Marine, Université de Touloun, France.
- O'Toole G.A., Kolter R. (1998).** Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. Molecular Microbiology. 30 (2), 295-304.
- Ouattaka K. (2021).** Analyse quantitative et évolution de quelque activité antioxydantes des extrait bruts des fruits de l'olivier de Laperrine (*olea europaea* subsp. *laperrinei*). Mémoire de Master en Biochimie Appliquée. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algérie. 50p.
- Ouchar mahamat O., Tidjani A., Savadogo A., Abakabir mahamat A., Somda MK., Oyaizu M. (1986).** Studies on products of browning reaction. Antioxidative Activities of Products of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics. 44(6), 307-315.
- Parsek M.R., Greenberg E.P. (2005).** Sociomicrobiologie : les liens entre quorum sensing et biofilms. Trends in Microbiology. 13(1) ,27-33.
- Patra A.K., Saxena J. (2010).** Une nouvelle perspective sur l'utilisation des métabolites secondaires des plantes pour inhiber la méthanogenèse dans le rumen. Phytochimie. 71(11-12), 1198–1222.
- Percival S.L., Vuotto C., Gianfranco D., Lipsky, B.A. (2015).** Biofilms and Wounds: An Identification Algorithm and Potential Treatment Options. Advances in Wound Care. 4(7), 389–397.

- Pessini G. L., Dias Filho B. P., Nakamura C. V., Cortez D. A. G. (2003).** Antibacterial activity of extracts and neolignans from *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 98(8), 1115–1120.
- Pietta P.G. (2000).** Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*. 63(7), 1035-1042.
- Pisoschi A.M., Cheregi M.C., Danet A.F. (2009).** Total antioxidant capacity of some commercial fruit juices: Electrochemical and spectrophotometrical approaches. *Molecules*. 14(1), 480-493.
- Ponce A.G., Fritz R., Del Valle C., Roura S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-wissenschaft Technologie Science alimentaire*. 36(7), 679-684.
- Prescott LM, Harley J., Klein DA., (2010).** *Microbiologie* 2^{ème} édition. De Boeck, Paris, 979p.
- Prieto P., Pineda M., Aguilar M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*. 269(2), 337-341.
- Rahman T., Hosen I., Towhidul I., Uddin S. H. (2012).** Oxidative stress and human health. *Advances in Biosciences and Biotechnology*. 3, 997-1019.
- Ramage G., Saville S. P., Wickes B. L., Lopez-Ribot J. L. (2002).** Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation by farnesol, a quorum-sensing molecule. *Applied and Environmental Microbiology*. 68(11), 5459-5463.
- Rauwald H.W., Brehm O., Odenthal K.P. (1994).** Screening of nine vasoactive medicinal plants for their possible calcium antagonistic activity. Strategy of selection and isolation for the active principles of *Olea europaea* and *Peucedanum ostruthium*. *Phytotherapy Research*. 8, 135–14.
- Ray S-D., Wong V., Rinkovsky A., Bagchi M., Raje R.R., Bagchi D. (2000).** Unique organoprotective properties of a novel IH 636 grape seed proanthocyanidin extract on cadmium chloride-induced nephrotoxicity in mice. *Research Communications in Molecular Pathology and Pharmacology*. 107 (1-2), 105-128.
- Rewatkar A.R., Wadher B.J. (2013).** *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm formation Methods. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)*. 8(5), 36-40.

- Richard W. (2013).** Nouvelle stratégie de fonctionnalisation de surfaces d'électrodes à base de sels de diazonium : application aux capteurs à antioxydants. Thèse de doctorat en génie des procédés et de l'environnement. Université Toulouse III Paul Sabatier, France.
- Rira M. (2019).** Les tannins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical. Thèse de doctorat de l'école doctorale des sciences de la vie et de la santé agronomique-environnement. Université Clermont Auvergne, France.231p.
- Robert J., Palmer J., Stoodley P. (2007).** Biofilms: Broadened Horizons and New Emphases. *Journal of Bacteriology*.189, 7948–7960.
- Roux A., Ghigo J.M. (2006).** Les Biofilms Bactériens. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*. 159(3), 261-268.
- Sandasi M., Leonard C.M., Viljoen A.M. (2007).** The effect of five common essential oil components on *Listeria monocytogenes* biofilms. Department of Pharmaceutical Sciences, Tshwan University of Technology.
- Schrowder M.P., Messing A.M. (1949).** Methods for comparing the antibacterial activity of essential oil and other aqueous insoluble compounds. *Bulltin National, Formulary Committee*. 17, 213-218.
- Séviour T., Winnerdy R.F., Wong L.L., Xiangyan S., Sudarsan Myong H. F., Castaing R.,Sunil S.A.,Sujatha S.,Gurjeet S. K., Heather M. S., Jason R. S., Scott A. R. ,Anh T. P, Kjelleberg S. (2021).** The biofilm matrix scaffold of *Pseudomonas aeruginosa* contains G-quadruplex extracellular DNA structures. *Nature Partner Journal. Biofilms and Microbiomes*. 7(24) ,1-12.
- Shang-Ju Z., Yi-Ming L., Hai-Chao Z., Shu-Dong W., Guang-Hui L., Gong-Fu Y. (2010).** Antioxidant Tannins from Stem Bark and Fine Root of *Casuarina equisetifolia*. *Molecules*. 15, 5658-5670.
- Singleton V. L., Rossi J.A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*. 16(3) ,144.
- Slobodníková L., Fialová S., Rendeková K., Kováč J., Mučaji P. (2016).** Antibiofilm Activity of Plant Polyphenols. *Molecules*. 21(1717), 1-15.
- Spormann A.M. (2008).** Physiology of microbes in biofilms. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 322, 17- 36.
- Stagos D., Portesis N., Spanou C., Mossialos D., Aligiannis N., Chaita E. (2012).**

- Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic *Lamiaceae* species. Food and Chemical Toxicology. 50,4115- 4124.
- Stagos D., Amontzias G.D., Matakos A., Spyrou A.A., Tsatsakis A.M., Kouretas D. (2012).** Chemoprevention of liver cancer by plant polyphénols. Food and chemical Toxicology. 50, 2155-2170.
- Stalikas D. (2007).** Extraction, separation and detection methods for phenolic acids and flavonoids. Journal of Separation Science. 30, 3268-3295.
- Stewart P.S. (2003).** Diffusion in Biofilms. Journal of Bacteriology. 185(5), 1485-1491.
- Sudjana A.N., D’Orazio C., Ryan V., Rasool N., Ng J., Islam N., Riley T.V. and Hammera K.A. (2009).** Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. International Journal of Antimicrobial Agents. 33, 461-463.
- Tapas A.R., Skarkar D.M., Kakde R.B. (2008).** Flavonoids as nutraceuticals: A Review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research.7(3) ,1089-1099.
- Tawaha K., Alali F., Gharaibeh M., Mohammad M., El-Elimat T. (2007).** Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food Chemistry. 104,1372–1378.
- Traore A.S. (2013).** Isolement et caractérisation des bactéries productrices des biofilms issues des produits alimentaires. Revue de microbiologie industrielle, sanitaire et environnementale. (2) ,187-210.
- Treki A.S., Merghem R., Dehimat L. (2009).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée : *Thymus hirtus*. Sciences & Technologie. 29, 25-29.
- Tremblay Y.D.N., Hathroubi S., Jacques M. (2014).** Les Biofilms Bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. Canadian Journal of Veterinary Research. 78(2), 110–116.
- Turkmen N., Velioglu Y.S., Sari F., Polat G. (2007).** Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. Molecules.12, 484-496.
- Urquiaga I., Leighton F. (2000).** Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. Biological research. 33(2), 1-11.
- Vanzielegem T., Delmée M. (2020).** Les Biofilms en Milieu Hospitalier : quels sont les

- enjeux pour l'hygiène hospitalière ? Nos infos. 1-10.
- Vargas P., Muñoz Garmendia F., Hess J., Kadereit J. (2001).** *Olea europaea* ssp. *Guanchica* and ssp. *Maroccana* (*Oleaceae*), two new names for olive très relatives. *Anales Jardin Botánico de Madrid*. 58,360-361.
- Verstraeten N., Braeken K., Debkumari B., Fauvart M., Fransaeer J., Vermant J., Michiels J. (2008).** Living on a surface: swarming and biofilm formation. *Trends in Microbiology*. 16 (10), 496-506.
- Visioli F., Galli C. (2002).** Biological properties of olive oil phytochemicals. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 42(3), 209-221.
- Waters C.M., Bassler B.L. (2005).** Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 21,319-346.
- Watterson J.J., Bulter L.G.(1983).** Occurrence of an unusual leucoanthocyanidin and absence of proanthocyanidins in sorghum leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 31, 41645.
- Wojdylo A., Oszmianski J., Czemerys R. (2007).** Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*. 105,940-949.
- Wollgast J., Anklam E. (2000).** Review on polyphénols in *Theobroma Cacao*: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*. 6(33), 423-447.
- Wong C.C., Li H.B., Cheng K.W., Chen F.A. (2006).** Systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry*. 97, 705-711.
- Yakhlef G., Laroui S., Hambaba L., Aberkane M.C., Ayachi A. (2011).** Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie* .9, 209-218.
- Yala D., Merad A.S., Mohamed D., Ouar Korich M.N. (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine de Maghreb*. N° 91.
- Yang D., Mei H., Dai H. (2010).** Antimicrobial Alkaloids from the Tubers of *Stephania succifera*. *Zeitschrift Für Naturforschung B*. 65 (6), 757-761.
- Yang Z., Li S., Zhang Z., Zeng X., Li D., Zhao Y., Zhang J. (2010).** Capsular and slime-polysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* JAAS8 isolated from Chinese sauerkraut: application in fermented milk products. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 110,53-57.

- Yin W., Yiting W., Liu L., Jin H. (2019).** Biofilms: The Microbial “Protective Clothing” in Extreme Environments. *International Journal of Molecular Sciences*. 20, 3423.
- Yum S.J., Kwon J.H., Lee K.T., Park J.T., Jeong H.G. (2022).** Efficacy of Pristimerin against *Staphylococcus aureus* Planktonic Cultures and Biofilms. *LWT Food Science and Technology*. 164(113627).

Résumé

Olea europaea subsp. *laperrinei* est une *Oleaceae* endémique et relique des régions montagneuses du Sahara central. A partir d'un extrait aqueux de racines, un dosage des composés phénoliques a été réalisé révélant une teneur en polyphénol totaux de $5 \pm 0,327$ mg EAG/g RS et une teneur en flavonoïdes totaux de $12,5 \pm 2,16$ mg EQ/g RS. Le dosage des tannins totaux révèle une teneur élevée $104,22 \pm 22,45$ mg EAT/g RS. La capacité antioxydantetotale déterminée quantitativement par la méthode de phosphomolydène, indique une valeur de $290 \pm 53,03$ mg EAA/g. Alors que le test FRAP donne une IC50 égale à $433 \mu\text{g/ml}$. L'évaluation des activités antibactériennes et antibiofilms de l'extrait aqueux de racines de l'olivier de Laperrine ont été étudiés *in vitro* par la méthode de diffusion sur gélose solide vis-à-vis d'une souche à Gram- et à Gram+, notamment *E.coli* (ATCC 25922), *S.aureus* (ATCC 25923) respectivement. La gélose MH a été utilisée pour la détermination de l'effet antibactérien de l'extrait EAR à l'encontre des deux souches et cela révèle la résistance d'*E.coli* et une éventuelle sensibilité de la souche *S.aureus*. En outre, le milieu RCA a servi pour évaluer l'activité antibiofilms sur *S.aureus*, les résultats obtenus dévoilent que l'extrait EAR de l'olivier inhibe la croissance du biofilm.

Mots clés : Olivier de Laperrine, extrait de racines, composés phénoliques, activités antioxydantes, activité antibactérienne et antibiofilm.

Abstract

Olea europaea subsp. *laperrinei* is an *Oleaceae* endemic and relict from the central Sahara mountainous regions of the central Sahara. From an aqueous extract of the roots, a determination of phenolic compounds was carried out revealing a total polyphenol content of $5 \pm 0,327$ mg EAG/g RS and a total flavonoid content of $12,5 \pm 2,16$ mg EQ/g RS. The total tannin content was high $104,22 \pm 22,45$ mg EAT/g RS. The total antioxidant capacity, determined quantitatively by the phosphomolydene method, indicates a value of $290 \pm 53,03$ mg EAA/g. While the FRAP test gives an IC50 of $433 \mu\text{g/ml}$. The evaluation of the antibacterial and antibiofilm activities of the aqueous extract of Laperrine olive roots were studied *in vitro* by the solid agar diffusion method against a Gram - and a Gram + strains, namely *E. coli* (ATCC 25922), *S.aureus* (ATCC 25923) respectively. MH agar was used to determine the antibacterial effect of the EAR extract against both strains and this revealed resistance of *E. coli* and possible sensitivity of the *S.aureus* strain. In addition, the RCA medium was used to evaluate the antibiofilm activity on *S.aureus*, the results obtained reveal that the olive tree EAR extract of the olive tree inhibits the growth of the biofilm.

Key words: Laperrine olive, root extract, phenolic compounds, antioxidant activities, antibacterial activity and antibiofilm.