

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLEB -Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière Sciences Biologiques

Option : Microbiologie

**Étude de l'activité antibactérienne et synergie des
extraits éthanoliques d'*Arbutus unedo* L. et de *Ferula
communis* L.**

Présenté par :

Soutenu le : 30/06 /2025

Mlle AGGAB Manel Zhor

Mlle BENNAI Imene

Devant le jury :

Nom

Grade/Lieu

Qualité :

Mme Ouahchia .C

MCB /USDB1

Présidente

Mme Amedjkouh .H

MCB/USDB1

Examinatrice

Mme Lounaci .L

MCB/USDB1

Promotrice

Année universitaire :2024/2025

Remerciement :

Nous remerciant tout d'abord Allah le tout puissant de nous avoir donner la force la patience et le courage pour accomplir ce travail.

*On tient à exprimer notre profonde gratitude à notre encadrante **Dr. Lounaci . L** d'avoir accepté de dirigée ce projet, sa disponibilité ses orientations, et son encouragement constant on était essentielle à la réalisation de ce mémoire*

*On remercie très sincèrement les membres de Jury **Dr. Ouahachia. C** et **Dr. Amedjkouh .H** pour avoir accepté d'évaluer notre travail. Merci pour le temps précieux que vous aviez consacré à lire et à examiner notre travail.*

On remercie aussi l'ensemble du personnels de laboratoire d'analyse et laboratoire microbiologie (PFE) et laboratoire de recherche enivrement biotechnologie et santé de l'université Saad Dahleb Blida-1- pour leurs accueille et leurs disponibilités.

Nous tenons enfin à remercier toutes les personnes qui nous ont aidées de près ou de loin dans notre cursus universitaire.

Dédicace

*Tout d'abord, je tiens à remercier le bon Dieu tout puissant de m'avoir
donné la force et le courage de bien mener ce modeste travail*

*Je remercie du fond du cœur ma chère mère, pilier de ma vie, pour son
amour inépuisable et ses prières constantes.*

*Ma profonde gratitude à mes frères Aymen, Yasser et Mouataz, pour
leur soutien, leur patience et leurs encouragements précieux.*

*Je remercie du fond du cœur mes amies, mes complices, mes piliers —
pour leur écoute, leur patience et leurs encouragements.*

*Ma reconnaissance s'étend à toute ma famille, et plus encore à toutes
les personnes qui m'ont tendu la main, cru en moi et m'ont
accompagnée à un moment ou un autre. Que chacun de vous se
reconnaisse à travers ces mots de gratitude.*

Aggab Manel Zhor

Dédicace:

Tout d'abord, je tiens à remercier Dieu, le Tout-Puissant, de m'avoir accordé la force, la patience et le courage nécessaires pour mener à bien ce modeste travail.

Ce mémoire est dédié avec tout mon amour et ma profonde gratitude :

À ma chère mère et mon cher père, pour leur amour inconditionnel, leurs sacrifices innombrables et leur soutien indéfectible tout au long de mon parcours. Vos prières, votre confiance et votre présence bienveillante ont été ma plus grande force.

À mes deux sœurs et mon frère, compagnons de route, avec qui j'ai partagé chaque moment de doute, de joie et d'espoir. Merci pour votre présence constante et vos encouragements.

À ma tante, cette femme au cœur immense, toujours présente avec ses mots rassurants et son amour maternel.

À ma belle-sœur, pour sa gentillesse, sa présence discrète mais précieuse et son soutien chaleureux.

À mes neveux et nièces, ces petits êtres qui remplissent ma vie de lumière, de rires et d'énergie.

À mes amies chères, celles qui m'ont accompagnée, écoutée, encouragée et portée avec bienveillance durant tout ce parcours. Votre amitié est un cadeau inestimable.

À toute ma famille, aussi bien paternelle que maternelle, pour votre amour, vos prières et votre fierté.

Bennaï Imene

Résumé

Devant la problématique croissante de la résistance bactérienne aux antibiotiques, l'investigation de thérapies naturelles alternatives apparaît comme une nécessité scientifique urgente. C'est dans ce cadre que s'inscrit la présente étude, laquelle a pour objectif d'analyser les effets antibactériens et les interactions synergiques de deux plantes médicinales : *Arbutus unedo* et *Ferula communis*. Le but principal de ce travail est d'évaluer l'efficacité de ces extraits végétaux sur des souches bactériennes pathogènes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*), de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI), et d'analyser l'effet de leur association, afin de mieux comprendre l'éventuel synergie entre ces deux plantes, et leur potentiel antimicrobien. Une extraction éthanolique par Soxhlet des parties végétales (feuilles d'*A. unedo* et tiges de *F. communis*), avec un rendements de 14,25 % pour *A. unedo* et 5,25 % pour *F. communis*, suivie de tests de diffusion sur disque (aromatogramme) à révéler une sensible variable des souches bactériennes testées vis-à-vis des extraits éthanoliques des deux plantes seules et combinées (1 :1, 1 :2 et 2 :1) à des concentrations différentes (50, 100 et 150 µl/ml). La microdilution a permis de déterminer les concentrations minimales inhibitrices, les CMI les plus faibles ont été notées pour *A. unedo* contre *P. aeruginosa* (1,25 µl/ml) et *F. communis* contre les trois souches testées (20 µl/ml). Les rapports CMB/CMI ont révélé un effet bactéricide dans la majorité des cas isolés, excepté pour l'extrait d'*A. unedo* face à *P. aeruginosa*, où l'effet était bactériostatique. Le calcul de l'indice de concentration inhibitrice fractionnaire (ΣFICI) a confirmé une interaction majoritairement indifférente ou antagoniste entre les deux extraits.

Mots clés : Activité antibactérienne, *Arbutus unedo*, Extrait éthanolique, *Ferula communis*, CMI, CMB, synergie, FICI, bactéries pathogènes, antibiothérapie alternative.

Abstract

In light of the growing issue of bacterial resistance to antibiotics, the investigation of alternative natural therapies has become an urgent scientific necessity. This study fits within this context, aiming to analyze the antibacterial effects and synergistic interactions of two medicinal plants: *Arbutus unedo* and *Ferula communis*. The main objective of this work is to assess the effectiveness of these plant extracts against pathogenic bacterial strains (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*), to determine their minimum inhibitory concentrations (MICs), and to analyze the effect of their combination in order to better understand the potential synergy between these two plants and their antimicrobial potential. An ethanolic extraction using a Soxhlet apparatus was carried out on the plant parts (leaves of *A. unedo* and stems of *F. communis*), yielding 14.25% for *A. unedo* and 5.25% for *F. communis*. Disk diffusion assays (aromatograms) revealed variable sensitivity of the tested bacterial strains to the ethanolic extracts, both individually and in combination (ratios of 1:1, 1:2, and 2:1) at different concentrations (50, 100, and 150 µl/ml). Microdilution tests enabled the determination of MIC values. The lowest MICs were observed for *A. unedo* against *P. aeruginosa* (1.25 µl/ml) and for *F. communis* against all three tested strains (20 µl/ml). The MBC/MIC ratios indicated a bactericidal effect in most individual cases, except for *A. unedo* against *P. aeruginosa*, where a bacteriostatic effect was observed. The calculation of the fractional inhibitory concentration index (ΣFICI) revealed that the interaction between the two extracts was mostly indifferent or antagonistic.

Key words: Antibacterial activity, ethanolic extract, *Arbutus unedo*, *Ferula communis*, MIC, MBC, synergy, FICI, pathogenic bacteria, antibiotic therapy.

نظراً لتزايد مشكلة مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية، أصبحت هناك حاجة ملحة للبحث عن بدائل طبيعية ملخص فعالة. في هذا الإطار، تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا والتفاعلات التآزرية لمستخلصي نباتين *Arbutus unedo* و *Ferula communis*: طبيين

:الهدف الأساسي من هذا العمل هو

و *Escherichia coli*: اختبار فعالية هذه المستخلصات النباتية على ثلاث سلالات بكتيرية ممرضة هي *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa*.

لكل مستخلص (MIC) تحديد التركيز المثبط الأدنى

دراسة تأثير الجمع بين المستخلصين لفهم التآزر أو التعارض المحتمل بينهما وإبراز إمكانيتهما كمضادات ميكروبية بديلة (بنسبة استخلاص *A. unedo* 5.25%). بعد ذلك أجريت اختبارات الانتشار *F. communis* 14.25%) ومن سيقان نبات لدراسة حساسية السلالات البكتيرية لكل مستخلص بشكل منفرد وبمزيج من النسب (Aromatogram) القرصي (1:1، 1:2، 2:1) بتركيزات (50، 100، 150 ميكرو لتر/مل).

أقل *A. unedo* تم تحديد القيم الدقيقة للتركيز المثبط الأدنى عبر اختبار التخفيف المجهري، حيث أظهر مستخلص فعالاً ضد *F. communis* (1.25 ميكرو لتر/مل)، في حين كان مستخلص *P. aeruginosa* ضد MIC قيمة يساوي 20 ميكرو لتر/مل MIC السلالات الثلاث عند

أظهرت نسبة التركيز المثبط الأدنى/التركيز القاتل للبكتيريا أن معظم المستخلصات كان لها تأثير قاتل للبكتيريا الذي أظهر تأثيراً مثبطاً للنمو فقط *P. aeruginosa* ضد *A. unedo*، باستثناء مستخلص (Bactericidal) أن التفاعل بين المستخلصين كان في الغالب غير مبالٍ أو $\Sigma FICI$ كما أظهر حساب مؤشر (Bacteriostatic) (Antagonistic) متضاد

الكلمات المفتاحية : *Ferula communis* , مستخلص الإيثانوليك, *Arbutus unedo*, النشاط المضاد للبكتيريا

التآزر، البكتيريا المسببة للأمراض، العلاج بالمضادات الحيوية البديل، التركيز المتعدد الميكروبي

Liste des figures

Figure 1 : Les différentes parties d' <i>A. unedo</i> (Moualek, 2018)	4
Figure 2: <i>F. communis</i> observée au niveau du djbel zeccar, dans la région de Aïn Torki (Wilaya de Ain defla) photoe originale,2025.	7
Figure 3: Carte de site du récolte (A) d' <i>A. unedo</i> (B) <i>F. communis</i> sur google earth (Ain Defla)	10
Figure 4: Montage de l'appareil de Soxhlet (López-Bascón & Luque de Castro, 2020).....	11
Figure 5: Représentation de l'extraction d' <i>A. unedo</i> par soxhlet (Photo originale).....	12
Figure 6: Illustration de la méthode d'aromatogrammes sur boîte de Pétri (Zaika, 1988)	13
Figure 7: Illustration de micro dilution sur microplaque (plan).....	18
Figure 8 : Différents diamètres des zones d'inhibitions d' <i>A. unedo</i> obtenues par méthode de disque de diffusion sur disque d'agar (aromatogramme).	21
Figure 9 : Différents diamètres des zones d'inhibitions de <i>F. communis</i> obtenues par méthode de disque de diffusion sur disque d'agar.....	22
Figure 10: Différents diamètre des zones d'inhibitions de l'association entre les extraits éthanoliques vis-à-vis les bactéries testées.	24
Figure 11: Histogramme représentant les diamètres des zones d'inhibitions en associant les deux extraits	25
Figure 12 : Les concentrations 50, 100 et 150 µl/mL des extraits éthanoliques des de plantes.....	44
Figure 13 : Les dilutions semi logarithmique de <i>A. unedo</i>	45

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification botanique d' <i>A. unedo</i>	Error! Bookmark not defined.
Tableau 2: Classification botanique de <i>F. communis</i>	Error! Bookmark not defined.
Tableau 3: Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition (Ponce et al., 2003).	16
Tableau 4: Rendement d'extrait éthanolique d' <i>A. unedo</i> et de <i>F. communis</i> extraite par Soxhlet	Error! Bookmark not defined.
Tableau 5: Diamètres de la zone d'inhibition en (mm) expriment l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques de l' <i>A. unedo</i> par méthode de diffusion des disques	20
Tableau 6: Diamètres de la zone d'inhibition en (mm) expriment l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques de <i>F. communis</i> par méthode de diffusion des disques	22
Tableau 7: Diamètres des zones d'inhibition en (mm) expriment les diamètres de l'association entre les deux extraits étudiées.....	23
Tableau 8: Valeurs de la CMI et La CMB par Microdilution.....	26

Liste des abréviations

ATCC : Collection américaine de cultures de type

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DO : Densité Optique

DMSO : Diméthylsulfoxyde

EE : Extrait Éthanolique

EE1 : Extrait Éthanolique de *Ferula communis*

EE2 : Extrait Éthanolique d'*Arbutus unedo*

FIC : Concentration Inhibitrice Fractionnaire

ΣFICI : Somme des Concentrations Inhibitrices Fractionnaires

F. communis : *Ferula communis*

A.unedo : *Arbutus unedo*

Gram+ : Bactéries à Gram positif

Gram- : Bactéries à Gram négatif

LPS : Lipopolysaccharides

MH : Mueller-Hinton (milieu nutritif utilisé pour les tests microbiologiques)

RAM : Résistance aux Antimicrobiens

Sommaire

I. Introduction :	1
I.1 Généralités sur <i>Arbutus unedo</i> :	3
I.1.1 Description botanique d'<i>A. unedo</i>:	4
I.1.2 Classification botanique :	Error! Bookmark not defined.
I.1.3 Composition chimique de <i>A. unedo</i> :	5
I.1.4 Activités biologique d'<i>A. unedo</i>:	5
I.2 Généralités sur <i>Ferula communis</i> L:	6
I.2.1 Description botanique de <i>F. communis</i> :	6
I.2.1 Classification botanique :	Error! Bookmark not defined.
I.2.2 Composition chimique de <i>F. communis</i> :	7
I.2.3 Activités biologique :	8
I.3 Généralités sur l'extraction des composés végétaux :	8
I.3.1 L'extraction éthanolique :	8
I.4 La Synergie antimicrobienne des Extraits de Plantes :	8
II Matériel et méthodes	4
II.1 Matériel :	10
II.1.1 Matériel non biologique	10
II.1.2 Matériel biologique :	10
II.2 Méthodes :	11
II.2.1 Extraction éthanolique par Soxhlet :	11
II.2.2 Détermination des rendements :	12
II.2.1 Activité antibactérienne <i>in vitro</i> de <i>A. unedo</i> et de <i>F. communis</i> :	13
II.2.2 Etude quantitative : détermination de la CMI et CMB :	16
III Résultats et discussion :	20

III.1	Résultats :	20
III.1.1	Détermination des rendements des extraits :.....	20
III.1.2	Activité antibactérienne <i>in vitro</i> des extraits d' <i>A. unedo</i> et de <i>F. communis</i> :....	20
III.2	Discussion :.....	27
IV.	Conclusion :.....	33
Références:		34

INTRODUCTION

Introduction :

Les plantes médicinales, représentent une ressource essentielle pour la médecine traditionnelle à l'échelle internationale. Elles renferment des substances aux propriétés thérapeutiques avérées, ou des précurseurs de médicaments (**Bouzabata, 2015**). Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), une large part de la population mondiale continue d'utiliser ces ressources végétales dans sa pratique de soins primaires (**Azwanida, 2015**). Historiquement, l'utilisation des plantes pour leurs propriétés de guérison est une tradition qui a été perpétuée de génération en génération (**Bouzid et al., 2017**).

Aujourd'hui, cette tendance connaît une renaissance, alimentée par le désir croissant d'utiliser des traitements naturels, la sensibilisation accrue aux effets secondaires des médicaments synthétiques et les défis posés par la résistance aux antimicrobiens conventionnels. (**Azwanida, 2015**). Les progrès de la recherche scientifique ont permis non seulement de valider certaines pratiques anciennes, mais aussi d'identifier et de caractériser les principes actifs responsables de ces effets, dans une dynamique de développement de thérapeutiques plus efficaces, mieux tolérées et durables (**Daira et al., 2016**).

Les extraits végétaux sont aujourd'hui considérés comme des alternatives prometteuses dans la lutte contre les bactéries multirésistantes. Leur richesse en métabolites secondaires leur confère des propriétés antibactériennes naturelles bien documentées (**Nj et al., 2021**). Ces composés bioactifs agissent souvent selon des mécanismes multiples et complémentaires, parfois en synergie, renforçant ainsi leur efficacité et réduisant la probabilité de développement de résistances (**Vaou et al., 2021**).

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques, ainsi que d'étudier la synergie éventuelle entre les composés présents dans chaque extrait. L'activité antibactérienne des extraits éthanoliques est évaluée par différentes méthodes, telles que les tests de diffusion sur gélose et les tests de dilution en milieu liquide afin de déterminer leurs concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactériostatiques (CMB), le calcul du rapport (CMB/CMI) nous a permis de déduire l'effet de nos extraits sur les bactéries pathogènes testées (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*). Nous avons également calculé les sommes des Concentrations Fractionnelles Inhibitrices (Σ FICI) des combinaisons (1:1, 1:2 et 2:1) dont les résultats fournissent une approche exacte du potentiel synergétique de nos extraits éthanoliques testés. Cette étude est particulièrement

pertinente dans le contexte actuel de la résistance croissante aux antibiotiques, où de nouvelles approches thérapeutiques sont nécessaires.

Etude bibliographique

I.1 Généralités sur *Arbutus unedo* :

Arbutus unedo L., connu sous le nom d'arbousier ou « arbre à fraises » (strawberry tree), est un arbuste ou petit arbre sempervirent de la famille des Éricacées (**Bizouard et Favier, 1962; Mereti et al., 2002**). Originaire de la région méditerranéenne, il s'épanouit dans des bioclimats qui varient du semi-aride au très humide (**Dib, 2008**). Il se distingue par sa remarquable tolérance à la sécheresse et sa grande capacité de régénération (**Espírito Santo et al., 2012**). Sa longévité varie de 100 à 400 ans et il peut atteindre jusqu'à 10 mètres de hauteur (**Bizouard et Favier, 1962**).

L'aire de répartition de *A. unedo* couvre tout le bassin méditerranéen, y compris l'Afrique du Nord, avec une forte présence en Corse, où il pousse sur des terrains siliceux jusqu'à 1100 mètres d'altitude (**Bizouard et Favier, 1962**). On le trouve également dans le Midi le centre de la France et, plus rarement, dans certaines régions atlantiques comme l'Irlande. Il s'adapte à des sols variés : secs, argileux, siliceux ou calcaires (**Dib, 2008 ; Vidrih et al., 2013**).

L'arbousier occupe une place importante dans les pharmacopées traditionnelles méditerranéennes. Ces feuilles et fruits sont utilisés contre l'hypertension, le diabète, les infections urinaires et digestives (**Ziyyat et al., 1997; Vidrih et al., 2013**). Des recherches récentes ont confirmé ses propriétés médicinales antihypertensive, vasorelaxante, antioxydante et antiagrégante plaquettaire (**Dib, 2013 ; Pabuccuoglu et al., 2003**).

I.1.1 Classification botanique :

Selon Guignard (2001), la classification botanique d'*A. unedo* est la suivante :

Tableau 1 : Classification botanique d'*A. unedo*

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Ericales
Famille	Éricacées
Genre	<i>Arbutus</i>
Espèce	<i>Arbutus unedo</i>

I.1.2 Description botanique d'*A. unedo*:

L'arbousier présente un port buissonnant ou arborescent, avec un tronc pouvant atteindre 35cm de diamètre et une écorce rouge brunâtre, fissurée et écailleuse. Sa racine pivotante, très développée, s'enfonce profondément dans le sol, rendant l'arrachage difficile. Ses feuilles, persistantes, épaisses, brillantes, vert foncé, sont disposées de façon alterne. Elles mesurent 5 à 10cm et ont des bords finement dentelés (**Bizouard et Favier, 1962**).

La période de floraison s'étend des mois de septembre à octobre. Les fleurs, présentent des teintes allant du blanc au rose et possèdent une forme de cloche et se rassemblent en grappes pendantes (**Tardio et al., 2002 ; Celikel et al., 2008**). Les fruits, baies sphériques de 1 à 3 cm de diamètre, mûrissent en même temps que les fleurs. Leur couleur varie du vert au rouge foncé ; la chair est moelleuse, sucrée et acidulée, riche en petites graines (**Ayaz et al., 2000; Ruiz-Rodríguez et al., 2011**) (Figure 1).

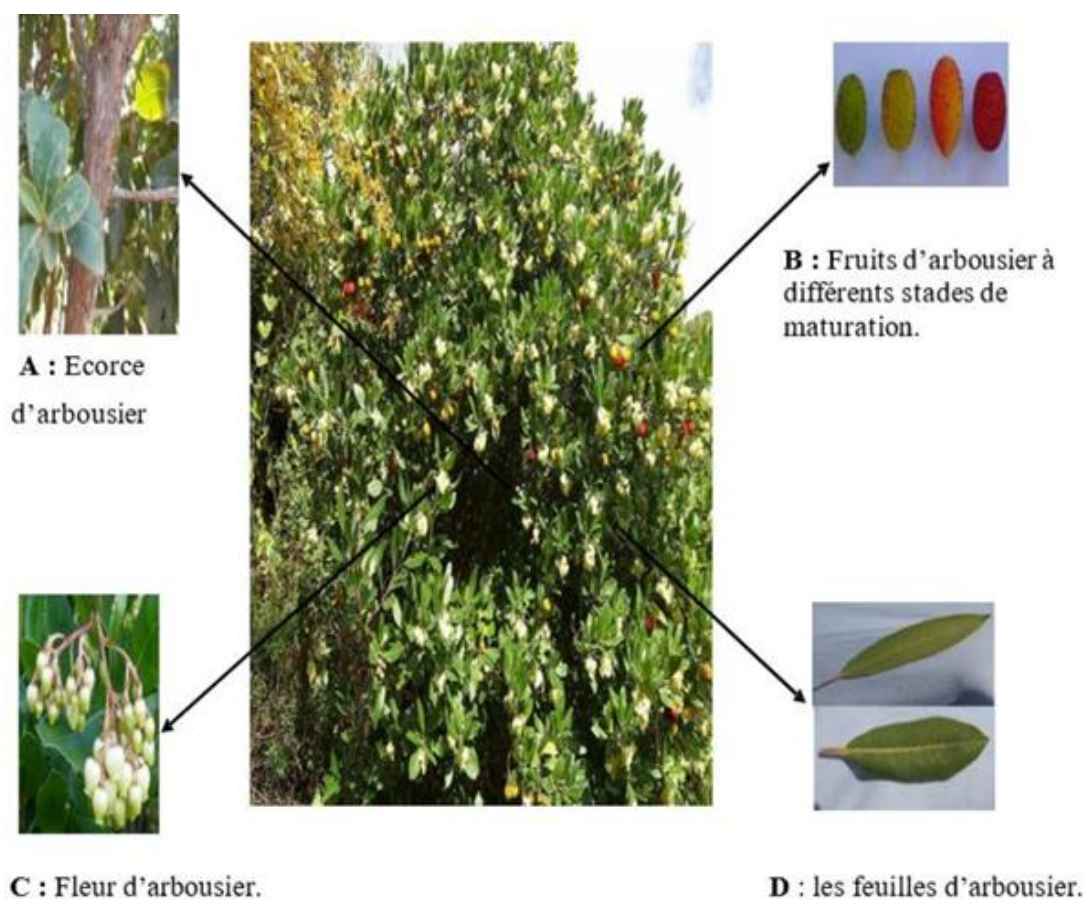


Figure 1 : Les différentes parties d'*A unedo* (Moualek, 2018)

I.1.3 Composition chimique d'*A. unedo* :

Les principaux composés chimiques trouvés dans les feuilles d *A. unedo* sont représentés dans le tableau 2.

Tableau 2: Principaux composés chimiques d'*A. unedo*

Catégorie	Composés principaux	Rôle	Références
Acides phénoliques	Acide gallique, acide chlorogénique	Antioxydants, antimicrobiens	(Alarcão-E-Silva et al., 2001 ; Özcan et al., 2007 ; Vidrih et al, 2013)
Flavonoïdes (Flavonols)	Quercitrin, Isoquercitrin, Hyperoside	Antioxydants, anti-inflammatoires	(Alarcão-E-Silva et al., 2001)
Tanins	Proanthocyanidines B1-B3	Astringents, antioxydants, protecteurs vasculaires	(Alarcão-E-Silva et al., 2001)
Anthocyanines	Cyanidine-3-O-glucoside, delphinidine-dérivés	Pigments naturels, antioxydants	(Alarcão-E-Silva et al., 2001)
Acides gras	Acide linoléique, α -linolénique	Effets nutritionnels, anti-inflammatoires	(Ruiz-Rodríguez et al., 2011 ; Vidrih et al, 2013)

I.1.4 Activités biologique d'*A. unedo*:

I.1.4.1 Activité antibactérienne :

A. unedo est reconnu pour ses effets antibactériennes, ses extrait riches en composés phénoliques, flavonoïdes, tanins qui inhibent la prolifération des divers bactéries pathogènes. Des études *in vitro* montrent une efficacité contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*. Ces propriétés sont dues aux polyphénols, qui modifient la structure cellulaire bactérienne et inhibent des enzymes essentielles (Nicholas Skandalis et al., 2017 ; Mekchiche, Al-Ismail et Takturi, 2022).

I.1.4.2 Activité antioxydante :

La richesse des différentes parties de l'arbousier en composés antioxydants naturels comme flavonoïdes, composés phénoliques, tanins et anthocyanes, responsables d'une importante activité antioxydante. Ces substances neutralisent les radicaux libres, inhibent la peroxydation lipidique et chélatent les ions métalliques, contribuant ainsi à la prévention du stress oxydatif et à la protection contre de nombreuses maladies (Mekchiche, Al-Ismail et Takturi, 2022).

I.2 Généralités sur *Ferula communis* L:

Le genre *Ferula* comporte près de 180 espèces poussant à travers le Monde, principalement dans les régions arides. 130 espèces sont communes au bassin méditerranéen et en Asie centrale (Pimenov et al., 2004).

Parmi les espèces les plus connues *F. communis*, connue sous le nom de fêrûle commune ou fenouil géant, est une plante médicinale et aromatique, riche en latex. Elle est traditionnellement utilisée pour ses propriétés thérapeutiques : antispasmodique, vermifuge, aphrodisiaque, diurétique, et parfois comme dépilatoire ou insecticide (Belakhdar, 1978 ; Hamiche et al., 2013).

I.2.1 Classification botanique :

D'après Quezel et Santa (1963) *F. communis* occupe la position systématique suivante :

Tableau 2: Classification botanique de *F. communis*

Embranchement	Spermaphytes
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	<i>Ferula</i>
Espèce	<i>Ferula communis</i> L.

I.2.2 Description botanique de *F. communis* :

Plante vivace, robuste, haute de 2 à 3 mètres, à racine épaisse et fusiforme, croît dans la Méditerranée surtout au Maroc et en Algérie. Sa tige est érigée, épaisse et cylindrique, elle porte des feuilles molles, triangulaires, de couleur vert cendré, grande (2 à 4cm de long et 0.5 à 0,8 mm de large), à segments divisés en lanières étroitement linéaires et filiformes (Quizel et Santa, 1963). Ses fleurs jaunes sont petites, odorantes et disposées en grandes ombelles. Les fruits bruns et elliptiques sont formés de deux méricarpes (Hamiche et al. 2013) (Figure 2).



Figure 2: *F. communis* observée au niveau du djbel zeccar, dans la région de Aïn Torki (Wilaya de Ain defla) photographie originale,2025.

I.2.3 Composition chimique de *F. communis* :

Les principaux composés chimiques trouvés dans *F. communis* sont représentés dans le tableau 4.

Tableau 4: Principaux composés chimiques de *F. communis*

Catégorie	Composes principaux	Rôle	Références
Coumarines prenylees	Férulénol, férutinine, lapidine, isoferprénine, coladine	Cytotoxique, anticoagulant	Benkhalti, 1993
Phénols	Acide gallique, Acide férulique, acide syringique, acide chlorogénique	Antioxydant, antimicrobien	Rahali et al., 2021
Acides gras	Acide linoléique, acide palmitique, acide érucique,	Anti-inflammatoire, protecteur cardiovasculaire	Rahali et al., 2021
Flavonoïdes	Quercétine, flavone, catéchine,	Antioxydant majeur, anti-inflammatoire	Appendino et al., 2006

Sesquiterpenes coumariniques	Férutinine, lapidine,	Antiprolifératif, activité antitumorale	Duan et al., 2002
------------------------------	-----------------------	---	--------------------------

I.2.4 Activités biologique :

I.2.4.1 Activité antibactérienne :

F. communis révèle un potentiel antibactérien significatif. Cette activité est principalement attribuée à la richesse de ses extraits en composés phytochimiques tels que les flavonoïdes et les phénols (**Yirdaw et Kassa, 2023 ; Gamal et Atraiki, 2015**). Ces molécules agissent par divers mécanismes, incluant la perturbation des membranes bactériennes et l'inhibition enzymatique (**Yirdaw et Kassa, 2023**) confirmant son intérêt en médecine traditionnelle et pour le développement de nouveaux agents antimicrobiens (**Akaberi et al., 2015**).

I.2.4.2 Activité antioxydante :

Les extraits de *F.communis* ont montré une activité antioxydante sur des rats Sprague-Dawley. L'extrait, administré par voie orale à des doses de 1,25 % et 2,5 %, a permis d'inhiber la peroxydation lipidique dans le foie (**Soni, Rajan, et Kuttan, 1992**). Selon **Halliwell et al. (1992)**, les réactions biochimiques génèrent des espèces réactives de l'oxygène capables d'endommager des biomolécules essentielles.

I.3 Généralités sur l'extraction des composés végétaux :

Le succès de l'extraction est lié à un choix approprié de la méthode d'extraction et du solvant utilisé, qui influencent directement le rendement, la composition phytochimique et la qualité de l'extrait final (**Azwanida, 2015**).

I.3.1 L'extraction éthanolique :

L'éthanol est l'un des solvants les plus répandus pour l'extraction de composés naturels végétaux précisément en raison des propriétés physicochimiques indiquées. En tant que solvant à polarité intermédiaire mais polaire, l'éthanol se distingue par une bonne solubilité des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins, des alcaloïdes et des terpènes en solution. Les avantages de l'utilisation de cet extrait solvant tiennent à la sécurité relative de son utilisation, à la faible toxicité pour l'environnement et l'utilisateur en évaporation (**Azwanida, 2015**).

I.4 La Synergie antimicrobienne des Extraits de Plantes :

La synergie, dans le domaine de l'activité antimicrobienne, est un phénomène où l'interaction entre deux ou plusieurs substances se traduit par un effet combiné supérieur à la simple

somme de leurs effets individuels **(Caesar et Cech, 2019)**. Cette potentialisation de l'effet, où $1+1>2$, peut se manifester par une augmentation significative de l'efficacité, une réduction des doses nécessaires de chaque agent, ou la capacité à surmonter les mécanismes de résistance bactérienne **(Alam et al., 2022; Rafiq et al., 2017)**. Cette interaction se distingue de l'additivité (somme égale), de l'antagonisme (effet réduit), ou de l'indifférence. La synergie résulte fréquemment de mécanismes d'action complémentaires ou interdépendants, tels que la perturbation des membranes bactériennes, l'inhibition des pompes d'efflux, ou la modulation du quorum sensing **(Jomehpour et al., 2016)**.

L'intérêt majeur de la synergie réside dans sa capacité à relever les défis de la résistance aux antimicrobiens, une menace sanitaire mondiale de plus en plus pressante **(Gholizadeh Farshi et al., 2024)**. Elle offre plusieurs avantages clés : elle permet de contourner la résistance en ciblant simultanément plusieurs points faibles des bactéries **(Alqudah, 2023; Yadav et al., 2024)**, d'améliorer l'efficacité de substances peu actives seules en les combinant, de réduire la toxicité et les effets indésirables des traitements en diminuant les doses requises **(Alam et al., 2022)**, et de valoriser les produits naturels en validant scientifiquement les pratiques ancestrales qui utilisaient des combinaisons de plantes **(Wagner & Ulrich-Merzenich, 2009)**.

De nombreuses études confirment le potentiel de la synergie, notamment avec les extraits de plantes. Des combinaisons d'extraits entre eux, comme celles d'*A. unedo* et *Crataegus monogyna*, ont montré une activité accrue en synergie avec des antifongiques **(Coimbra et al., 2020)**.

II Matériel et méthodes

II.1 Matériel :

II.1.1 Matériel non biologique

Le matériel non biologique représenté par la verrerie, les milieux de culture, les solvants, et appareillage sont représentés au niveau de l'annexe.

II.1.2 Matériel biologique :

II.1.2.1 Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude représenté par les feuilles de l'arbousier (*A. unedo*) et les tiges de (*F.communis*).

- Les feuilles de L'arbousier ont été prélevées à l'état sauvage dans une zone boisée de la région de Ain Benian, commune de Hammam Righa de la Wilaya de Ain Defla 36.3520° Nord, 2.3890° Est, dans la matinée du 25 mars 2025.
- Les parties aériennes de *F. communis* ont été prélevées à l'état sauvage au niveau du massif montagneux de Zeccar, situé dans la commune de Ain Torki, Wilaya de Ain Defla 6.3432°Nord, 2.2843°Est, dans la matinée du 15 avril 2025. Ces derniers ont été lavées à l'eau du robinet avec une lavette pour éliminer tous les résidus, puis les écorces ont été coupées en petits morceaux et laissées sécher à l'air libre, à l'abri de la lumière.

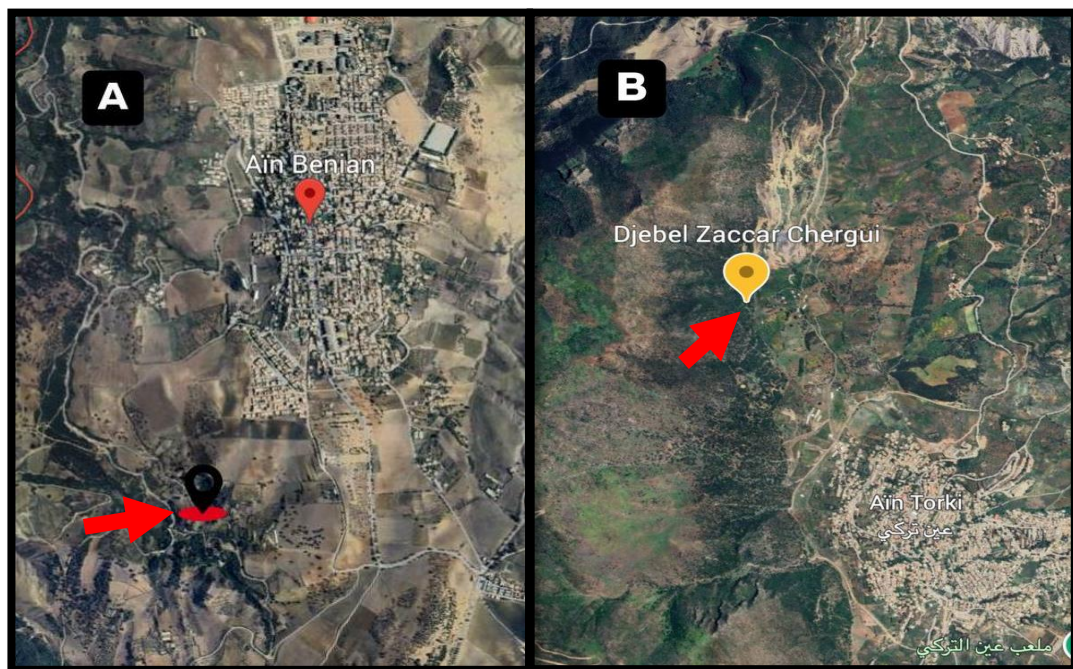


Figure 3: carte de site du récolte (A) d'*A. unedo* (B) *F. communis* sur google earth (Ain Defla)

II.1.2.2 Souches bactériennes :

Le support bactérien utilisée pour tester l'activité antibactériennes est constitué de trois souches bactériennes de référence sous forme de lots "American Type Culture Collection "ATCC, il s'agit de: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27253.

II.2 Méthodes :

II.2.1 Extraction éthanolique par Soxhlet :

Les deux extraits éthanoliques de l'*A. unedo* et de *F. communis* ont été obtenue par Soxhlet.

- **Principe :**

Le principe de l'extraction par Soxhlet repose sur l'immersion continue du matériel végétal séché et broyé dans un solvant (l'éthanol), et en étant chauffé, monte sous forme de vapeur, se condense au-dessus de l'échantillon, puis s'écoule sur la matière végétale. Il dissout ainsi les composés d'intérêt. Une fois chargé en solutés, le solvant retourne au ballon par un siphon (**Azwanida, 2015**). Ce cycle se répète, garantissant que le matériel végétal est toujours en contact avec du solvant frais et pur, ce qui maximise l'efficacité de l'extraction des métabolites secondaires (**Luque de Castro & García-Ayuso, 1998**) (Figure 04).

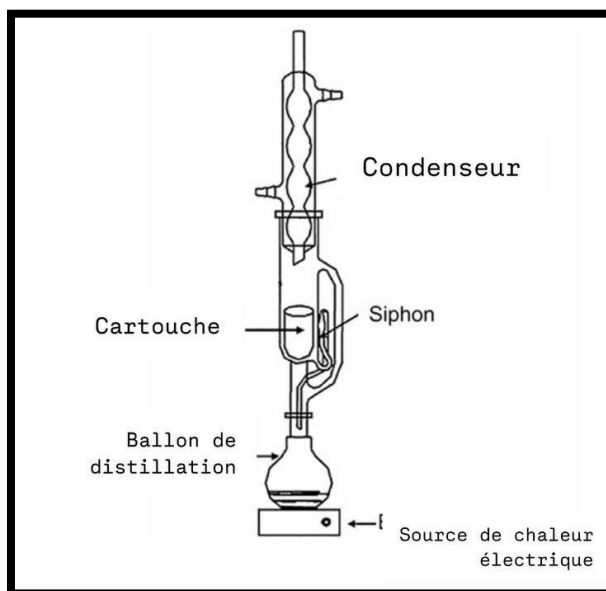


Figure 4: Montage de l'appareil de Soxhlet (**López-Bascón & Luque de Castro, 2020**)

- **Technique :**

La technique consiste à préparer le matériel végétal en le séchant et en le broyant en poudre fine. Une masse de cette poudre (40g) est placée dans une cartouche d'extraction en cellulose. Cette cartouche est ensuite insérée dans la chambre de l'extracteur Soxhlet. Un volume d'éthanol (400ml) est introduit dans le ballon de distillation relié à l'extracteur. Le montage est chauffé sur un chauffe-ballon. L'ébullition de l'éthanol et le cycle d'extraction sont maintenus pendant 2 heures jusqu'à ce que le solvant siphonnant devienne incolore, indiquant l'épuisement de l'échantillon. L'extrait brut éthanolique, contenu dans le ballon, est ensuite récupéré. Le solvant résiduel est évaporé sous pression réduite à basse température à l'aide d'un évaporateur rotatif pour obtenir un extrait sec qui est ensuite séché dans l'étuve à 40°C ensuite pesé et conservé à l'abri de la lumière et de l'humidité (**Figure 5**).

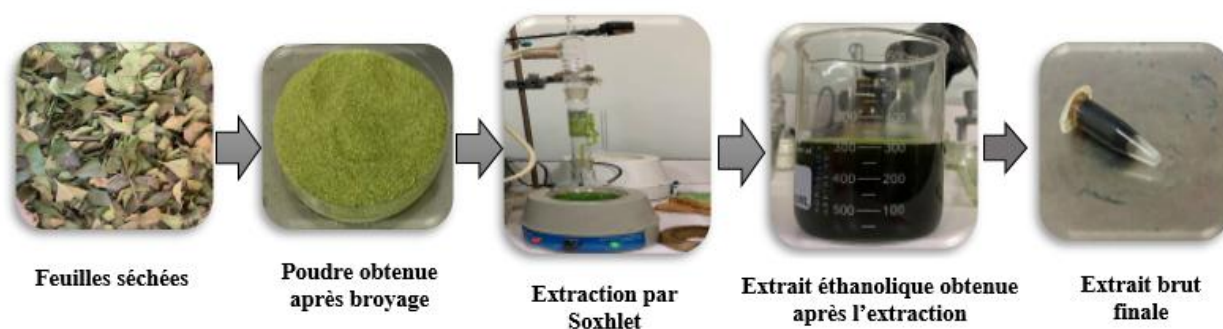


Figure 5: Représentation de l'extraction d'*A. unedo* par Soxhlet (Photo originale)

II.2.2 Détermination des rendements :

Le pourcentage du rendement de l'extrait éthanolique est calculé pour évaluer l'efficacité de l'extraction. Il représente la quantité d'extrait sec obtenue par rapport à la masse initiale du matériel végétal séché et broyé utilisée (**Luque de Castro et García-Ayuso, 1998**).

- Le rapport est décrit selon la formule suivante :

$$R\% = (m'/m) \times 100$$

où:

- **R%** : pourcentage de rendement de l'extrait éthanolique
- **m'** : masse de l'extrait sec récupéré après l'évaporation du solvant (g)
- **m** : masse de la matière végétale séchée et broyée utilisée pour l'extraction (g)

II.2.1 Activité antibactérienne *in vitro* d'*A. unedo* et de *F. communis* :

II.2.1.1 Etude qualitative : Méthode de diffusion de disque en milieu gélosé (aromatogramme) :

a) Préparation des cultures jeunes :

Les souches bactériennes conservées sont ensemencées dans un bouillon nutritif et incubées à l'étuve à 37°C pendant 18h à 24h. Après incubation, un ensemencement est réalisé sur gélose et ré-incubées encore une fois à l'étuve, les cultures obtenues dites cultures jeunes seront utilisées pour les préparations d'inoculum bactérien. Les conditions de l'incubation et les milieux utilisés sont appropriés pour chaque souche bactérienne.

b) Test antimicrobien par la méthode de diffusion de disque sur gélose :

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques est effectuée par l'aromatogramme, c'est une méthode de diffusion sur milieu gélosé selon (Hudzicki 2012) ; en suivant les recommandations de (Dolinsky 2020). Les tests ont été effectués au niveau du laboratoire de microbiologie (PFE) de l'université Saad Dahlab Blida.

Cette technique est similaire à l'antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques. Elle permet de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis aux extraits éthanoliques, en déposant un disque de papier Wattman stérile de 6mm de diamètre imbibé d'une concentration préparée d'extrait sur une gélose (Muller-Hinton) préalablement ensemencée par la souche bactérienne à tester (Figure 06).

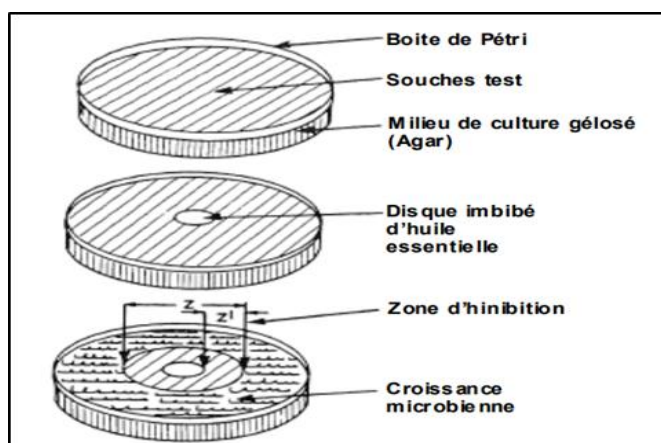


Figure 7: Illustration de la méthode d'aromatogrammes sur boîte de Pétri (Zaika, 1988)

c) Doses et application des disques :

La technique repose principalement sur le dépôt à l'aide de micropipette de 10 µl de trois concentrations (50, 100 et 150 µl/ml) des deux extraits éthanoliques testées dans 1mL de

DMSO sur les disques de 6mm et les déposés sur les géloses appropriées (MH) **(Balouiri 2016)**.

Les résultats sont exprimés par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition et peuvent être symbolisé par un halo translucide autour du disque de même couleur avec le milieu stérile **(Ponce et al., 2003)**. Les zones peuvent être mesurées à l'aide d'une règle exprimée en mm (Tableau3).

Tableau 3: Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition **(Ponce et al., 2003)**.

Sensibilité	Zone d'inhibition
Non sensible ou résistant	Diamètre < 8 mm
Sensible (+)	Diamètre compris entre 9 à 14mm
Très sensible (++)	Diamètre compris entre 15 à 19mm
Excrément sensible (+++)	Diamètre > 20 mm

II.2.1.2 Test de synergie entre les extraits testés:

Le test de synergie entre les extraits éthanoliques (EE) testées est réalisé selon la technique de diffusion sur disque d'agar, les synergies effectuées sont donc les proportions suivantes : (1 :1 , 1 :1 , 1 :2 et 2 :1) dont les concentrations des extraits sont respectivement : (50µl/ml;50µl/ml), (100µl/ml;100µl/ml), (50µl/ml;100µl/ml) et (100µl/ml;50µl/ml) .

Les résultats des tests de synergie sont également exprimés par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition et symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis d'extraits éthanoliques **(Balouiri 2016)**.

On considère une synergie positive lorsque la zone de combinaison EE1; EE2 est importante que celle de l'addition EE1+EE2 **(Caesar et Cech, 2019)**.

II.2.2 Etude quantitative : détermination de la CMI et CMB :

a. Principe :

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la dernière ou la plus basse concentration d'un agent antimicrobien qui peut inhiber visiblement la croissance d'un micro-organisme après 24h pour les bactéries et 48h pour la levure. Son but est d'établir le niveau de sensibilité des pathogènes envers les agents antimicrobiens en l'occurrence les extraits testés.

La CMI est la seule valeur pour laquelle il existe un consensus en termes de définition et d'utilisation, pour l'évaluation des activités antibactériennes et antifongiques (**Fontanay et al., 2015**).

La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration d'un agent antimicrobien capable de tuer plus de 99,9% de population bactériennes (soit moins de 0,1% de survivants). Elle définit l'effet bactéricide ou bactériostatique extrait testée.

b. Protocole expérimental :

• **Préparation de l'inoculum bactérien :**

A partir d'une culture jeune de 18 h de bactéries testées (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*) on prépare les solutions mères des souches à étudier en lisant l'absorbance à une longueur d'onde de 620 nm, qui doit correspondre à une DO entre 0,2 et 0,3 pour *E. coli* et *P. aeruginosa*, et une DO entre 0,3 et une DO de 0,4 pour *S. aureus*.

Ensuite, on prépare une série de dilutions allant de 10^{-1} à 10^{-4} , en prélevant 1 ml de la solution mère auquel on ajoute 9 ml de MH liquide stérile pour obtenir la dilution 10^{-2} , on procède de la même façon jusqu'à la dilution 10^{-4} , c'est cette dernière qui sera utilisée pour la détermination de la CMI.

• **Préparation des dilutions des extraits éthanoliques :**

On prépare une dilution d'EE en diluant 1 ml d'EE pure (100%) dans 50 ml de milieu MH liquide additionné de Tween 80 (0,1%) stérile dans le premier flacon (0,02mg/ml). On réalise des dilutions de $\frac{1}{2}$ au $\frac{1}{2}$ (semi logarithmique), en versant la moitié de la dilution dans le deuxième flacon et compléter avec 25 ml de milieu ce qui donne la dilution $1/2$. On procède de la même manière jusqu'à l'obtention de la dernière dilution 0,78%, ce qui correspond à la 7^{ème} dilution.

c. Techniques de diffusion en milieu liquide :

• **Test de micro dilution sur microplaque :**

L'incorporation de l'EE dans le milieu de culture liquide se fait en utilisant un émulsifiant (Tween 80) pour préparer les solutions d'extrait éthanolique à la concentration désirée. La détermination de l'activité antibactérienne de l'EE se fait au moyen d'une microplaque de 96 puits. La microplaque est incubée 18 à 24h à 37°C (Figure7).

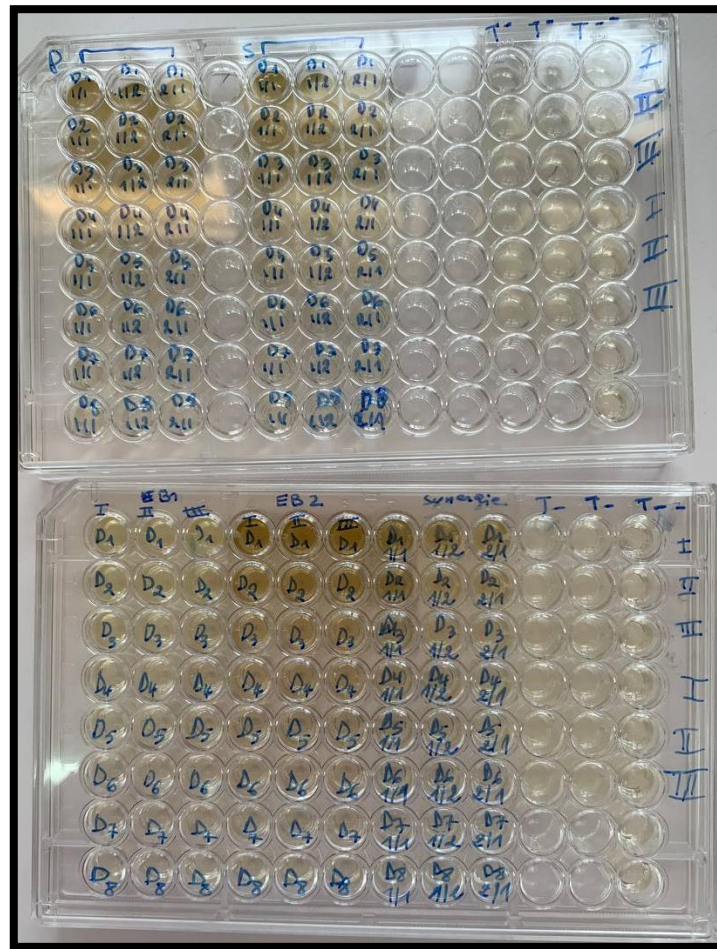


Figure 8: illustration de micro dilution sur microplaque (plan)

- Un témoin positif ne contenant que le milieu (MH) additionné de Tween 80 plus 10µl d'inoculum est prévu pour chaque série de dilution d'EE.
- Un témoin positif contenant l'inoculum bactérien seule dans le milieu MH.
- Un témoin négatif ne contenant que le milieu (MH) additionné de Tween 80 est également prévu.
- EE1 : extrait éthanolique de *F. communis*
- EE2 : extrait éthanolique d'*A. unedo*
- Les souches bactériennes utilisées :

Souche 1 : *E. coli*

Souche 2 : *S. aureus*

Souche 3 : *P. aeruginosa*

La croissance bactérienne est estimée par lecture de la DO sur lecteur de microplaque (SFRI IRE 96) à une longueur d'onde de 620nm.

La CMI est ainsi déterminée par le dernier puits de la microplaque, par ordre décroissant de concentration, qui présente la plus petite valeur de la DO correspondante à la plus petite concentration bactérienne.

La plus faible concentration tuant 99.9% des micro-organismes en culture sur ce milieu correspond à la CMB.

La CMB de l'EE est déduite à partir du premier puit dépourvu de bactéries

Le rapport d'activité CMB/CMI est également déterminé.

- Lorsque le rapport d'activité CMB/CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égal à quatre (≤ 4), cette dernière est qualifiée de substance bactéricide
- Lorsque le rapport d'activité CMB/CMI d'une substance antimicrobienne est supérieur à quatre (> 4), elle est dite bactériostatique (**Marmonier, 1990**).

d) Concentration inhibitrice fractionnaire (FIC)

La concentration inhibitrice fractionnaire a été utilisée pour déterminer l'interaction entre les extraits en calculant l'indice de concentration inhibitrice fractionnaire (ΣFIC) (**Sadiki et al., 2014**) à l'aide de la formule suivante :

- $\Sigma FICI = FIC (F. communis) + FIC (A. unedo)$
- $FIC (F. communis) = (CMI \text{ de } F. communis \text{ en combinaison (mg/ml)}) / (CMI \text{ de } F. communis \text{ seule (mg/ml)})$
- $FIC (A. unedo) = (CMI \text{ d'}A. unedo \text{ en combinaison (mg/ml)}) / (CMI \text{ d'}A. unedo \text{ seule (mg/ml)})$

Les valeurs de $\Sigma FICI$ sont interprétées comme suit :

- $\leq 0,5$ = synergie ;
- $0,5 - 0,75$ = synergie partielle ;
- $0,76 - 1,0$ = effet additif ;
- $1,0 - 4,0$ = pas d'interaction ;
- $>4,0$ = antagonisme

Chapitre III: résultat et Discussion

III Résultat et discussion :

III.1 Résultat :

III.1.1 Détermination des rendements des extraits :

Une extraction à l'éthanol à 96 % par Soxhlet a été effectuée sur deux plantes : *F. communis* et *A.unedo*. Après l'évaporation du solvant et le séchage en étuve, les rendements ont été déterminés par rapport aux masses sèches utilisées. *F. communis* avec un rendement de 5,25%, et un rendement un plus élevé (14,25 %) pour *A. unedo*.

III.1.2 Activité antibactérienne *in vitro* des extraits d'*A. unedo* et de *F. communis*:

III.1.2.1 Etude qualitative : Méthode de diffusion de disque en milieu gélosé :

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits testés par méthode de disque sur agar (aromatogramme), ont montré une sensibilité variable selon les souches testées (Tableau 4, Figure 8).

Concernant l'extrait éthanolique d'*A. unedo* vis-à-vis de *E coli*, des diamètres des zones d'inhibitions de 10 mm, 9,5 mm et 9 mm ont été obtenus respectivement aux concentrations de 50, 100 et 150 µl/ml, ce qui correspond à une souche sensible. *P. aeruginosa* et *S. aureus* se sont avérées non sensibles à cet extrait, avec un diamètre d'inhibition constant de 8 mm pour toutes les concentrations testées.

Tableau 4: Diamètres de la zone d'inhibition en (mm) expriment l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques de l'*A. unedo* par méthode de diffusion des disques

		Concentration de l'extrait éthanolique d' <i>A. unedo</i>					
		50µl/ml		100µl/ml		150µl/ml	
Souches bactériennes	<i>E. coli</i>	10mm	+	9,5mm	+	9mm	+
	<i>P. aeruginosa</i>	8mm	-	8mm	-	8mm	-
	<i>S. aureus</i>	8mm	-	8mm	-	8mm	-

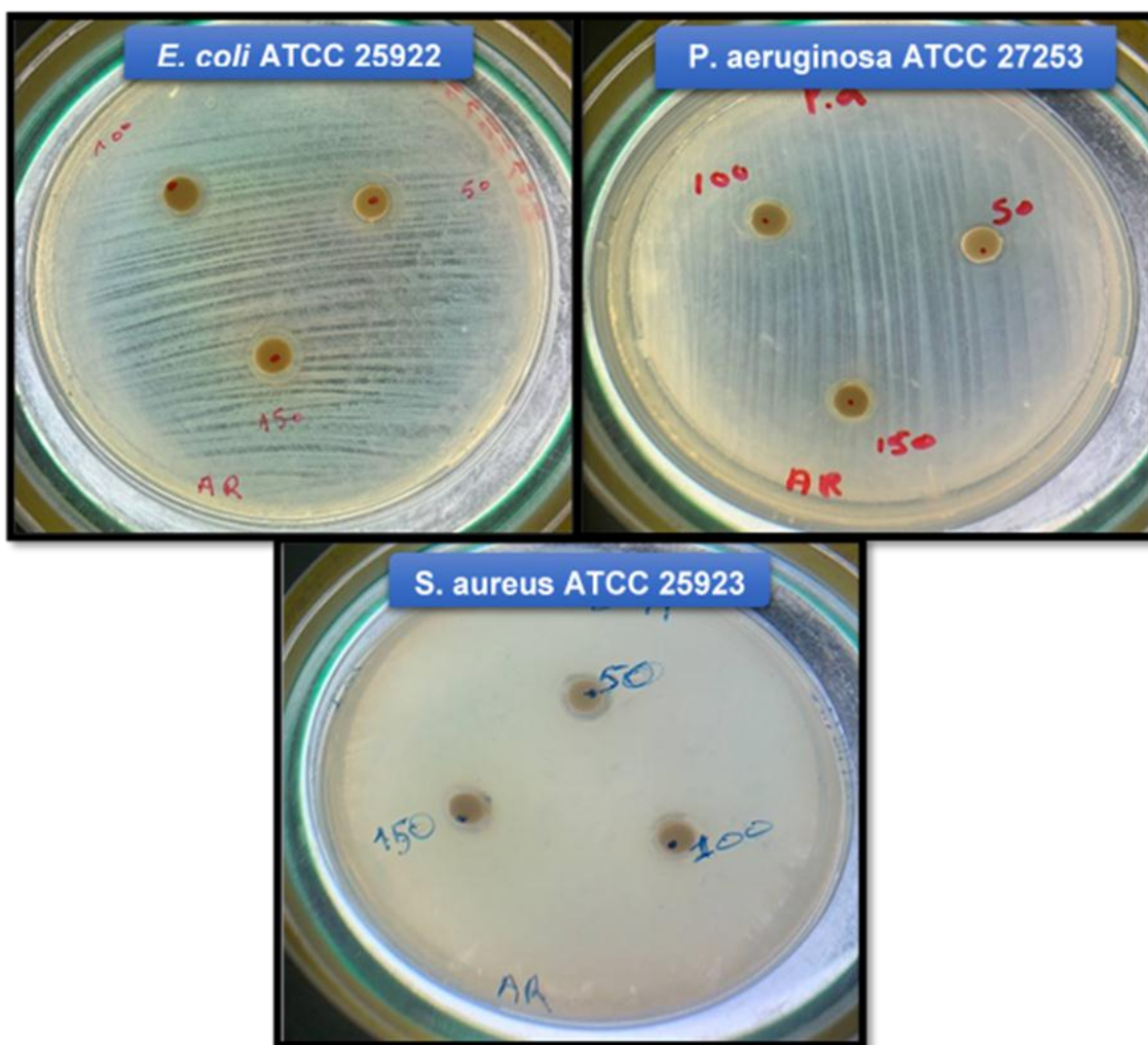


Figure 9 : Différents diamètres des zones d'inhibitions d'*A. unedo* obtenues par méthode de disque de diffusion sur disque d'agar (aromatogramme).

Concernant les résultats de l'activité antibactérienne de *F. communis*, nous avons noté une sensibilité variable selon les souches testées. (Tableau 5, Figure 9). Pour *E. coli* et *P. aeruginosa*, ils se sont avérées non sensibles à toutes les concentrations testées. En revanche, pour *S. aureus*, les diamètres obtenus étaient de 8,5 mm à 50 $\mu\text{L/mL}$ (non sensible), et de 10 mm et 9 mm (sensible) aux concentrations de 100 et 150 $\mu\text{L/mL}$.

Tableau5: Diamètres de la zone d'inhibition en (mm) expriment l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques de *F. communis* par méthode de diffusion des disques

		Concentration de l'extrait éthanolique de <i>F. communis</i>					
		50µl/ml		100µl/ml		150µl/ml	
Souches bactérienn	<i>E. coli</i>	7mm	-	7mm	-	7mm	-
	<i>P. aeruginosa</i>	8mm	-	7,5mm	-	8mm	-
	<i>S. aureus</i>	8,5mm	-	10mm	+	9mm	+

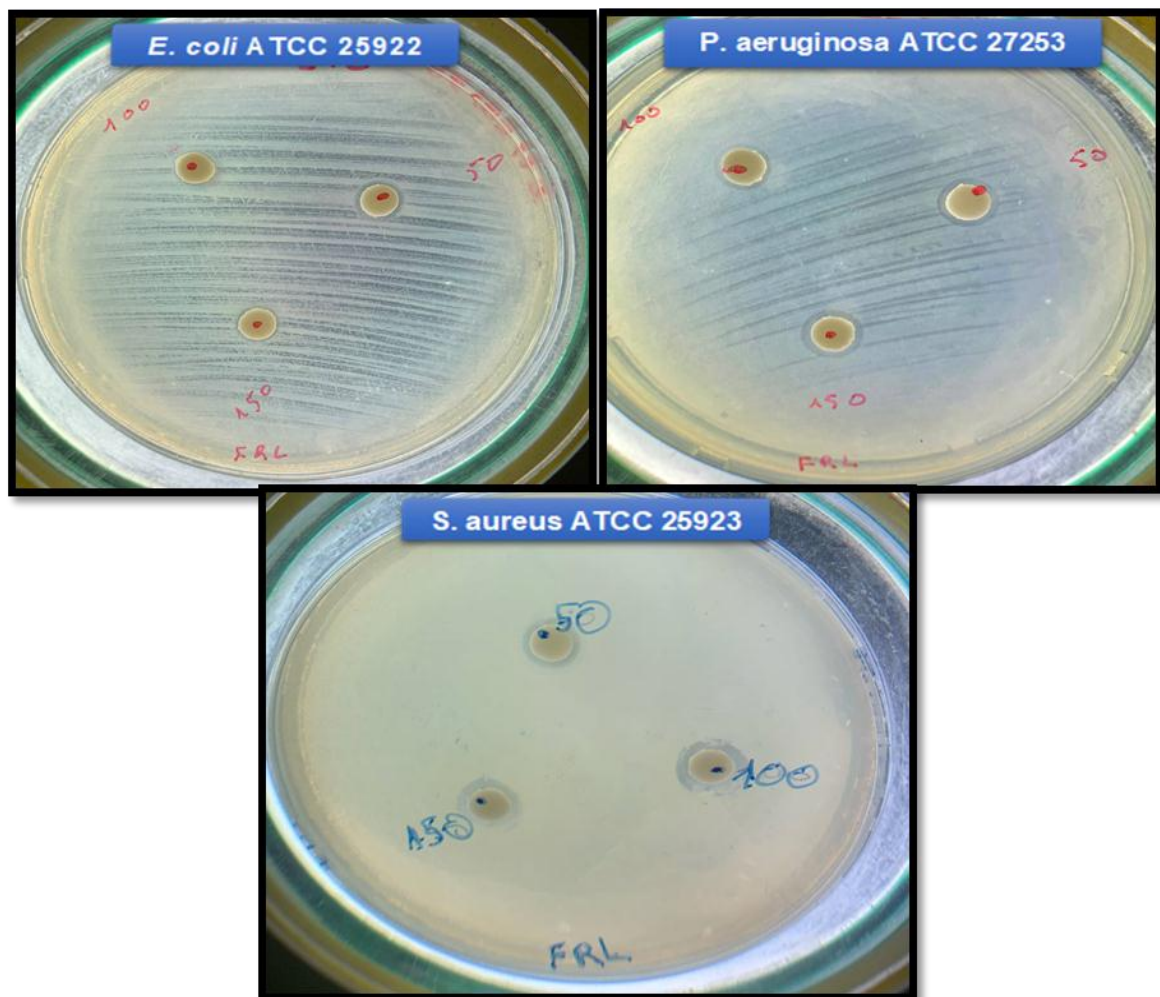


Figure 10 : Différents diamètres des zones d'inhibitions de *F. communis* obtenues par méthode de disque de diffusion sur disque d'agar

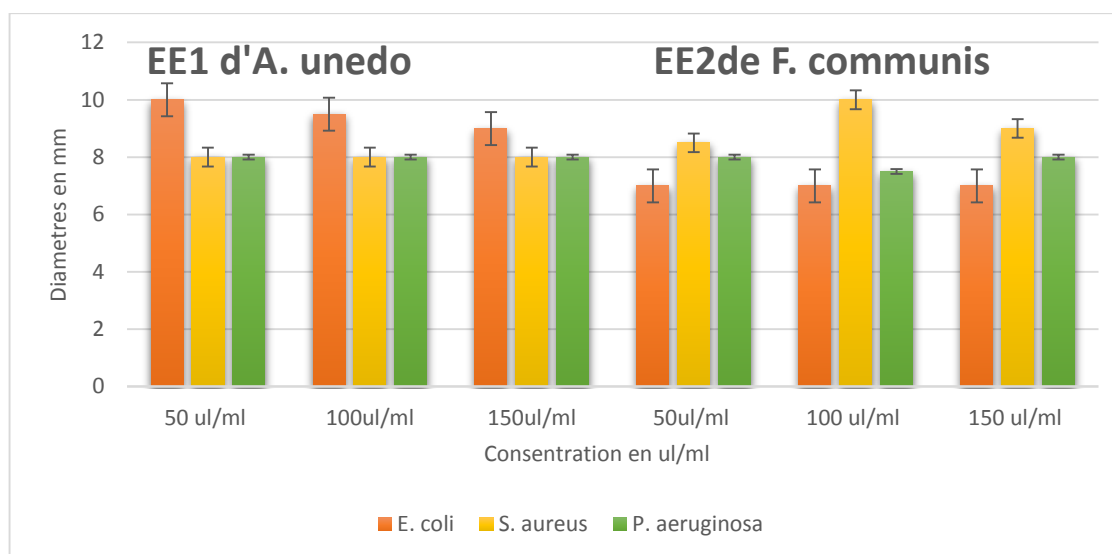


Figure 10: Histogramme représentant les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne.

III.1.2.2 Teste de synergie entre les extraits éthanoliques testées :

Le Tableau 4 montre que les combinaisons (1:1) et (2:1) des extraits éthanoliques ont entraîné une légère augmentation des zones d'inhibition par rapport aux extraits seuls, en particulier contre *P. aeruginosa*. Concernant *S. aureus*, les résultats sont similaires, tandis qu'une légère diminution est observée chez *E. coli*. En revanche e, la combinaison (1:2) a donné des diamètres plus faibles pour l'ensemble des souches testées (Figure 10).

Tableau 5: Diamètres des zones d'inhibition en (mm) expriment les diamètres de l'association entre les deux éxtraits étudiées

Souches bactériennes	Combinaisons des extraits éthanolique (<i>A. unedo</i> + <i>F. communis</i>)			
	1 ;1 50 ;50	1 ;1 100 ;100	2 ;1	1 ;2
<i>E. coli</i>	8mm	8mm	8mm	8mm
<i>P. aeruginosa</i>	10mm	9mm	10mm	8,5mm
<i>S. aureus</i>	9mm	9mm	9mm	7mm

- Rapport 1:1(v:v) : le volume de l'extrait éthanolique de L'*A. unedo* égale le volume de l'extrait de *F. communis*
- Rapport 1:2 (v:2v) : un volume L'EE1 *F. communis* deux volumes l'EE2 d'*A. unedo*
- Rapport 2 :1 (2v:v) : deux volume L'EE1 *F. communis* un volume L'EE2 d'*A. unedo*

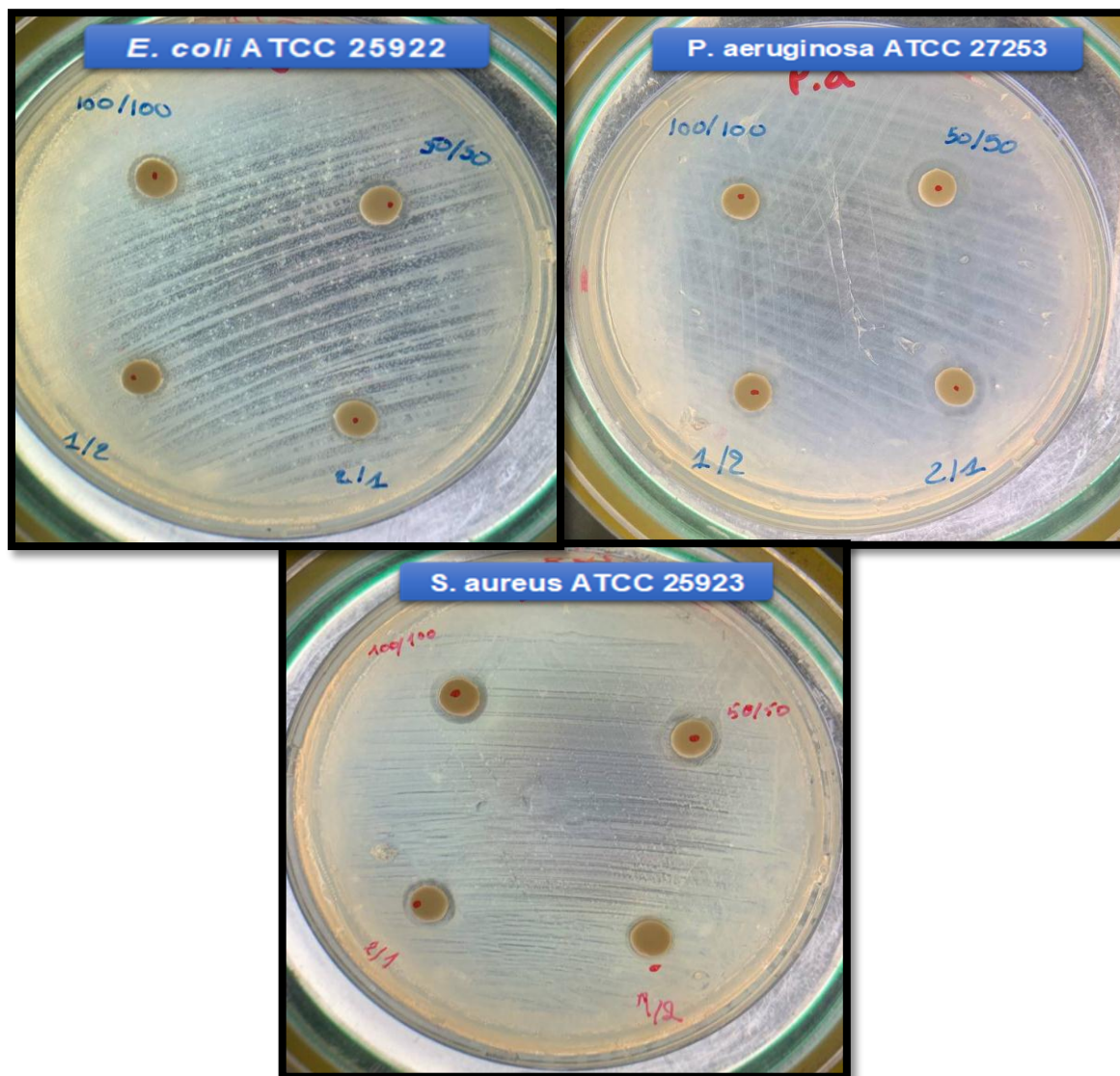


Figure 11: Différents diamètre des zones d'inhibitions de l'association entre les extraits éthanoliques vis-à-vis les bactéries testées.

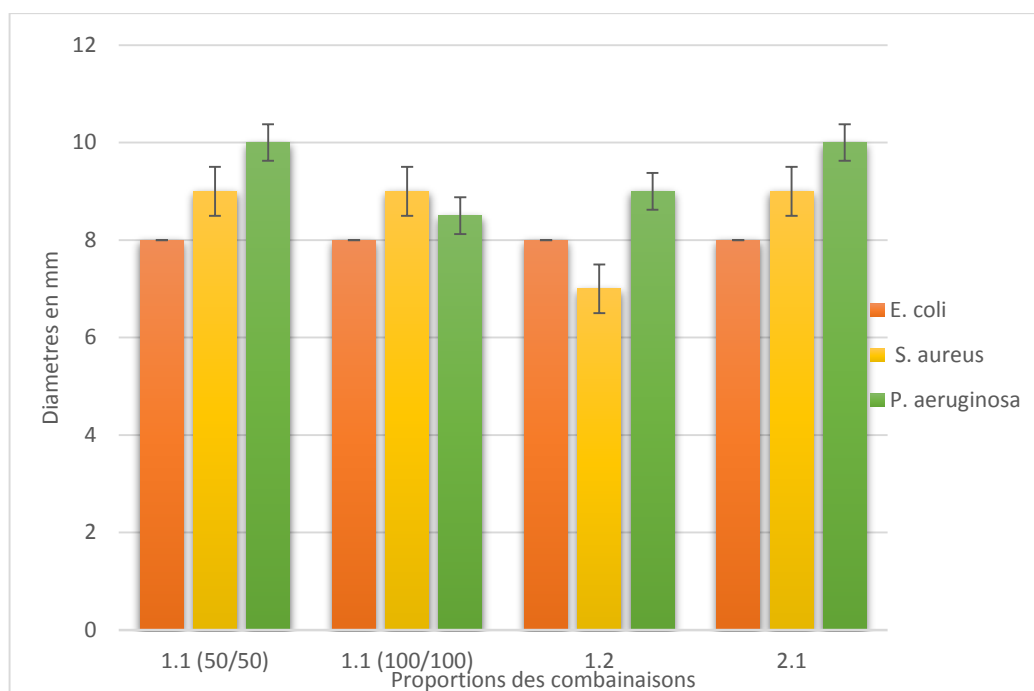


Figure 12: Histogramme représentant les diamètres des zones d'inhibitions en associant les deux extraits

III.1.2.3 Etude quantitative : détermination de la CMI et la CMB :

Le tableau 7 présente les résultats de l'étude quantitative des extraits éthanoliques testés par la méthode de micro dilutions sur microplaques. La CMI de l'extrait éthanolique de *F.communis* (EE1) envers *E. coli* est de 20 μ l/ml, alors que pour celle d'*A. unedo* (EE2), elle est de 5 μ l/ml. Pour *S. aureus*, nous avons noté une CMI de 20 μ l/ml pour les deux extraits. Alors que pour *P. aeruginosa*, la CMI de l'extrait EE2 est de 1,25 μ l/ml, bien inférieure à celle d'EE1 estimée à 10 μ l/ml.

Le calcul du rapport CMB/CMI révèle un effet bactéricide (≤ 4) pour les deux extraits testés seuls envers toutes les souches, à l'exception de EE2 contre *P. aeruginosa* (rapport = 8) où un effet bactériostatique est observé.

Lorsque les extraits sont combinés, nous avons noté un effet bactéricide pour les combinaisons (1:2) et (2:1) envers toutes les souches testées excepté pour la combinaison (1.1) ou nous avons noté un effet bactériostatique (≥ 4) pour la souche *P. aeruginosa*.

Tableau 7: Valeurs de la CMI et La CMB par Microdilution

Synergie (EE1/EE2)										
	EE1		EE2		1.1		1.2		2.1	
Souches	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>E. coli</i>	20µl/ml	10µl/ml	5µl/ml	10µl/ml	20µl/ml	10µl/ml	20µl/ml	10µl/ml	20µl/ml	2,5µl/ml
<i>S. aureus</i>	20µl/ml	2,5µl/ml	10µl/ml	1,25µl/ml	20µl/ml	1,25µl/ml	20µl/ml	10µl/ml	20µl/ml	0,31 µl/ml
<i>P. aeruginosa</i>	20µl/ml	10µl/ml	1,25µl/ml	10µl/ml	5µl/ml	20µl/ml	20µl/ml	10µl/ml	20µl/ml	10µl/ml
Rapport CMB/CMI										
<i>E. coli</i>	0,5		2		0,5		0,5		0,12	
<i>S. aureus</i>	0,12		0,12		0,06		0,5		0,01	
<i>P. aeruginosa</i>	0,5		8		4		0,5		0,5	

III.1.2.4. Calcule de la Concentration Inhibitrice Fractionnaire

Le tableau 8 présente les résultats de l'étude de l'effet synergique entre (EE1) et (EE2), évalués par le calcul des concentrations inhibitrices fractionnaires (FIC). Pour *E coli*, tous les combinaisons testées (1:1, 1:2, 2:1) ont donné une valeur constante de $\Sigma FICI$ égale à 5, ce qui indique un antagonisme entre les deux extraits.

Pour *S. aureus*, nous avons noté dans toutes les combinaisons, une $\Sigma FICI$ stable de 3, indiquant un effet indifférent.

Concernant *P. aeruginosa*, un antagonisme a été observé pour la combinaison 1;1 une $\Sigma FICI=4,25$ et 17 pour 1;2 et 2 ;1.

Tableau 08: Les valeurs de FIC et $\Sigma FICI$

Souches bactériennes	<i>F. communis</i> (EE1)			<i>A. unedo</i> (EE2)			$\Sigma FICI$		
	FIC 1:1	FIC 1:2	FIC 2:1	FIC 1:1	FIC 1:2	FIC 2:1	1:1	1:2	2:1
<i>E. coli</i>	1	1	1	4	4	4	5	5	5
<i>S. aureus</i>	1	1	1	2	2	2	3	3	3
<i>P. Aeruginosa</i>	0,25	1	1	4	16	16	4,25	17	17

III.2 Discussion :

Les extraits éthanoliques d'*A.unedo* et de *F. communis* sont obtenus par extraction Soxhlet. Pour *A. unedo*, le rendement d'extraction obtenu est 14,25 % qui sont cohérent avec celui obtenus par **Benamari et al. (2024)** 16,81 % en appliquant la même méthode.

Pour *F. communis* le rendement obtenu par Soxhlet est de 5,25 %, ce qui inférieur à celui rapporté par **Salleh et al. (2023)**, qui ont obtenu 14 % en appliquant la même méthode. La différence dans les résultats est en fonction de méthode d'extraction, de la région géographique, climat, la maturité da la plante, l'état du sol, la période de récolte et les conditions du stockage et de séchage (**Fantino, 1990 ; Banchio et al., 2007**).

Les résultats de la détermination de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques d'*A. unedo* et de *F. communis* par la méthode de diffusion des disques sur agar ont montré que l'extrait éthanolique de feuilles d'*A. unedo* est sensible contre *E. coli*, avec des diamètres des zones d'inhibitions de 10 mm à 50 µl/ml, 9,5 mm à 100 µl/mL et 9 mm à 150 µl/mL, ce qui rejoint les observations de **Kivçak et al. (2001)**, qui ont rapporté une zone d'inhibition de 12mm pour l'extrait éthanolique de feuilles d'*A. unedo*. Nos résultats indiquent une efficacité à faible concentration, cela pourrait s'expliquer par une perte d'activité biologique à forte concentration, due à une saturation ou à une précipitation des composés actifs.

Pour *P. aeruginosa*, nous avons observé une résistance avec une zone d'inhibition de 8 mm à toutes les concentrations, ce qui concorde avec les résultats de **Doudach et al. (2023)** qui n'ont noté aucune inhibition avec l'extrait méthanolique de feuilles. La faible sensibilité de *P. aeruginosa* pourrait s'expliquer par sa paroi externe riche en lipopolysaccharides, qui limite la pénétration des composés actifs, surtout lorsqu'ils sont peu diffusibles.

De même, *S. aureus*, a présenté une zone d'inhibition de 8 mm à toutes les concentrations, ce qui est inférieurs à celle de **Kivçak et al. (2001)** qui ont noté une activité avec une zone d'inhibition de 18mm. L'étude de **Ferreira et al (2012)** a rapporté une zone d'inhibition de 12mm. Cette différence pourrait être due à des variations dans la composition chimique de la plante, liée à l'environnement, à la saison ou à l'origine géographique, ou encore une sensibilité différente de la souche utilisée.

Concernent l'extrait éthanolique de *F. communis*. *E. coli* s'est avérée non sensible avec un diamètre de zone d'inhibition de 7mm à toutes les concentrations testées, ce résultat corrobore avec les résultats de (**Yirdaw et Kassa, 2023**) qui ont montré des diamètres de zones d'inhibition de 8mm.

Tandis que *P. aeruginosa* a montré une résistance avec des diamètres d'inhibition de 8 mm à 50 µl/mL et 150 µl/mL, et de 7,5 mm à 100 µl/mL. Des résultats semblables ont été obtenus par **(Yirdaw et Kassa, 2023)** avec une zone d'inhibition de 8mm.

S. aureus s'est avéré sensible, avec des diamètres d'inhibition de 10 mm à 100 µl/mL et 9 mm à 150 µl/mL. Ces résultats sont en accord avec ceux de **(Yirdaw et Kassa, 2023)** et **(Nouioura et al., 2024)** également rapporté des zones de 11 mm, 10mm respectivement contre cette souche.

L'étude de la synergie entre les extraits vise à améliorer leur efficacité antibactérienne, ce qui pourrait permettre de réduire les doses nécessaires pour obtenir un effet thérapeutique efficace. Nous avons observé une légère augmentation des zones d'inhibitions pour *E. coli* lorsque *F. communis* et *A. unedo* ont été combinées aux proportions de 2 :1 et 1 :1 avec des diamètres supérieurs à ceux observés lorsque chaque extrait était étudié séparément et pour *S. aureus*, les résultats de ces combinaisons sont similaires à ceux obtenus séparément.

On constate également un effet antagoniste pour toutes les souches testées lorsque la combinaison 1 :2 a été appliquée, c'est-à-dire avec une proportion plus élevée d'extrait d'*A. unedo*, des diamètres des disques plus faibles à ceux des extraits pris individuellement.

D'après **Burt, (2004)**, cette technique de combinaison a montré qu'elle est parfois peu fiable, c'est pourquoi une évaluation quantitative de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de microdilution pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) vis-à-vis les souches bactériennes testées.

Les résultats obtenus ont montré que pour l'extrait d'*A. unedo*, la souche *P. aeruginosa* présentant la CMI la plus faible (1,25 µl/mL). En revanche, les CMI notés pour *E. coli* et *S. aureus*, étaient de (5 µl/mL) et (10 µl/mL) respectivement. Ces résultats peuvent être liés à la richesse de la plante en polyphénols, notamment les flavonoïdes, les tanins, les quinones et les anthocyanines **(Ferreira et al., 2012 ; Dib et al., 2013)**. L'activité antimicrobienne de ces composés résulte probablement d'une combinaison de plusieurs modes d'actions, impliquant différents cibles cellulaires **(Burt, 2004)**. Cette action s'exerce à plusieurs niveaux cellulaires : inhibition de la synthèse des protéines, altération de l'ADN, et perturbation des activités enzymatiques bactériennes **(Luck et al., 1995)**. Celles-ci n'impliquent pas seulement un mécanisme physique, mais aussi chimique et biochimique.

Le mécanisme de cette toxicité pourrait être associé à l'inhibition des enzymes hydrolytiques, telles que les protéases et les hydrolases, ou à d'autres interactions pouvant inactiver les protéines de transport et provoquer la lyse de la membrane cellulaire **(Cowan, 1999)**.

Néanmoins, **Doudach et al. (2023)**, ont montré des résultats supérieurs à celle qu'on a trouvée. Ce qui pourrait s'expliquer par des différences dans l'origine végétale, de mode d'extraction ou les souches bactériennes utilisées.

Concernant l'extrait éthanolique de *F. communis* (EE1), ce dernier a montré une CMI de 20µl/ml contre *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*. Néanmoins, **(Nouioura et al., 2024)** et **(Youmbai et al., 2021)** ont montré des résultats inférieures à celle qu'on a trouvé. Ces différences d'efficacité peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment les parties de la plante extraites, les conditions expérimentales variées telles que les méthodes d'extraction, les techniques d'évaluation ainsi que les souches bactériennes testées **(Djenane, 2015)**. L'activité antimicrobienne de *F. communis* pourrait être due à la présence de groupes hydroxyles phénoliques qui renforcent l'effet antimicrobien. Ces composés agiraient en altérant la structure de la membrane cellulaire et en diminuant la teneur en lipides, ce qui freine le développement des micro-organismes **(El Atki et al., 2020)**.

Plusieurs études ont montré que les bactéries à Gram positif sont généralement plus sensibles aux extraits naturels que les bactéries à Gram négatif, en raison de la structure plus perméable de leur paroi cellulaire **(Nazzaro et al., 2013)**. Nos résultats confirment partiellement cette tendance, avec une sensibilité plus marquée de *S. aureus* (Gram positif), notamment face à l'extrait de *F. communis*. Cependant, la sensibilité observée chez *E. coli* (Gram négatif) à l'extrait d'*A. unedo* suggère que cette différence peut varier selon le type d'extrait testé et la nature des composés bioactifs qu'il contient.

Les résultats des tests avec différentes associations de concentrations pour les deux extraits éthanoliques montrent des variations significatives dans les valeurs de CMI. Pour le rapport 1 :1, les valeurs de la CMI de *S. aureus* et *E. coli* (20µl/ml) pour *P. aeruginosa* 5µl/ml. En revanche, par rapport à 1 :2 et 2 :1 toutes les valeurs de CMI se situaient à 20µl/ml pour les trois bactéries testées.

Pour définir le caractère bactéricide ou bactériostatique des extraits éthanolique d'*A. unedo* et *F. communis* ; le rapport CMB/CMI été calculé. Nous avons observé un effet bactéricide de *F. communis* sur toutes les bactéries testées. Pour *A. unedo* un effet bactéricide pour *E. coli* et *S. aureus* à l'exception de *P. aeruginosa* qui a montré un effet antagoniste.

Concernant l'association entre les deux extraits toutes les combinaisons (1 :1 ,1 :2 et 2 :1) ont un effet bactéricide sur toutes les souches testées à l'exception de *P. aeruginosa* qui a montré un effet bactériostatique à la combinaison de 1 :1.

L'évaluation de l'effet combiné des extraits éthanoliques de *F. communis* (EE1) et *A. unedo* (EE2) vis-à-vis des trois souches bactériennes testées a permis d'identifier la nature des interactions en fonction des proportions utilisées (1:1, 1:2, 2:1). Les indices d'interaction ($\Sigma FICI$) ont révélé des effets principalement indifférents ou antagonistes. Pour *S. aureus*, une stable de $\Sigma FICI= 3$, indiquant un effet indifférent.

Selon les critères de **Caesar et Cech (2019)**, où l'effet combiné est simplement additif ou neutre. Cette stabilité pourrait s'expliquer par une moindre sensibilité de *S. aureus* aux mécanismes d'interférence chimique entre les composés testés, ou par une tolérance intrinsèque à ces familles de métabolites.

Pour *E. coli*, nous avons noté un antagonisme, avec un indice de $\Sigma FICI=5$ dans tous les combinaisons.

En ce qui concerne, *P. aeruginosa*, un antagonisme a été observé pour la combinaison 1;1 avec une $\Sigma FICI=4,25$ et 17 pour 1;2 et 2 ;1. Ces résultats montrent que la présence d'*A. unedo* dans le mélange annule l'effet synergique observé avec *F. communis* seule.

Selon **Caesar et Cech (2019)**, ce type d'antagonisme peut résulter de compétition pour les mêmes cibles biologiques, réactions chimiques défavorables (comme l'oxydation croisée ou la chélation), ou encore altération de la solubilité ou de la stabilité des composés actifs dans le mélange.

L'association des extraits éthanoliques d'*A. unedo* et de *F. communis* n'améliore pas l'activité antimicrobienne. Bien que les effets varient selon la souche bactérienne et le ratio d'association, ils tendent globalement vers un antagonisme, en particulier lorsque l'extrait d'*A. unedo* (EE2) est dominant. Ces résultats suggèrent que certains composés bioactifs présents dans *A. unedo* peuvent inhiber ou interférer avec l'action de ceux de *F. communis*, réduisant ainsi l'efficacité de la combinaison.

CONCLUSION

IV. Conclusion :

Au terme de cette étude qui a pour but d'évaluer *in vitro* l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques de *Arbutus unedo* et de *Ferula communis* contre trois souches bactériennes de référence (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) en utilisant des méthodes qualitatives et quantitatives.

Les résultats obtenus confirment le potentiel thérapeutique de ces deux plantes médicinales, notamment à travers des valeurs de CMB/CMI indiquant une activité bactéricide pour la majorité des cas.

Malgré l'absence de synergie marquée entre les extraits combinés, en révélant même des cas d'antagonisme, notamment lorsque l'extrait d'*A. unedo* dominait dans les combinaisons leurs efficacités individuelles sont indéniables. L'extrait d'*A. unedo* a montré une bonne activité contre *E. coli* et *P. aeruginosa*, tandis que celui de *F. communis* s'est avéré plus efficace contre *S. aureus*. Ces différences d'action peuvent être attribuées à la richesse en composés phénoliques, flavonoïdes et coumarines présents dans chaque extrait.

En résumé, bien que la combinaison des deux extraits n'a pas renforcé l'effet antimicrobien, leur emploi individuel reste prometteur dans une démarche de lutte contre les infections bactériennes multirésistantes. Ce travail s'inscrit dans une perspective de valorisation des ressources naturelles locales pour le développement de solutions thérapeutiques alternatives.

À la lumière de cette recherche, il découle également des perspectives dont nous n'avions pas l'opportunité de les réaliser dans cette étude, il s'agit de :

- Une analyse chromatographique (GC-MS ou HPLC) pour identifier les composés bioactifs responsables des effets observés.
- Étendre l'évaluation de l'activité à d'autres souches pathogènes, notamment fongiques et virales ;
- Réaliser des études toxicologiques *in vivo* pour évaluer la sécurité d'utilisation des extraits à doses efficaces.

En conclusion ce travail nécessite des études supplémentaires pour explorer d'avantage les mécanismes d'action des composés bioactifs présents dans ces extraits éthanoliques.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

IV Référence :

- Akaberi, M., Sobhani, Z., Javadi, B., Sahebkar, A., & Emami, S. A. (2015). *Therapeutic effects of Rosa damascena: A systematic review*. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 18(12), 1103–1112.
- Alam, F., Saqib, Q. N., & Ashraf, M. (2022). *Traditional uses, phytochemistry, and pharmacological activities of Withania somnifera (L.) Dunal: A review*. Journal of Ethnopharmacology, 284, 114768.
- Alarcão-e-Silva, M. L. C. M., Leitão, R. M., Azinheira, H. G., & Leitão, M. C. (2001). *The Arbutus berry: Studies on its color and chemical characteristics at different maturity stages*. Journal of Food Composition and Analysis, 14(1), 27–35.
- Al-Ismail, K., Mekchiche, H., & Takturi, H. (2022). *Antioxidant and antimicrobial activities of Pistacia lentiscus L. extracts*. Journal of Food Biochemistry, 46(3), e13712.
- Alqudah, M. (2023). *Synergistic effects of plant extracts against multidrug-resistant bacteria*. Journal of Natural Remedies, 23(2), 45–60.
- Appendino, G., Maxia, L., & Bascope, M. (2006). *Antibacterial galloylated alkylphloroglucinol glucosides from myrtle (Myrtus communis)*. Journal of Natural Products, 69(2), 251–254.
- Azwanida, N. N. (2015). *A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation*. Medicinal & Aromatic Plants, 4(3), 196. doi: 10.4172/2167-0412.1000196
- Ayaz, F. A., Kucukislamoglu, M., & Reunanen, M. (2000). *Sugar, non-volatile acid and vitamin C composition of strawberry tree (Arbutus unedo) fruits*. Journal of Food Composition and Analysis, 13(2), 171–177.

- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibensouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(1), 71–79.
- Banchio, E., Bogino, P., Santoro, M., & Zygadlo, J. (2007). *Systemic induction of monoterpene biosynthesis in Origanum × majoricum by soil bacteria*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(4), 1303–1308.
- Belakhdar, G. (1978). *Pharmacopée marocaine traditionnelle: Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*. Ibis Press.
- Benamari, Z., Boudhane, N., & Boudrioua, N. (2024). *Comparative extraction of polyphenols from Arbutus unedo leaves*. *Phytotherapy Research*, 38(1), 33–40.
- Benkhalti, M. (1993). *Étude phytochimique de la Ferula communis L. du Maroc oriental* [Thèse de doctorat, Université de Fès].
- Bizouard, P., & Favier, J.-C. (1962). *Contribution à l'étude de la valeur nutritive de quelques plantes naturellement abondantes en Corse*. Éditions de la revue "Corse Historique". (Extrait de la revue "Corse Historique", n° 8)
- Bouzabata, A., Chadli, R., & Bouzid, K. (2015). *Chemical composition and antimicrobial activity of Myrtus communis L. essential oil*. *Journal of Essential Oil Research*, 27(3), 373–378.
- Bouzid, A., Chadli, R., & Bouzid, K. (2017). *Étude ethnobotanique de la plante médicinale Arbutus unedo L. dans la région de Sidi BelAbbés en Algérie occidentale*. *Phytothérapie*, 15(4), 373–378. doi: 10.1007/s10298-016-1027-6
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods — a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.
- Caesar, L. K., & Cech, N. B. (2019). *Synergy and antagonism in natural product extracts: when 1 + 1 does not equal 2*. *Natural Product Reports*, 36(6), 869–888.

- Coimbra, M. A., Pires, T. C. S. P., & Barros, L. (2020). *Synergistic effects of natural extracts against pathogens*. *Antibiotics*, 9(2), 65.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582.
- Çelikel, F. G., & Demirsoy, L. (2008). The phenological and biochemical studies on *Arbutus unedo* L. in Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 7(21), 3867–3873.
- Daira, N. E. H., Maazi, M. C., & Chefrour, A. (2016). *Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (Ammoides verticillata Desf. Briq.) de l'Est Algérien*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85, 276–290.
- Dib, I. (2008). *Contribution à l'étude ethnobotanique et phytochimique de quelques plantes médicinales du Maroc* [Thèse de doctorat, Université Mohammed V].
- Dib, M. E. A., Allali, H., (2013). *Antibacterial activity of polyphenolic extracts from Arbutus unedo*. *African Journal of Biotechnology*, 12(23), 3694–3701.
- Dolinsky, M. (2020). *Advanced techniques in antimicrobial disk diffusion assays: Aromatogram applications*. *Journal of Microbiological Methods*, 178, 106080.
- Duan, H., Takaishi, Y., & Tori, M. (2002). Polyphenols from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, *59*(8), 915–919.
- Doudach, H., Khabbal, Y., & El Allam, M. (2023). Antibacterial activity of Moroccan medicinal plant extracts against multidrug-resistant bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, 316, 116614.
- Djenane, D. (2015). Étude comparative de l'activité antimicrobienne de différentes plantes médicinales algériennes. *Revue de Phytothérapie*, 13, 45–52.
- El Atki, Y., Aouam, I., Taroq, A., El Kamari, F., Timinouni, M., & Laaroussi, B. (2020). Antibacterial effect of combination of cinnamon essential oil and thymol, carvacrol, eugenol, or geraniol. *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*, 9(1), 104–110.

- Espírito Santo, D., Machado, H., & Lopes, M. (2012). Regeneration patterns and drought tolerance in *Arbutus unedo* L. *Forest Ecology and Management*, 271, 132–139.
- Fantino, M. (1990). *Influence of environmental factors on plant extract yields*. *Phytochemistry Reviews*, 12(3), 112–125.
- Ferreira, I. C. F. R., Barros, L., & Abreu, R. M. V. (2012). *Antioxidants in wild mushrooms*. *Current Medicinal Chemistry*, 16(12), 1543–1560.
- Fontanay, S., Grare, M., Mayer, J., & Finance, C. (2015). *Antimicrobial activity of essential oils and plant extracts*. *Pathologie Biologie*, 63(3), 132–138.
- Gamal, A., & Atraiki, M. (2015). Antimicrobial activity of *Thymus vulgaris* essential oil against multidrug-resistant bacteria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *5*(5), 022–026.
- Gholizadeh Farshi, L., et al. (2024). *Overcoming antimicrobial resistance with natural synergies*. *Frontiers in Microbiology*, 15, 78–92.
- Guignard J.L. (2001). *Botanique systématique moléculaire*. Ed: Masson. Paris.290 p
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., & Cross, C. E. (1992). *Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms*. *Biochemical Journal*, 281(1), 1–14.
- Hamiche, M., Boukhatem, M. N., & Kadi, I. (2013). Ethnobotanical study of medicinal plants in the region of Mascara (Western Algeria). *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, *1*(2), 31–45.
- Hudzicki, J. (2012). *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. American Society for Microbiology.
- Jomehpour, N., et al. (2016). *Mechanisms of plant extract synergy in bacterial inhibition*. *Planta Medica*, 82(5), 345–356.

- Kivçak, B., & Mert, T. (2001). *Antimicrobial activity of extracts from Arbutus unedo L.* Journal of Ethnopharmacology, 76(2), 137–141.
- López-Bascón, M. A., & Luque de Castro, M. D. (2020). *Advances in Soxhlet extraction: Techniques and applications.* TrAC Trends in Analytical Chemistry, 127, 115894.
- Luque de Castro, M. D., & García-Ayuso, L. E. (1998). *Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future.* Analytica Chimica Acta, 369(1–2), 1–10.
- Luck, H., et al. (1995). Mechanisms of action of plant-derived antimicrobial compounds. *Biochemical Journal*, 312, 123–130.
- Marmonier, C. (1990). *Plantes médicinales et phytothérapie en Afrique du Nord.* Editions ESTEM.
- Mekchiche, M., Al-Ismail, K., & Takruri, H. (2022). *Antibacterial and antioxidant activities of Arbutus unedo extracts.* Phytotherapy Research, 36(5), 2345–2354.
- Moualek, I. (2018). *Biological activities of aqueous extract from Arbutus unedo leaves of the Tizi-Ouzou region* [Doctoral dissertation, Mouloud Mammeri University of Tizi-Ouzou].
- Mereti, M., Grigoriadou, K., & Diamantopoulos, J. (2002). Ecological adaptation of *Arbutus unedo* L. in Mediterranean environments. *Plant Biosystems*, 136(1), 39–45.
- Nicholas Skandalis, D. A., Tzortzakis, N., & Tsirigotis-Maniecka, M. (2017). Antimicrobial activity of *Arbutus unedo*. *Natural Product Research*, 31(13), 1540–1543.
- Nj, W.-J., Shit, C.-S., Ee, K.-Y., & Chai, T.-T. (2021). *Plant natural products for mitigation of antibiotic resistance.* In E. Lichtfouse (Ed.), Sustainable Agriculture Reviews (Vol. 49, pp. 57–91). Springer.
- Nouioura, F., et al. (2024). *Antibacterial potential of Ferula communis extracts.* Journal of Ethnopharmacology, 320, 117–130.

- Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., & Feo, V. D. (2013). Essential oils and antimicrobial activity. *Molecules*, 18(6), 6160–6172.
- Özcan, T., Akin, N., & Özcan, M. M. (2007). Chemical composition of leaves from *Arbutus unedo* L. *Food Chemistry*, 104(3), 1219–1225.
- Pabuccuoglu, A., Tufan, T., & Ertugrul, S. (2003). *Antioxidant properties of Arbutus unedo extracts*. *Food Chemistry*, 81(4), 545–549.
- Pimenov, M. G., Leonov, M. V., & Ostroumova, T. A. (2004). *Medicinal plants of Russia*. KMK Scientific Press.
- Ponce, A. G., Fritz, R., del Valle, C. E., & Roura, S. I. (2003). *Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard*. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 36(7), 679–684.
- Quézel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* (Tomes I & II). Paris: Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS).
- Rafiq, S., et al. (2017). *Synergistic interactions in phytomedicine*. *Natural Product Communications*, 12(4), 501–510.
- Rahali, F. Z., Benabdallah, M., & Chahmi, N. (2021). Ethnobotanical survey of medicinal plants used in traditional medicine in the region of Tiaret (Algeria). *South African Journal of Botany*, *138*, 1–12.
- Ruiz-Rodríguez, B. M., Morales, P., Fernández-Ruiz, V., Sánchez-Mata, M. C., Cámara, M., Díez-Marqués, C., & Pardo-de-Santayana, M. (2011). Valorization of *Arbutus unedo* L. berries through nutritional and antioxidant characterization. *Food Chemistry*, 127(2), 756–764.
- Sadiki, M., Balouiri, M., & Ibnsouda, S. K. (2014). Synergy testing methods for antimicrobial extracts. *Journal of Microbiology and Experimentation*, 1(3), 00015.

- Salleh, W. M. N. H. W., et al. (2023). *Optimization of Soxhlet extraction for Ferula species. Industrial Crops and Products, 180*, 114–123.
- Shareef, S. A., Ismaeil, A. S., & Ahmad, A. A. (2020). Synergistic Effect of Different Plant Extracts and Antibiotics on Some Pathogenic Bacteria. *Science Journal of University of Zakho*, 8(1), 7–11.
- Soni, K. B., Rajan, A., & Kuttan, R. (1992). Inhibition of *Helicobacter pylori* by curcumin. *Cancer Letters*, *66*(2), 115–119.
- Tardío, J., Pascual, H., & Morales, R. (2002). Ethnobotanical knowledge of wild edible plants in the Sierra Norte de Madrid (Spain): an ecological and socio-cultural approach. *Economic Botany*, 56(2), 102–114.
- Vaou, N., Stavropoulou, E., et al. (2021). *Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity: Challenges and future perspectives. Antibiotics*, 10(12),
- Vidrih, R., Filip, S., & Hribar, J. (2013). The content of fatty acids in pumpkin seed oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *115*(3), 343–347.
- Wagner, H., & Ulrich-Merzenich, G. (2009). *Synergy research in herbal medicine. Phytomedicine*, 16(2–3), 97–110.
- Yadav, R., et al. (2024). *Plant-derived antimicrobial combinations. Antibiotics*, 13(1), 1–15.
- Yirdaw, E., & Kassa, H. (2023). Ethnobotanical study of medicinal plants in Ethiopia: A review. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 19(1), 12.
- Youmbai, B., et al. (2021). *Ferula communis: A review of its bioactive compounds. Molecules*, 26(8), 223–240.
- Zaika, L. L. (1988). *Spices and herbs: Their antimicrobial activity and its determination. Journal of Food Safety*, 9(2), 97–118.

- Ziyyat, A., Legssyer, A., & Mekhfi, H. (1997). *Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco*. Journal of Ethnopharmacology, 58(1), 45–54.

Annexe :

- Appareil de Soxhlet	- Bec bunsen
- Balance	- Portoir des tubes
- Deux flacons	- Pipettes pasteur
- Becher	- Micropipette 20/100/1000
- Boites de pétri	- Etuve
- Ecouvillons	- Spectrophotomètre
- Tube à essai	- Disque non imprégnée
- Eppendorf	- DMSO
- Emulsifiant Tween 80	- Milieu GN
- Milieu Chapman	- Milieu MH
- Bain marie	- Etuve
- Embouts	- Ethanol 96 %
- Milieu MH liquide	-



Figure 11 : Les concentrations 50, 100 et 150 µl/mL des extraits éthanoliques des de plantes

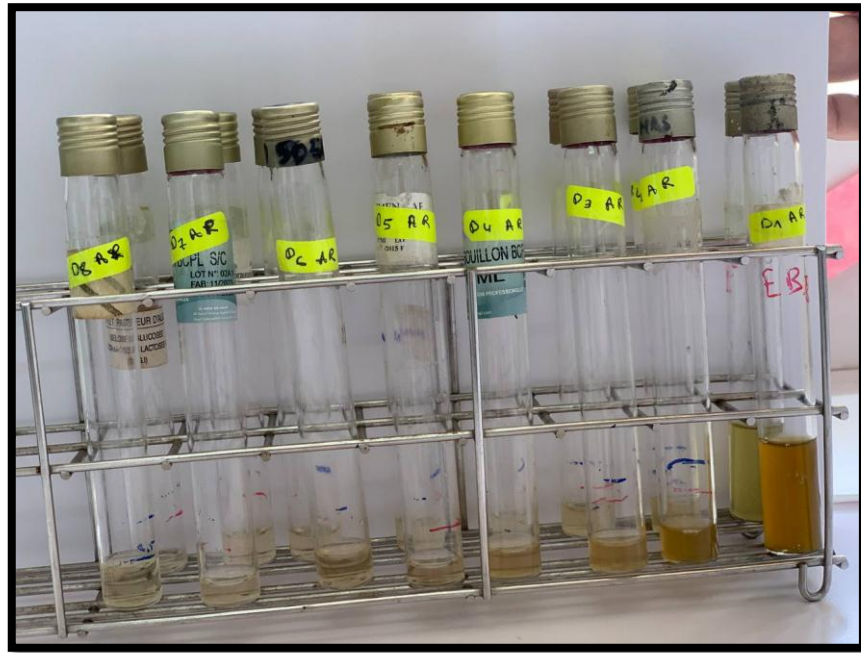


Figure 12 : Les dilutions semi logarithmique de *A. unedo*

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLEB -Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière Sciences Biologiques
Option : Microbiologie

**Étude de l'activité antibactérienne et synergie des
extraits éthanoliques d'*Arbutus unedo* L. et de *Ferula
communis* L.**

Présenté par :

Mlle AGGAB Manel Zhor
Mlle BENNAI Imene

Soutenu le : 30/06 /2025

Devant le jury :

Nom

Grade/Lieu

Qualité :

Mme Ouahchia .C

MCB /USDB1

Présidente

Mme Amedjkouh .H

MCB/USDB1

Examinatrice

Mme Lounaci .L

MCB/USDB1

Promotrice

Avis favorable