



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Agronomiques

# MÉMOIRE DE MASTER

Science de la Nature et de la Vie  
Sciences Agronomiques  
Protection des végétaux

Réf. : .....

---

Présenté et soutenu par :  
**DERRAR Hadjer**

Le : **27/06/2022**

## **Thème :** **Effet des extraits de quelques plantes spontanées sur quelques bactéries**

---

### **Jury :**

<b>Président</b>	Mr. MEHAOUA M S	MCA	Université de Biskra
<b>Encadreur</b>	Mr. HADJEB Ayoub	MCA	Université de Biskra
<b>Co-Encadreur</b>	Mr. BOUBAKEUR Nabil	MCA	INPV
<b>Examineur</b>	Mr. DJEKIREF Laâla	MCB	Université de Biskra

**Année universitaire : 2021 – 2022**

## Remerciements

Avant toute chose, j'exprime ma profonde gratitude à DIEU, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience d'achever ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur **HADJEB Ayoub**, Maître de conférences classe -A- au département des Sciences Agronomiques, Université Mohamed Khider Biskra. Pour m'avoir encadrée et pour l'intéressant sujet qu'il avait proposé et qui n'a cessé de m'orienter et m'appuyer à chaque étape, c'est par son disponibilité, ses conseils précieux et pour le temps qu'il a consacré à la lecture et à la correction du présent travail.

Je tiens particulièrement à remercier les membres du jury d'avoir accepté de juger ce travail. J'exprime ma profonde reconnaissance à Monsieur, **MEHAOUA Mohamed Sghir**, Maître de conférences classe -A- au département des Sciences Agronomiques, Université Mohamed Khider Biskra, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Également, j'adresse mes vifs remerciements à Monsieur **DJEKIREF Laâla**, Maître de conférences classe -B- au département des Sciences Agronomiques, Université Mohamed Khider Biskra. Pour avoir accepté d'examiner ce travail, et pour sa grande générosité et ses qualités scientifiques et humaines, qu'il trouve ici l'expression de mon profond respect.

J'exprime mes chaleureux remerciements à Dr. **BOUBAKEUR Nabil** pour son aide précieuse, ses idées et ses remarques pertinentes qu'il n'a jamais hésité à me les donner avec un grand cœur généreux, et sa contribution à ce travail qui était fructueuse.

Un grand merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## *Dédicace*

*J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail à mes chers parents,  
qui m'avez dirigé et suivi pondent toute mes années d'étude et surtout pour  
leurs sacrifices de tous les instants, sa patience sans limite et l'éducation  
qu'elle m'a donnée, je lui dit merci mille fois :*

*À mon précieux père*

*À ma défunte mère.*

*À ma sœur et mes frères*

*À mes amies proches*

*À tous ceux et celles qui m'ont encouragé et m'ont souhaité du bien  
de près ou de loin.*

## Liste des abréviations

**PSV** : *Pseudomonas savastanoi* PV. *Savastanoi*.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**INPV** : Institut Nationale de le Protection des Végétaux –Biskra.

**Laboratoire CQC** : Laboratoire de Contrôle de Qualité et de Conformité – Laboratoire MOUSSAOUI Biskra.

**°C** : Degré Celsius.

**Min** : Minute.

**L** : Litre.

**ml** : Millilitre.

**mm** : Millimètre.

**µl** : microlitre.

**Rép** : Répétition.

**L** : Litre.

**CMI** : concentration minimale inhibitrice.

**CMB** : concentration minimale bactéricide.

**Nig** : *Nigella sativa*.

**Hen** : Henna (*lawsonia inermis*).

**Cit** : *Citrillus colonynthis*.

**Per** : *Pergularia tomentosa*.

**Eth** : éthanol.

**Méth** : méthanol.

**Aqx** : aqueux .

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> Les différents parties de la plante de <i>Nigella sativa</i> ; A: Plante, B: Tige, C: Fleur, D: Grains ( <a href="https://pin.it/6nxbeXr">https://pin.it/6nxbeXr</a> ) .....	7
<b>Figure 2</b> les différentes parties de <i>Lawsonia inermis</i> ; A : Plante, B :Tige, C :Feuilles, D : Fleurs et fruits ( <a href="https://pin.it/7a7MYTb">https://pin.it/7a7MYTb</a> ) .....	9
<b>Figure 3</b> Les différentes parties de la plante <i>Citrillus colocynthis</i> ; A : Feuilles, B : Fruits à maturité, C : Des graines d'un fruit immature, D : Fleur femelle (Leber et al., 2020) .....	11
<b>Figure 4</b> les différentes parties de la plantes <i>Pergularia tomentosa</i> ; A: Plante, B:Feuille, C: Fruit, D: Fleurs, <i>Pergularia tomentosa</i> - Biodiversité végétale du sud-ouest marocain ( <a href="http://teline.fr">teline.fr</a> ) .....	13
<b>Figure 5</b> Bactérie <i>Pseudomonas savastanoi</i> (Serdoun, 2013) .....	14
<b>Figure 6</b> Cycle pathologique du nœud d'olive causé par <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> .....	16
<b>Figure 7</b> : Le chancre bactérien de l'olivier (Serdoun, 2013) .....	17
<b>Figure 8</b> Tumeurs dues au <i>Pseudomonas savastanoi</i> sur l'olivier ; A : Tumeurs sur les rameaux, B : Tumeurs sur feuille, C : Tumeurs sur tronc (Boulssen et Bouraoui 2016) .....	18
<b>Figure 9</b> Aspect morphologique d' <i>Escherichia Coli</i> . (Natural Resources Research Institute, Univesity of Minnesota; USA) .....	19
<b>Figure 10</b> Cycle de vie d' <i>Escherichia coli</i> (Michaut, 2019) .....	20
<b>Figure 11</b> Aspect morphologique de <i>Proteus vulgaris</i> .....	21
<b>Figure 12</b> Séchage des plantes (Original) .....	22
<b>Figure 13</b> Le broyat des plantes A : <i>P.tomentosa</i> , B : <i>L.inermis</i> , C : <i>N.sativa</i> , D : <i>C.colonynthis</i> (Original) .....	23
<b>Figure 14</b> les étapes de préparation des extraits éthanoliques et méthanoliques (Original)....	24
<b>Figure 15</b> Evaporation ; Rotavap (Original) .....	25
<b>Figure 16</b> Préparation des extraits aqueux (Original) .....	25
<b>Figure 17</b> Préparation et coulage du milieu (Original) .....	27
<b>Figure 18</b> les trois espèces bactériennes testées ( Originale) .....	27
<b>Figure 19</b> Des cultures jeunes, A: <i>Proteus vulgaris</i> , B: <i>Pseudomonas savastanoi</i> , C : <i>Escherichia coli</i> (Original) .....	28
<b>Figure 20</b> Préparation de la suspension bactérienne (Original) .....	28
<b>Figure 21</b> Réalisation de la méthode de diffusion sur disque (Original) .....	29
<b>Figure 22</b> Préparation des témoins de contrôle négatif (Original) .....	30

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> Composants du milieu LPGA .....	26
<b>Tableau 2</b> Composants du gélose nutritive .....	26
<b>Tableau 3</b> Les microorganismes testées .....	27
<b>Tableau 4</b> Les diamètres d'inhibition des extraits contre <i>P.savastanoi</i> .....	32
<b>Tableau 5</b> Les diamètres d'inhibition des témoins .....	32
<b>Tableau 6</b> Résultat de l'effet des extraits éthanolique méthanolique et aqueux sur <i>P.savastanoi</i> (Originale).....	33
<b>Tableau 7</b> Résultats des contrôles négatifs (Original) .....	34
<b>Tableau 8</b> Analyse de la variance par test ANOVA( <i>P.savastanoi</i> ) .....	35
<b>Tableau 9</b> Résultats de test Tukey de comparaison multiple des moyennes ( <i>P.savastanoi</i> ) .	35
<b>Tableau 10</b> Les diamètres d'inhibition des extraits contre <i>E.coli</i> .....	36
<b>Tableau 11</b> Les diamètres d'inhibition des témoins .....	36
<b>Tableau 12</b> Résultat de l'effet des extraits éthanolique méthanolique et aqueux sur <i>E.coli</i> (Originale) .....	37
<b>Tableau 13</b> Les diamètres d'inhibition des témoins (Original).....	38
<b>Tableau 14</b> Analyse de la variance par test ANOVA ( <i>E.coli</i> ) .....	38
<b>Tableau 15</b> Résultats de test Tukey de comparaison multiple des moyennes ( <i>E.coli</i> ) .....	39
<b>Tableau 16</b> Les diamètres d'inhibition des extraits contre <i>P.vulgaris</i> .....	40
<b>Tableau 17</b> Les diamètres d'inhibition des témoins .....	40
<b>Tableau 18</b> Résultat de l'effet des extraits éthanolique méthanolique et aqueux sur <i>P.vulgaris</i> (Originale).....	41
<b>Tableau 19</b> Les diamètres d'inhibition des témoins(Original) .....	42
<b>Tableau 20</b> Analyse de la variance par test ANOVA( <i>P.vulgaris</i> ) .....	42
<b>Tableau 21</b> Résultats de test Tukey de comparaison multiple des moyennes ( <i>P.vulgaris</i> ) ....	43
<b>Tableau 22</b> Résultats de combinaison des extraits .....	44
<b>Tableau 23</b> Résultats d'inhibition obtenus par combinaison des extraits (Originale) .....	44
<b>Tableau 24</b> Résultats de CMI et CMB de <i>L.inermis</i> et <i>N.sativa</i> sur <i>E.coli</i> ( Original).....	46
<b>Tableau 25</b> Résultats de la sensibilité des bactéries au chloramphénicol .....	47
<b>Tableau 26</b> Résultats de la sensibilité des bactéries à l'antibiotique de chloramphénicol (Original).....	47
<b>Tableau 27</b> Récapitulation de l'effet des extraits sur les différentes espèces des bactéries testées .....	48

## Table des matières

Liste des abréviations.

Liste des figures

Liste des tableaux.

Introduction .....	1
<b>Chapitre I : Matériel et méthodes</b>	
1. Matériel végétale .....	6
1.1. Nigelle cultivée « <i>Nigella sativa</i> » .....	6
1.1.1 Présentation .....	6
1.1.2 Position systématique .....	6
1.1.3 Description botanique .....	6
1.1.4 Propriétés générales de <i>Nigella sativa</i> .....	7
1.2.Henné « <i>Lawsonia inermis</i> » .....	7
1.2.1. Présentation .....	8
1.2.2. Position systématique .....	8
1.2.3. Description botanique .....	8
1.2.4. Propriétés générales de <i>Lawsonia inermis</i> .....	9
1.3.Coloquinte « <i>Citrillus colonynthis</i> » .....	10
1.3.1. Présentation .....	10
1.3.2. Position systématique .....	10
1.3.3. Description botanique .....	10
1.3.4. Propriétés générales <i>Citrillus colonynthis</i> .....	11
1.4.Pergularia « <i>Pergularia tomentosa</i> » .....	12
1.4.1. Présentation .....	12
1.4.2. Position systématique .....	12
1.4.3. Description botanique .....	12
1.4.4. Propriétés générales <i>Pergularia tomentosa</i> .....	13
2. Matériels biologiques .....	13
2.1. <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv <i>Savastanoi</i> .....	14
2.1.1. Caractères généraux de <i>Pseudomonas savastanoi</i> PV. <i>Savastanoi</i> .....	14
2.1.2. Classification de <i>Pseudomonas savastanoi</i> PV. <i>Savastanoi</i> .....	14
2.1.3. Le cycle de vie de <i>Pseudomonas savastanoi</i> PV. <i>Savastanoi</i> .....	15
2.1.4. La maladie causé par de <i>Pseudomonas savastanoi</i> PV. <i>Savastanoi</i> .....	16

2.1.5. Les symptômes .....	17
2.2 <i>Escherichia coli</i> .....	18
2.2.1. Caractères généraux d' <i>Escherishia Coli</i> .....	18
2.2.2. Classification d' <i>Escherishia Coli</i> .....	19
2.2.3. Cycle de vie d' <i>Escherishia Coli</i> .....	19
2.3 <i>Proteus vulgaris</i> .....	21
2.3.1. Caractères généraux de <i>Proteus vulgaris</i> .....	21
2.3.2. Classification de <i>Proteus vulgaris</i> .....	21
3. Méthodologie .....	22
3.1 Préparation des plantes .....	22
3.1.1 Séchage .....	22
3.1.2. Broyage .....	22
3.2.Extraction .....	23
3.2.1. Préparation des extraits méthanoliques et éthanoliques .....	23
3.2.2. Préparation des extraits aqueux .....	25
3.3 Etude de l'activité antibactérienne .....	26
<i>Milieu de culture</i> .....	26
<i>Souches bactérienne testés</i> .....	27
<i>Ensemencement et incubation des souches</i> .....	28
<i>Préparation du suspension bactérienne (Inoculum bactérienne)</i> .....	28
<i>Préparation des disques</i> .....	29
3.3.1. Effet antibiotique des extraits bruts.....	29
3.3.2. Combinaison des extraits « <i>Lawsonia inermis</i> + <i>Nigella sativa</i> » et « <i>Lawsonia inermis</i> + <i>citrillus colonynthis</i> » .....	30
3.3.3 Détermination de la concentration minimal inhibitrice CMI et CMB .....	30
3.3.4 Test de sensibilité à l'antibiotique de référence .....	31
3.3.5 Analyses statistiques .....	31
<b>Chapitre II : Résultats et Discussion</b>	
1. Résultats .....	32
1.1. Etude de l'activité antibactérienne .....	32
1.1.1. Effet antibiotique des extraits bruts .....	32
1.1.1.1. Effet sur <i>Pseudomonas savastanoi pv savastanoi</i> .....	32
1.1.1.2. Effet sur <i>Escherichia coli</i> .....	37



<b>1.1.1.3. Effet sur <i>Proteus vulgaris</i></b> .....	<b>41</b>
<b>1.1.2 Combinaison des extraits « <i>Lawsonia inermis</i> + <i>Nigella sativa</i> » et « <i>Lawsonia inermis</i> + <i>Citrillus colonynthis</i> »</b> .....	<b>45</b>
<b>1.1.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI et bactéricide CMB.</b> .....	<b>46</b>
<b>1.1.4. Test de sensibilité des bactéries a l'antibiotique de référence</b> .....	<b>47</b>
<b>2. Discussion</b> .....	<b>50</b>
<b>Conclusion</b> .....	<b>52</b>
<b>Références</b> .....	<b>54</b>
<b>Annexes</b> .....	<b>68</b>
<b>Résumé</b> .....	<b>73</b>

# Introduction

## Introduction

La phytopathologie est aux plantes ce que la médecine est à l'homme et la médecine vétérinaire aux animaux. Chacune de ces disciplines étudie les causes, les mécanismes et le contrôle de maladie affectant les organismes auxquelles elle se rapporte (**Rouag, 2021**)

Il est remarquable de constater que les maladies fongiques et les affections bactériennes sont réparties de façon inégale entre le règne végétal et le règne animal. En effet, les maladies importantes des plantes sont dues le plus souvent à des champignons, rarement à des bactéries. Chez l'homme par contre, c'est l'inverse qui se produit et les infections bactériennes sont les plus nombreuses. Cette répartition inégale est la conséquence du processus normal de l'infection qui n'est pas le même au sein du règne animal qu'au sein du règne végétal (**Terrier, 1945**)

Tâche compliquée si l'on considère qu'il a affaire à des douzaines de plantes cultivées présentant un intérêt économique, ainsi qu'à des milliers d'espèces sauvages, et qu'en outre, chacune d'elles est victime de douzaines et parfois même de centaines de maladies spécifiques, soit d'origine parasitaire, c'est-à-dire causées par des bactéries, des champignons ou des virus filtrants, soit d'origine physiologique, donc dues à des défauts de nutrition, de température, de lumière, etc (**Terrier, 1945**).

Tout au long de leur cycle de vie, les plantes et les agents pathogènes interagissent avec une grande variété d'organismes ; ces interactions peuvent affecter la santé des plantes d'une manière positive et/ou négative (**Corbaz, 1990 ; Nakkeeran et al., 2005**). On estime que près de 50% de la production agricole mondiale est perdue avant et après la récolte. L'inquiétude envers les maladies phytopathogènes devient de plus en plus grave du fait de l'extension des cultures intensives (**Seitz et al., 1982 ; Alderman et al., 1996**).

Les maladies parasitaires des plantes sont causées par l'action d'agents pathogènes (virus, bactéries, champignons, protozoaires, les phanérogames parasites, etc...). Ces parasites sont généralement infectieux car ils envahissent l'hôte et s'y multiplient et sont contagieux, par leur transmission d'une plante infectée à une plante saine (**Lepoivre, 2003**).

Les bactéries sont capables de provoquer des maladies dans un large éventail de plantes dans le monde entier. Ces organismes, appelés bactéries phytopathogènes, affectent toutes les plantes vivrières, colonisant soit leur surface, soit leurs tissus. Ils provoquent des symptômes tels que des taches, des brûlures, des chancres, des pourritures des tissus et/ou des déséquilibres hormonaux qui entraînent une prolifération des plantes, un rabougrissement, une ramification

des racines et une épínastie des feuilles, entre autres. Ces problèmes ont un impact sur les plantes à un niveau qualitatif et quantitatif, affectant négativement les approvisionnements alimentaires mondiaux (**Kannan et al., 2015**).

Les maladies bactériennes des plantes causent des dommages dévastateurs aux cultures et des pertes économiques importantes. Collectivement, ils causent des pertes de plus d'un milliard de dollars dans le monde chaque année à la chaîne de production alimentaire (**Mansfield et al., 2012 ; Kannan et al., 2015**).

Dans le bassin méditerranéen, l'olivier (*Olea europea. L*) constitue une essence fruitière principale, tant par le nombre de variétés cultivées que par l'importance sociale et économique de sa culture et de son rôle environnemental. Selon **Gomes et al (2012)**, il existe plus de 805 millions d'oliviers dans le monde entier dont 98% sont concentrés sur le pourtour méditerranéen. En fait, le patrimoine génétique oléicole mondial est très riche en variétés. Il est constitué de plus de 2 600 variétés différentes (**Muzzalupo et al., 2014**). Malheureusement, l'olivier est sujet à différents types d'attaques d'origine fongique ou bactérienne ou ravageurs qui peuvent réduire la capacité de production, par conséquent, causer de lourdes pertes économique. C'est l'exemple de la tuberculose de l'olivier, une maladie incurable, causée par *Pseudomonas savastanoi*. En cas d'infestation, la seule solution est de déraciner les arbres atteintes, les brûler afin d'éviter la propagation et de stériliser les outils de taille des oliviers après chaque usage (**Boulssen et Bouraoui, 2016**).

La tuberculose de l'olivier est l'exemple typique de maladie bactérienne causée par la bactérie *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi* touchant l'olivier et ayant une grande importance économique. La connaissance de l'ensemble des données de la maladie permet une esquisse générale de cycle biologique à partir duquel des stratégies de lutte peuvent être élaborées dans notre pays. *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi* est un pathogène qui induit les galles sur la tige, les rameaux et les feuilles de plusieurs plantes hôtes appartenant à la famille Oleaceae et la famille apparentée Apocynaceae (**Kheddache et Bettayeb, 2018**).

*Pseudomonas savastanoi* est une bactérie largement répandue dans le sol, l'eau et l'air, c'est un bâtonnet Gram négatif, mobile endophyte, phytopathogène causant des excroissances, dénommé galles, des noeuds ou des tumeurs, principalement sur les parties aériennes des plantes, leur incidence sur les feuilles et les fruits étant rares (**Benjama, 2003 ; Young, 2004**). Résident commun dans la phyllosphère d'olive. Elle a la capacité de passer d'un mode de vie épiphytique à un mode de vie parasite à chaque fois que des blessures de nature diverse lui permettent d'envahir les tissus de l'hôte (**Ercolani, 1978**).

## Introduction

La lutte contre les maladies des plantes est basée sur différentes méthodes. La plupart de ces méthodes est orientée pour protéger les plantes saines des maladies plutôt que de guérir les plantes malades. Seules quelques infections peuvent être contrôlées d'une façon satisfaisante après que les plantes deviennent malades. Les méthodes de lutte appliquées en agriculture varient considérablement d'une maladie à une autres en fonction du pathogène, de la plante hôte et de leur interaction chacun avec l'autre et avec l'environnement. Le but final de toutes les méthodes utilisées est de combattre les maladies des plantes et alors d'accroître la quantité et améliorer la qualité de la production agricole (**Nasraoui, 2006**).

Les microorganismes pathogènes sont difficiles à contrôler car ils peuvent survivre dans le sol pour de longues périodes (**Tschen, 1985**). Pour lutter contre ces maladies, La méthode classique de lutte chimique par l'application des produits phytosanitaires permettent de prévenir des pertes importantes sur les cultures et continueront donc de jouer un rôle dans la protection des cultures agricoles contre différentes menaces. Néanmoins, l'une exposition à ces produits peut entraîner des effets indésirables sur les êtres humains et sur l'environnement a des conséquences néfastes sur l'environnement ; entre autres, par la toxicité dans la chaîne trophique, la pollution des eaux de surface et souterraine (**Vereijken et Viaux, 1990 ; Roberts, 1989 ; Tooby, 1989**). Une recherche sérieuse est nécessaire pour identifier des méthodes alternatives pour la protection des végétaux, qui sont moins dépendantes des produits chimiques et sont plus respectueuses de l'environnement (**Prapagdee et al, 2008**).

La lutte biologique est une méthode de lutte contre des espèces nuisibles par l'utilisation d'une autre espèce qui agit par prédation ou parasitisme (**Boivin, 2001**). Elle correspond donc à l'utilisation d'organismes vivants dans le but de contrôler ou limiter des ravageurs et des pathogènes des cultures (**Altieri et al., 2005 ; Eilenberg et al., 2001 ; Jourdeuil et al., 2002**). La lutte biologique a pour objectif de diminuer l'utilisation des produits chimiques de type pesticides, fongicides et herbicides en agriculture en favorisant l'utilisation d'ennemis naturels, appelé alors auxiliaires, pour défendre les cultures. Les agents majeurs de la lutte biologique peuvent être des arthropodes (prédateurs et parasitoïdes), des nématodes et des micro-organismes tels que les bactéries et les champignons (**Altieri et al., 2005 ; Boller et al., 2004 ; Eilenberg et al., 2001**).

Il était urgent de développer des méthodes de contrôle et de protection plus écologiques tout comme les approches alternatives complémentaires et innovantes. Cette démarche s'inscrit dans le cadre du développement d'une protection intégrée, raisonnée ou biologique telle que l'utilisation de biopesticides (**Regnault, 2002**). Les biopesticides d'origine végétale peuvent constituer une solution alternative au «tout chimique» au cours de ces dernières décennies. A

cet effet, de nombreuses espèces végétales ont été répertoriées comme présentant une activité biopesticide sur une large gamme d'insectes phytophages, de bactéries, de champignons et de nématodes phytoparasites (**Philogene et al., 2005**). Plusieurs espèces végétales sont connues depuis longtemps pour leurs effets antimicrobiens. De ce fait, les plantes aromatiques et médicinales constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur (**Ouraini et al., 2007**). Des alternatives aux antibiotiques ont été développées, à partir d'extraits de plantes, de manière à renforcer l'immunité des animaux ou à inhiber la croissance des bactéries indésirables (**Babu et al., 2008 ; Immanuel et al., 2004**).

Selon l'OMS (2008), plus de 80% de la population mondiale utilisent les plantes médicinales pour traiter plusieurs maladies (**Pierangeli et al., 2009**). En effet, les substances naturelles d'origine végétale sont douées de plusieurs activités biologiques comme l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse, antimicrobienne (**kada, 2018**). Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits chimiques. Les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites primaires qui sont indispensables à leur existence et une gamme extraordinaire d'autres composés appelés métabolites secondaires. Ces derniers ont pour fonction notamment la protection contre les microorganismes, les animaux et même d'autres plantes. Ces métabolites jouent donc un rôle primordial dans la lutte contre diverses maladies et herbivores (**Cox et Balick, 1994 ; Junio et al., 2011**).

D'après les problèmes les plus importantes chez les plantes sont les maladies bactériennes, l'importance de ces maladies et la difficulté de la lutte ont été prises en compte afin de trouver des solutions, et pour cela nous avons essayé quatre plantes pour obtenir une efficacité contre quelques bactéries.

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est l'évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits éthanolique, méthanolique et aqueux de *Lawsonia inermis*, *Nigella sativa*, *Citrillus colonynthis* et *Pergularia tomentosa* vis-à-vis de différentes espèces bactériennes.

Cette démarche s'inscrit dans le cadre du développement d'une protection biologique telle que l'utilisation des biopesticides.

Notre travail sera donc divisé en deux chapitres :

**Chapitre 1** : Consacrées aux matériel et méthodes ; comprend des :

# Introduction

- Généralités sur les plantes et les espèces bactériennes étudiés.
- Commencer par la préparation des extraits bruts des quatre plantes et se termine par les activités antibactériennes des différents extraits préparés et les protocoles utilisés pour l'évaluation.
- Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI et de la concentration minimale bactéricide CMB d'extraits présentant un effet inhibiteur sur les bactéries testées.
- Effet de combinaison des extraits efficace.
- Etude de sensibilité des bactéries à l'antibiotique de référence « Chloramphénicol ».

**Chapitre 2 :** Cette partie présente nos résultats obtenus avec l'interprétation suivie par discussion.

En fin une conclusion générale et des perspectives.

# Chapitre I :

## Matériel et méthodes



# Chapitre I : Matériel et méthodes

## Chapitre I : Matériel et méthodes

### 1. Matériel végétale

#### 1.1. Nigelle cultivée « *Nigella sativa L* »

##### 1.1.1. Présentation

*Nigella sativa L* est une plante herbacée de la famille des Renonculaceae (**Guignard, 2001**). Du latin nigellus "noirâtre", la nigelle nous offre ses petites graines aromatiques menées d'un noir intense communément connues sous le nom de cumin noire, black seed en anglais, Habbat el baraka ou encore El habbah sauda dans les pays arabes, Sinoudj en Algérie (**Ghedira, 2006**).

##### 1.1.2 Position systématique

La Classification botanique de *Nigella Sativa* selon (**Guignard, 2001**) :

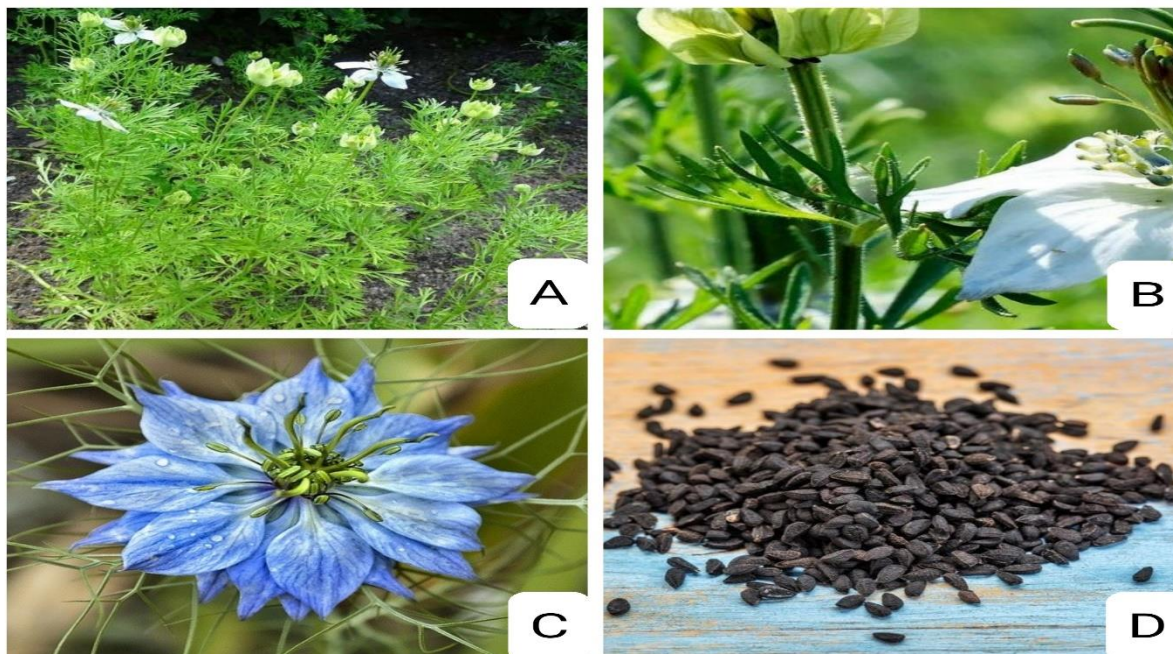
- **Sous Règne** : Cormophyte
- **Supra embranchement** : Rhizophyte
- **Embranchement** : Spermaphyte
- **Sous embranchement** : Angiosperme
- **Classe** : Eudicotylédone
- **Sous classe** : Audicots archaïques
- **Ordre** : Ranunculales
- **Famille** : Renonculacées
- **Sous famille** : Helloboroidées
- **Genre** : *Nigella*
- **Espèce** : *Nigella sativa*

##### 1.1.3 Description botanique

*Nigella sativa* est une plante annuelle herbacée atteignant 30 à 60 cm de haut (**Figure 1**). Les feuilles pennatiséquées, divisées en lobes étroits, elles sont lancéolées à linéaires et présentent des onglets nectarifères, les feuilles inférieures sont petites et pétaloïdes et les supérieures sont longues (**Bonnier, 1990 ; Ghedira, 2006**). Les fleurs sont petites avec des pétales et des sépales blancs, et elles ont de nombreuses étamines incrustées dans le réceptacle (**Ghedira, 2006**). La plante est hermaphrodite à reproduction indépendante, et le fruit est une capsule composée de 3 à 6 carpelles fusionnées jusqu'à la base des styles persistants (**Bonnier, 1990**). Chaque capsule contient plusieurs blanchâtres triangulaires, et à mesure qu'ils mûrissent, ils s'ouvrent et l'exposition des grains à l'air les noircit. Ses grains sont des ovoïdes dont la

## Chapitre I : Matériel et méthodes

taille varie de 2 à 3,5 mm, avec 3 à 4 angles et un grain finement granuleux et réticulé face supérieure (Ghedira, 2006).



**Figure 1** Les différents parties de la plante de *Nigella sativa*; A: Plante, B: Tige, C: Fleur, D: Grains (<https://pin.it/6nxbeXr>)

### 1.1.4 Propriétés générales de *Nigella sativa*

*Nigella sativa* est un remède naturel pour une variété de pathologies, y compris l'asthme, l'inflammation, la toxine, l'eczéma et les troubles de préhension. Le grain ou l'huile qui en résulte est utilisé comme diurétique, carminatif, cholagogue et vermifuge (Ghedira, 2006). Leur popularité était raisonnée par la croyance idéologique de pouvoir guérir plusieurs maladies. En effet, cette plante a occupé une place particulière dans la civilisation islamique en raison de la prophétie du Prophète Mohamed (salut et miséricorde soit sur lui) ; "El habbah sauda est un médicament pour toutes les maladies sauf la mort", ces mots sont restés un mystère pour la science jusqu'à l'arrivée de techniques modernes qui ont réussi à démontrer les propriétés thérapeutiques des grains de cette plante (Meziti, 2008).

## 1.2. Henné « *Lawsinia inermis* »

### 1.2.1. Présentation

*Lawsonia alba*, *Lawsonia spinosa* et *Ligusturum egypticum* sont tous des noms scientifiques pour un arbuste qui appartient à la famille des Lythraceae (wichtl, 1999). La plante doit son nom scientifique au botaniste suédois Carl Linnaeus qui l'a donnée à son assistant, le physicien Ecossois, Issac Lawson. *Inermis* est un mot latin qui signifie « non armé » ou « sans

## Chapitre I : Matériel et méthodes

défense » (**Kazandjieva et al., 2007**). *Lawsonia inermis* L est une plante vivace souvent connue sous le nom de Henné en Français, Henna en anglais et حنة en arabe. C'est une espèce originaire d'Afrique du Nord et du Sud Est Asiatique (**Malekzadeh, 1968**).

### 1.2.2 Position systématique

*Lawsonia inermis* est la plante la plus connue de la famille des Lythracées. Famille connue pour sa procession d'un potentiel colorant important. D'après (**Roques, 1960**) ; la classification botanique de la *L inermis* est la suivante :

- **Règne** : Plante
- **Embranchement** : Phanérogames
- **Sous embranchement**: Angiospermes
- **Division**: Magnoliophyta
- **Classe** : Magnoliopsida
- **Ordre** : Myrtales
- **Famille**: Lythraceae
- **Genre**: *Lawsonia*
- **Espèce** : *Lawsonia inermis*

### 1.2.3. Description botanique

Le henné est un arbuste ramifié et élancé aux feuilles simples, entièrement glabres, opposées qui sont elliptiques ou obovale en forme, pointues aux deux extrémités, et un pétiole court mesurant jusqu'à 5 cm de long et de 5 à 10 mm de diamètre (**Figure 2**). Ses panicules sont constitués de cymes blanches, jaunes ou rouges d'un diamètre d'un centimètre et d'une longueur allant jusqu'à 20 cm. Ces fleurs ont quatre pétales et quatre sépales qui adhèrent au fruit globuleux, qui a la forme d'une capsule cylindrique d'un diamètre 5 mm et est densément rempli de grains (**Boullard, 2001 ; Ait Youssef, 2006**)



**Figure 2** les différentes parties de *Lawsonia inermis* ; A : Plante, B : Tige, C : Feuilles, D : Fleurs et fruits (<https://pin.it/7a7MYTb>)

### 1.2.4. Propriétés générales de *Lawsonia inermis* :

Le Henné est, à la fois, une plante aromatique, rituelle et médicinale (**Boullard, 2001**). Les médecines ayurvédique et traditionnelle en font grand usage pour soigner aussi bien les personnes que les animaux domestiques, dans toutes sortes de maladies de la peau, les brûlures, mais aussi comme anti-diarrhéique, anti-épileptique ou abortif (**Forestier, 1982 ; Botineau, 2010**). Les principaux constituants des plantes de Lythraceae comprennent les flavonoïdes, isocoumarines, coumarines, quinoïde, triterpénoïdes, dérivés du naphthalène. Certains d'entre eux présentent des anti-inflammatoires, propriétés antimycotiques, antifongiques, antibactériennes et antiparasitaires en tant que composants primaires. (**Yang et al., 2017**). *Lawsonia inermis*, comme beaucoup de plantes médicinales, a une variété de composés chimiques dans ses différentes parties. Les plus importants d'entre eux sont les 1,4-naphtoquinones, qui appartiennent à la famille des quinones et sont principalement représentés par le 2-hydroxy-1,4-naphtoquinone, également reconnu sous le nom de Lawsone (**Wichtl, 1999**).

## Chapitre I : Matériel et méthodes

### 1.3. Coloquinte « *Citrullus colocynthis* » « *vulgaris* »

#### 1.3.1 Présentation

La coloquinte est une plante qui pousse sur les sols désertiques et est assez commune dans les climats tropicaux humides ou modérément secs. Elle est moins fréquent dans les climats tempérés. Elle couvre une vaste zone qui comprend le désert du Sahara en Afrique du Nord, l'Arabie saoudite, l'Égypte et l'Inde, ainsi que les régions méditerranéennes (**Batonouny et al., 1999**).

#### 1.3.2 Position systématique

En 1998, un groupe de chercheurs (Angiosperm Phylogeny Group, APG) élabore un nouveau système de classification basé sur des critères phylogénétiques. Cette classification a été révisée à deux reprises « **APG II** » en **2003** et « **APG III** » en **2009**.

- **Règne** : Végétale
- **Sous règne** : Plantes vasculaires
- **Super division** : Spermaphytes
- **Division** : Angiospermes
- **Classe** : Dicotylédones
- **Sous classe** : Dialypétales
- **Ordre** : Violales
- **Famille** : Cucurbitaceae
- **Genre** : *Citrullus*
- **Espèce** : *Citrillus colocynthis*

#### Noms vernaculaires

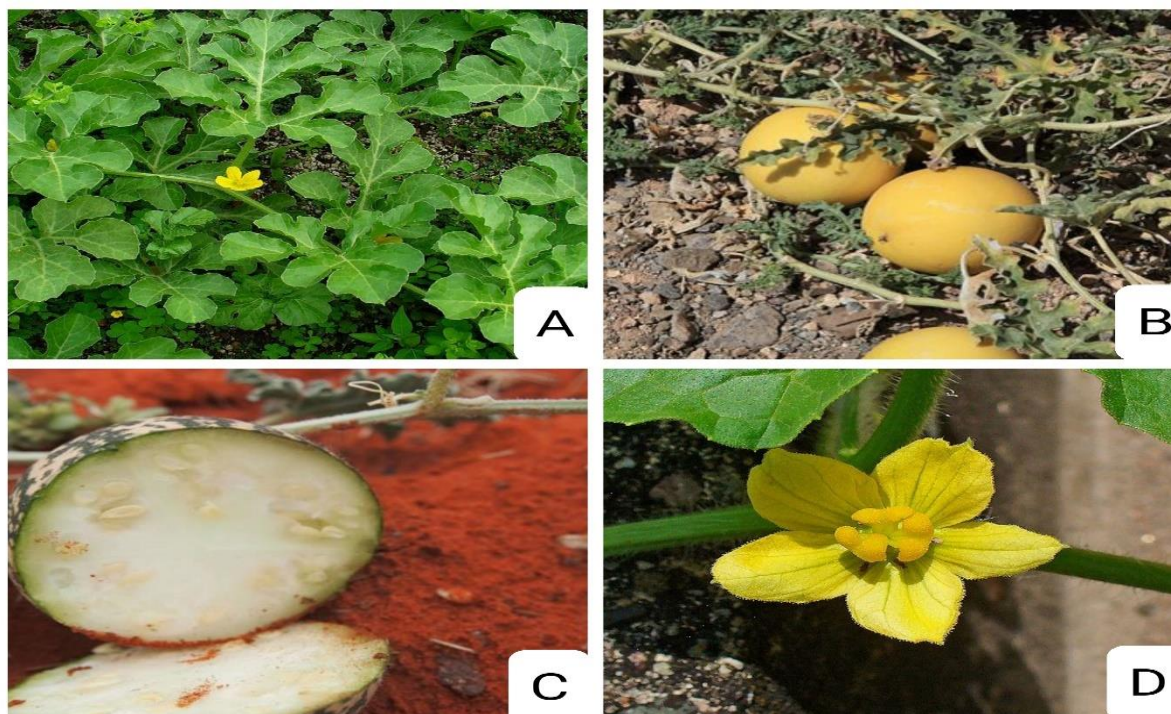
- **Arabe**: Amdal, Hadadja, Hadja, Hantel
- **Berber**: (Algérie) : Ifersil, Ikam, Tabarka, Tadjellat,
- **Français**: Coloquinte, chicotin
- **Anglais**: Colocynth, bitter apple, wild gourd (**Hammiche et al., 2013**).

#### 1.3.3 Description botanique

La coloquinte (*C. colocynthis*) est une plante rampante herbacée, annuelle ou vivace, ses tiges sont angulaires, rugueuses, migrantes et rudes. Les feuilles, de 5 à 10 cm de longueur, ont un limbe découpé en 5 à 7 lobes. Les fleurs, jaunes verdâtres, monoïques à sexes séparés, solitaires,

## Chapitre I : Matériel et méthodes

apparaissent l'été entre Mai et Août à l'aisselle des feuilles. Les fruits sphériques, de 7 à 10 cm de diamètre, ressemblent à une petite pastèque de couleur verte panachée de jaune . Ils deviennent complètement jaunes à maturité (**Figure 3**). Les graines sont de petites tailles (6mm de longueur), ovoïdes et aplaties, lisses, de couleur variant de l'orange au brun noirâtre et ont une saveur amère (**Duke 1983**).



**Figure 3** Les différentes parties de la plante *Citrillus colocynthis* ; A : Feuilles, B : Fruits à maturité, C : Des graines d'un fruit immature, D : Fleur femelle (**Leber et al., 2020**)

### 1.3.4 Propriétés générales de *C colocynthis*

L'utilisation médicale traditionnelle de *C. colocynthis* a déclenché une série d'études pharmacologiques. Dans de nombreuses régions du monde, elle est utilisée pour traiter le diabète, la constipation, le lèpre, l'asthme, la bronchite, le jaunisse, les douleurs articulaires, le cancer et la mammite (**Hussain et al., 2014**). On la trouve dans les arthralgies, les myalgies et les allergies dentaires, ainsi que dans les dermatoses, la blennorragie, les morsures de scorpion et le coup de vent dromadaire (**Leber et al., 2020**). La décoction de la coloquinte serait insecticide, il est destiné à l'élimination des mouches, lorsqu'elle est mélangée avec du blé, peut être utilisée comme insecticide, notamment pour protéger les récoltes des attaques du charançon. Une utilisation d'antimites est également indiquée (**Hammiche et al., 2013**).

# Chapitre I : Matériel et méthodes

## 1.4. *Pergularia* « *Pergularia tomentosa* L »

### 1.4.1 Présentation

La famille des Asclépiadacées contient environ 355 genres et près de 3 700 espèces qui se trouvent principalement dans les régions tropicales et subtropicales, mais avec quelques représentants qui se trouvent principalement dans les zones tempérées (**Good, 1951**). La plante *Pergularia tomentosa* s'est largement disséminée au Liban, en Palestine, au Pakistan et en Arabie Saoudite (**Gohar et al., 2000 ; Al-Farraaj et Al-Wabel, 2007**), en Egypte dans le désert, le long de la côte de la Mer Rouge , et en Sina (**Boulos, 2000**), et le Sahara algérien (**Abegaz et Demissew, 1998**).

### 1.4.2 Position systématique

La classification de *P. tomentosa* présentée dans le tableau 1 est faite selon (**Maman, 2003**) et in (**Kemassi et al., 2008**).

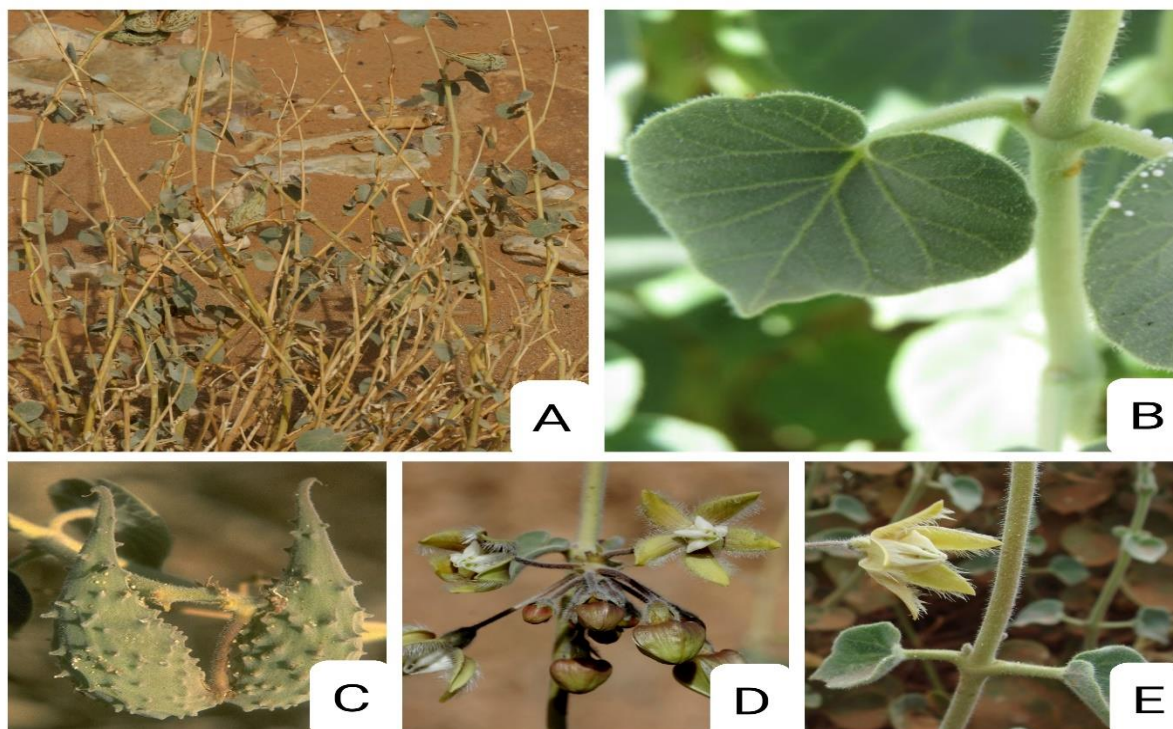
- **Règne** : Plantes
- **Embranchement** : Spermaphytes
- **Sous-embranchement** : Angiospermes
- **Classe** : Magnoliopsidae
- **Sous-classe** : Rosidae
- **Ordre** : Gentianales
- **Famille** : Asclepiadaceae
- **Genre** : *Pergularia*
- **Espèce** : *Pergularia tomentosa* L.

### 1.4.3 Description botanique

Cette plante peut atteindre 1 m, l'arbuste vivace environ 50- 60 cm ainsi que des tiges ligneuses plus anciennes autour desquelles les plus jeunes s'enroulent. Des poils verts dressés recouvrent les tiges et les feuilles sont opposées, entières, 1-2 cm. long, en forme de cœur, avec de longues tiges également couvertes de poils verts. De petites fleurs à 5 pétales libres jaune-blanchâtre sont également présentes. Les fruits sont des follicules oblongs, globuleux, couverts de soies charnues (**Figure 4**). Un liquide collant blanc des feuilles et des fruits est sécrété au

## Chapitre I : Matériel et méthodes

moindre contact avec la plante. Il fleurit au printemps dans le nord du Sahara et à tout moment de l'année dans le centre du Sahara .(Al-Mekhlafi et Masoud, 2017)



**Figure 4** les différentes parties de la plantes *Pergularia tomentosa* ; A: Plante, B:Feuille, C: Fruit, D: Fleurs, *Pergularia tomentosa* - Biodiversité végétale du sud-ouest marocain (teline.fr)

### 1.4.4 Propriétés générales de *P tomentosa* :

*Pergularia tomentosa* est utilisé pour la bronchite et la tuberculose et pour les morsures de serpent. Les feuilles, le latex et les racines sont utilisés à des fins médicinales. Ces printemps et sont préparées sous forme d'infusion, décoction, poudre et mélangées à d'autres plantes et prises par voie orale ou utilisées en usage externe.(Al-Mekhlafi et Masoud, 2017)

## 2. Matériel biologique

Les bactéries sont des procaryotes avec des tailles allant de 0,1 et 10  $\mu\text{m}$ . Elles possèdent tout le matériel cellulaire nécessaire à leur multiplication. Certaines d'entre elles peuvent être rencontrées sous forme de spores : ce phénomène de sporulation ce produit en réponse à un environnement qui leur est peu favorable. Le pouvoir pathogène d'une bactérie est soit spécifique (il engendre des pathologies spécifiques), soit opportuniste (il ne s'exprime que sur des individus affaiblis) (Mezaache, 2012)



# Chapitre I : Matériel et méthodes

## 2.1 *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi*

### 2.1.1 Caractères généraux des *Pseudomonas*

Le genre *Pseudomonas* est un grand groupe bactérien particulièrement important qui appartient à la sous-classe  $\gamma$  des protéobactéries et comprend plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires (Bossis et al., 2000 ; Palleroni et Moore, 2004). C'est une bactérie mobile qui contient de 1 à 3 flagelles polaires, c'est des bactéries à gram négatif dont leur paroi ne retient pas la coloration, c'est une cellule de forme bâtonnet droit ou bacille (figure 3) de taille d'environ de 0.7-3 $\mu$ m de longueurs et 0.7-1 $\mu$ m de épaisseur. Les *Pseudomonas* sont des aérobies stricts, chimio hétérophes ne possèdent pas de cytochrome oxydase. La majorité des *Pseudomonas* pathovars cultivés sur milieu King B (King et al., 1954) Les *Pseudomonas*, comme d'autres bactéries, sont caractérisées par la présence de plasmides de poids moléculaires variable, qui sont conjugués et peuvent porter des gènes de résistance (Gonzales et al., 1984). *Pseudomonas savastanoi* est l'agent causal de la tuberculose de l'olivier, observé la première fois par Savastanoi en 1870 puis au début de vingtième siècle par Smith et Rorer 1904 (Guido, 2005).

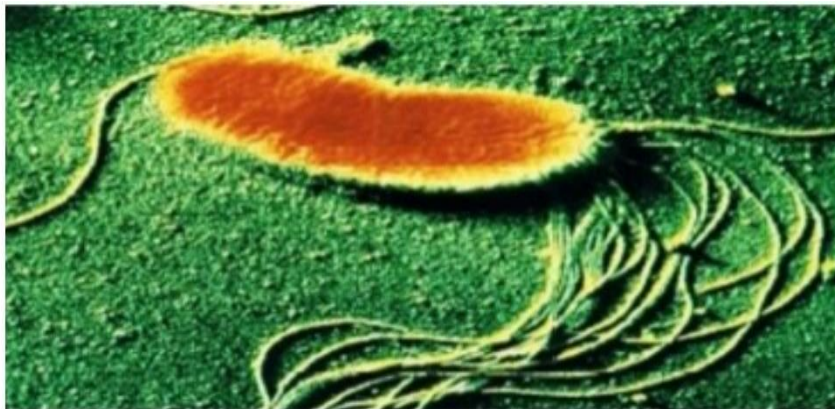


Figure 5 Bactérie *Pseudomonas savastanoi* (Serdoun, 2013)

### 2.1.2 Classification de *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi*

Le genre *Pseudomonas* est classé dans la famille des *pseudomonadaceae* (Young et al., 1996)

- Règne : Bacteria
- Division : Proteobacteria
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre : Pseudomonadales
- Genre : *Pseudomonas*
- Espèce : *Pseudomonas savastanoi*

### 2.1.3 Le cycle de vie de *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi*

Passer par deux phases ;

#### a) Phase épiphyte (Quesada et al., 2012)

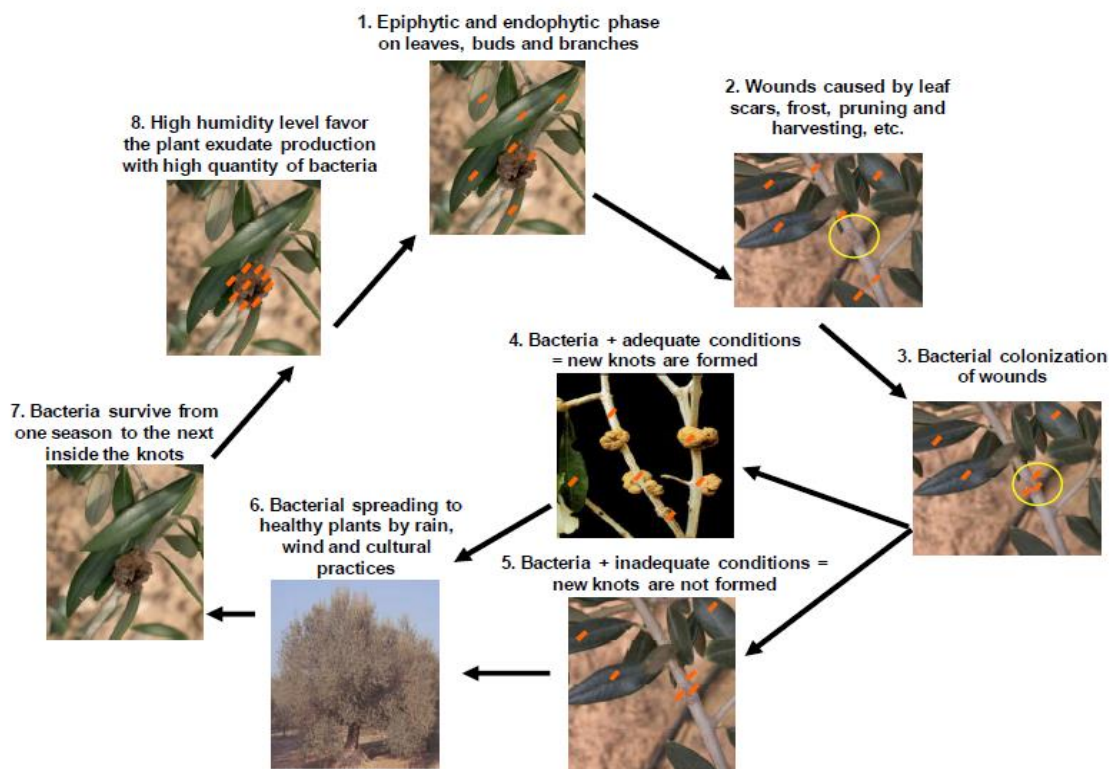
*Pseudomonas savastanoi* PV *savastanoi* peut être trouvé dans les tissus tumoraux ainsi que sur les rameaux, les feuilles et les fruits. Le terme « épiphyte » est dérivé des mots grecs -épi (sur) et phyte (plante), qui signifie « sur la plante ». Les populations d'agents pathogènes sont plus élevées sur les rameaux que sur les feuilles parce que les agents pathogènes se développent sur les surfaces rugueuses (Ercolani, 1993).

Les populations de Psv ont été rétablies à partir de pousses asymptomatiques avant l'apparition des symptômes, suggérant que ces bactéries épiphytes étaient les sources potentielle d'inoculum pour l'infection de plantes saines (Quesada et al., 2010). La plage de température dans laquelle *Pseudomonas Savastanoi*.PV. *Savastanoi* peut causer la maladie est entre 5 ° et 37 ° C, permettant aux bactéries de causer des infections tout l'année. Cependant, la meilleure température pour le développement de la maladie est d'environ 22 ° - 25 °C, et les périodes subséquentes présentent un risque élevé d'infection, en particulier au printemps (Protta, 1995). *Pseudomonas savastanoi* PV. *Savastanoi* peut infecter les oliviers à tout moment de l'année, mais la croissance tumorale ne se produit que lorsque les circonstances sont appropriées (Kado, 1992).

#### b) Phase endophyte (Quesada et al., 2012)

Les bactéries endophytes sont définies comme des bactéries vivant dans les tissus végétaux sans faire un préjudice matériel (Kado, 1992). Selon certains chercheurs, le Psv peut également avoir une phase endophytique dans laquelle il se propage à travers les espaces intercellulaires, ainsi que dans les zones infectieuses entourant le site d'infection initiale. (Penyalver et al., 2006 ; Smith ,1920 ; Wilson et al, 1964 et Wilson et al., 1979). Les plaies de taille sont sensibles à l'infection pendant au moins 14 jours. Cependant, les cicatrices foliaires sont les voies d'entrée es plus courantes pour les agents pathogènes, et elles peuvent rester sensibles à l'infection jusqu'à 7 jours après la chute des feuilles (abscission). (Boulssen et Bouraoui, 2016).

# Chapitre I : Matériel et méthodes



**Figure 6** Cycle pathologique du nœud d'olive causé par *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (Bertolini, 2003).

## 2.1.4 La maladie causée par *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*

### ➤ La Tuberculose de l'olivier

La tuberculose de l'olivier est une bactériose causée par *Pseudomonas savastanoi*, qui infecte le système circulatoire de la sève pendant les périodes de températures élevées et de fortes pluies, à la suite d'un incendie de forêt causé par la grêle, le vent, la chute des feuilles, la taille et le greffage (Campos et al., 2009). La maladie est caractérisée par des excroissances de bois qui ressemblent à des verrues ou à des tumeurs parenchymateuses sur le bois. En cas d'attaque sévère, les rameaux perdent leur feuillage et se désintègrent, ce qui réduit le rendement et la qualité de l'huile d'olive (Benyoub, 2010). À Rogne, la tuberculose est également connue sous le nom de Chancre bactérien. La tuberculosis est le nom donné à la maladie en Espagne, Olive Knot disease en Angleterre, Rogna del olivo en Italie, Tuberculose da oliveira au Portugal et Maradth essoul en arabe (Tombesi et al., 2007).



**Figure 7** : Le chancre bactérien de l'olivier (Serdoun, 2013)

### 2.1.5 Les symptômes

Le développement de tumeurs, ou « galles », aux sites d'infection est un symptôme caractéristique. Galles se forment le plus souvent au niveau des sites de développement du bourgeonnement, à la suite d'une infection bactérienne des cicatrices foliaires ; cependant, ils peuvent également se former à d'autres sources d'entrée d'agents pathogènes, telles que des plaies de taille ou des plaies causées par le gel ou le grêle. L'infection des plaies fraîches par *Pseudomonas savastanoi* commence par une petite cavité sur les sites d'infection résultant de la prolifération des tissus végétaux. *Pseudomonas savastanoi* Pv. *Savastanoi* provoque une croissance du tissu hyperplasique chez l'hôte, qui se manifeste par des tumeurs d'abord sur le tronc, puis sur les rameaux (**Figure 8**), et occasionnellement sur les feuilles et les fruits (**Surico, 1986 ; Lavermicocca et al., 2002 ; Young, 2004**). Les bactéries peuvent se propager sur de longues distances en raison de l'introduction et la plantation de matériel infecté, ou sur de courtes distances transportés par les éclaboussures de pluie, aérosols chablis, insectes et pratiques culturelles (**Horne et al., 1912**). Lorsque les bactéries infectent un olivier à l'automne, les tumeurs apparaissent plusieurs mois plus tard, mais si l'infection survient au printemps, le temps nécessaire à la croissance tumorale peut être aussi court que deux semaines (**Wilson, 1935**).



**Figure 8** Tumeurs dues au *Pseudomonas savastanoi* sur l'olivier ; A : Tumeurs sur les rameaux, B : Tumeurs sur feuille, C : Tumeurs sur tronc (Boulsse et Bouraoui 2016)

### 2.2. *Escherichia Coli*

#### 2.2.1 Caractères généraux d'*Escherichia Coli*

La famille des entérobactéries est connue pour être un hôte commun des tubes digestifs humains et animaux, d'où son nom (Enteros = Intestin). Elle représente un ensemble de bactéries plutôt homogènes. Cellules bacillaires de petite taille, Gram négatif, mobiles via flagelles ou immobiles, asporulées, aéroanaérobies facultatives, produisent des acides à partir du glucose, catalase positive, réduisent les nitrates en nitrites (Leclerc et al., 1989). *Escherichia Coli* bacille à Gram négatif appartenant à la classe des protéobactéries mesurant environ  $0.5\mu\text{m}$  de diamètre et  $1.0$  à  $3.3\mu\text{m}$  de long, mésophile où la température de croissance optimale est  $37^{\circ}\text{C}$  (Bergey, 2014). Cette bactérie est sporulée et a une structure flagellaire mobile (figure 12). Il existe au moins 180 sources de carbone qu'*E. coli* peut utiliser (Sabarly et al., 2011 ; Orth et coll., 2011). Elle se développe préférentiellement en utilisant l'oxygène pour réaliser la respiration, mais elle est capable de réaliser la fermentation pour produire son énergie en l'absence d'oxygène. De ce fait, elle est qualifiée d'aérobie facultatif. *E. coli* constitue une espèce bactérienne sous-dominante du microbiote aérobie-anaérobie facultatif intestinale de l'Homme et des animaux. Cette bactérie représente 80 à 90 % des coliformes thermotolérants ou coliformes fécaux (capables de fermenter le lactose à  $44,5^{\circ}\text{C}$ ) qui constituent un sous-groupe des coliformes totaux. Enfin, *E. coli* est une bactérie versatile qui comprend des commensaux gastro-intestinaux, des agents pathogènes et des bactéries adaptées à l'environnement (Tenailon, 2010).



**Figure 9** Aspect morphologique de l'*Escherichia Coli*. (Natural Resources Research Institute, University of Minnesota; USA).

### 2.2.2 Classification

L'espèce *Escherichia coli* fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle a été étudiée sur les niveaux phénotypique, biochimique et physiologique. Aujourd'hui, les approches basées sur l'utilisation de l'ADN permettent des études génétiques de population et l'identification de différentes souches d'*E. coli*. (Stewart et al., 2015).

- **Domaine** : Bacteria
- **Embranchement** : Proteobacteria
- **Classe** : Gammaproteobacteria
- **Ordre** : Entérobactérie
- **Famille** : Enterobactériaceae
- **Genre** : *Escherichia*
- **Espèce** : *Escherichia coli* (Stewart et al., 2015).

### 2.2.3 Cycle de vie d' *Escherichia coli*

#### a) Habitat primaire

*E. coli* appartient à la microflore commensale de l'homme et de nombreux animaux. C'est une bactérie colonisatrice du tube digestif des animaux à sang chaud (carnivores, omnivores, herbivores et oiseaux) mais également des reptiles (Gordon et Cowling, 2003). Le tractus digestif constitue son habitat primaire. Cette bactérie se trouve principalement dans le côlon et le caecum, avec des concentrations d'environ  $10^6$  UFC /g de contenu gastro-intestinal (Ducluzeau et Raibaud, 1985). *E. coli* se niche plus particulièrement dans le mucus recouvrant les cellules épithéliales de la paroi du tube digestif qui constitue une niche écologique propice à son développement de par ses conditions de température, d'humidité et de disponibilité en

## Chapitre I : Matériel et méthodes

nutriment. Avec une concentration de  $7,9 \times 10^5$  log<sub>10</sub> UFC/g de matières fécales chez l'homme, de  $6,9 \times 10^5$  log<sub>10</sub> UFC/g de matières fécales chez le bétail (volailles, porc, mouton, vache) et de  $6,2 \times 10^8$  log<sub>10</sub> UFC/g de matières fécales chez les animaux sauvages (sanglier, cerf, lapin), *E. coli* représente la flore intestinale aérobie-anaérobie bactérienne (Smati et al., 2015).

### b) Habitat secondaire

*E. coli* est rejeté dans l'environnement *via* les fèces à une concentration d'environ 108 UFC/g de fèces (Smati et coll., 2015). On le trouve dans les eaux environnementales par des effluents tels que l'eau usée, les lisiers ou les fumiers du bétail, ou les découragements du bétail ou par les déjections des animaux d'élevage ou des animaux sauvages. L'habitat secondaire d'*E. coli* est défini comme tout ce qui se trouve à l'extérieur de l'hôte dans cette étude. Il est plutôt défavorable à leur survie contrairement à leur environnement primaire. La bactérie *E. coli* est soumise à une variété de pressions dans l'environnement, à la fois biologiques (prédation et compétition florale) et abiotiques (lumière, température, oligotrophie et salinité). *E. coli* perd sa capacité à se développer plus ou moins rapidement dans un milieu de culture et ne peut donc pas être détecté à l'aide des méthodes classiques d'identification d'*E. coli*. Elle progresse vers un état viable mais non cultivable (VNC) (Darcan et al., 2009). Cependant, elle peut conserver une certaine activité métabolique (Pommepuy et coll., 1996). Dans des circonstances favorables, la bactérie peut retrouver sa capacité à se multiplier (Li et al., 2014). La population d'*E. coli* dans l'habitat secondaire est reconstituée par des bactéries de l'habitat primaire. Un sous-ensemble d'*E. coli* peut coloniser et survivre à l'extérieur de son hôte (Walk et coll., 2007). Cette colonisatrice de la population environnementale d'*E. coli* est classée comme population naturalisée (Ishii et al., 2006) ou de coliformes du microbiote environnemental (Walk et al., 2007)

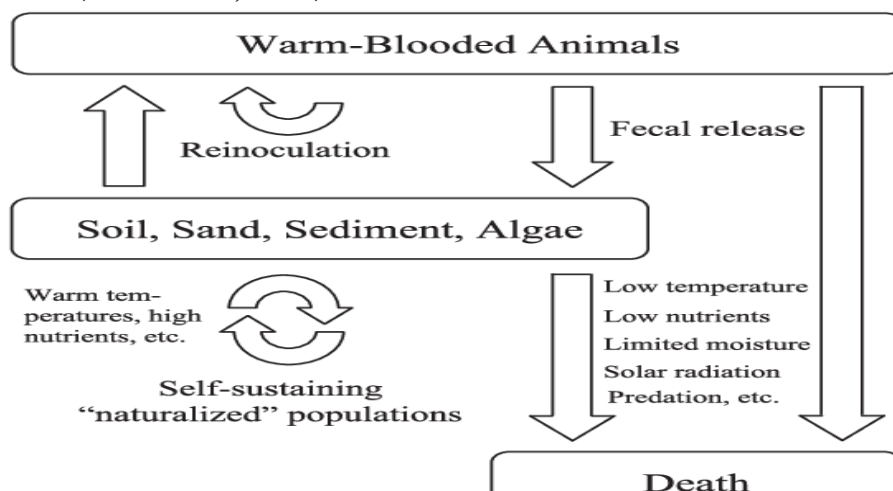


Figure 10 Cycle de vie d' *Escherichia coli* (Michaut, 2019)

# Chapitre I : Matériel et méthodes

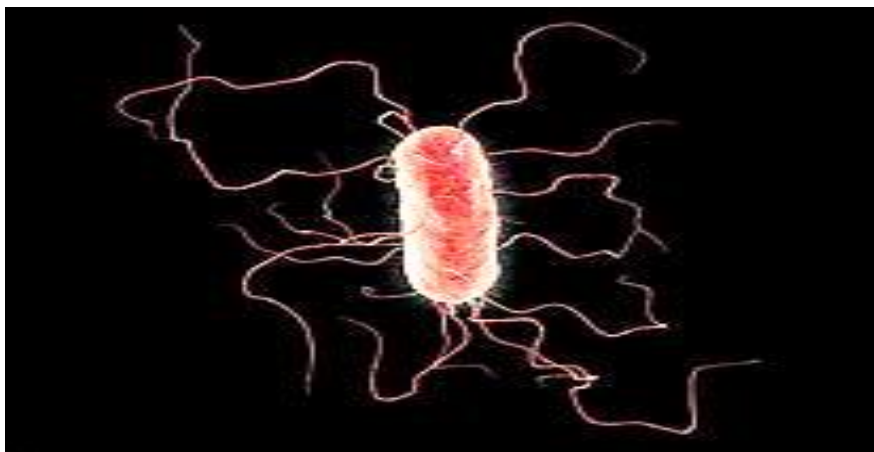
## 2.3. *Proteus vulgaris*

### 2.3.1. Caractères généraux de *Proteus vulgaris*

Les bactéries du genre *Proteus* sont des bacilles (en forme de bâtonnets) Gram négatif aérobies mobiles qui font partie de la famille des entérobactéries (Abbott, 2007 ; Coker et al., 2000). Les entérobactéries mesurent habituellement de 0,3 à 1,0 µm de large par 0,6 à 6,0 µm de long (Abbott, 2007). Caractérisés par leur grande mobilité, et sont vraisemblablement d'origine tellurique. Certaines espèces d'intérêt médical tels *Protéus mirabilis*, *Protéus vulgaris*, *Morganella morganii* (ancien *Proteus morganii*), peuvent induire des infections des voies urinaires (dans 60% des cas d'infections urinaires), des infections cutanées (surinfections des plaies chirurgicales, brûlures...), des infections des voies respiratoires (otites chroniques suppurées, sinusites), et même des septicémies (Berche et al., 1989).

### 2.3.2. Classification

- **Règne** Bacteria
- **Embranchement** Proteobacteria
- **Classe** Gamma Proteobacteria
- **Ordre** Enterobacteriales
- **Famille** Enterobacteriaceae
- **Genre** *Proteus*
- **Espèce** *Proteus vulgaris* (Hauser, 1885)



**Figure 11** Aspect morphologique de *Proteus vulgaris*



# Chapitre I : Matériel et méthodes

## 3. Méthodologie

Ce présent travail a été entrepris entre le laboratoire de la station régionale de la protection des végétaux et le laboratoire de département des sciences agronomiques à l'université Mohamed Khider de Biskra afin d'évaluer l'activités antibactérienne des différents extraits de quatre espèces des plantes prélevées de la région de Biskra : la nigelle « *Nigella sativa L* », Pergularia « *Pergularia tomentosa* », Henné « *Lawsonia ennermis L* » et Coloquinte « *Citrullus colocynthis* » vis-à-vis de trois souches bactériennes : *Pseudomonas savastanoi* , *Esherichia Coli* et *Proteus vulgaris*..L'activité antifongique des extraits a été réalisée par la méthode de diffusion sur l'agar (méthode de disque).

### 3.1. Préparation des plantes

Le matériel végétal sujet d'extraction (mise à part la nigelle) utilisé a été récolté à travers la commune de Loutaya.

#### 3.1.1. Séchage

Les plantes sont nettoyées des impuretés, et laisser sécher à l'abri de la lumière pendant dix jours (**Figure 12**).

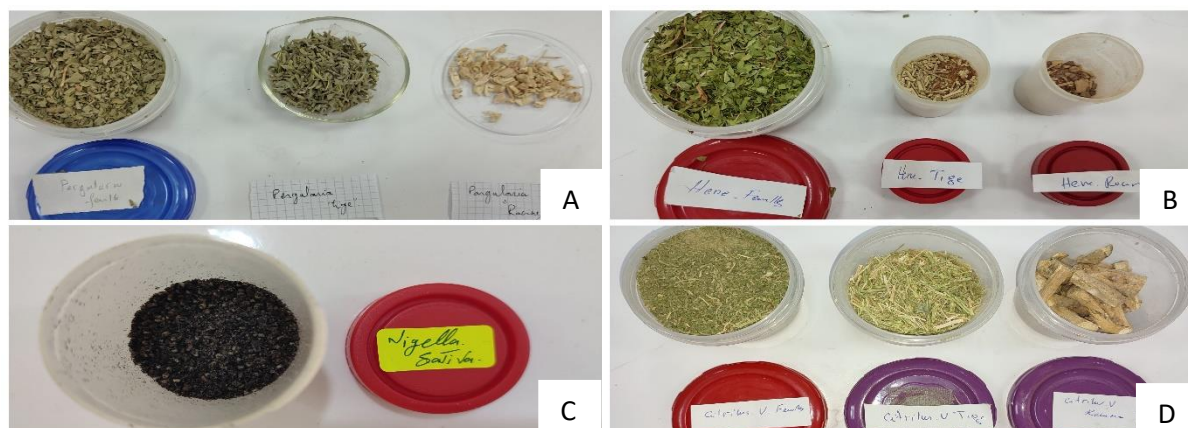


**Figure 12** Séchage des plantes (Original)

#### 3.1.2. Broyag

Une fois séchées, les quatre plantes subissent un broyage à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et homogène. Les broyats sont stockés dans des boîtes et conservés à l'abri de la lumière et de l'humidité. Chaque boîte porte le nom de l'espèce, la partie utilisée (feuille, tige et racine) (**Figure 13**).

## Chapitre I : Matériel et méthodes



**Figure 13** Le broyat des plantes A : *P.tomentosa*, B : *L.inermis*, C : *N.sativa*, D : *C.colonyntis* (Original)

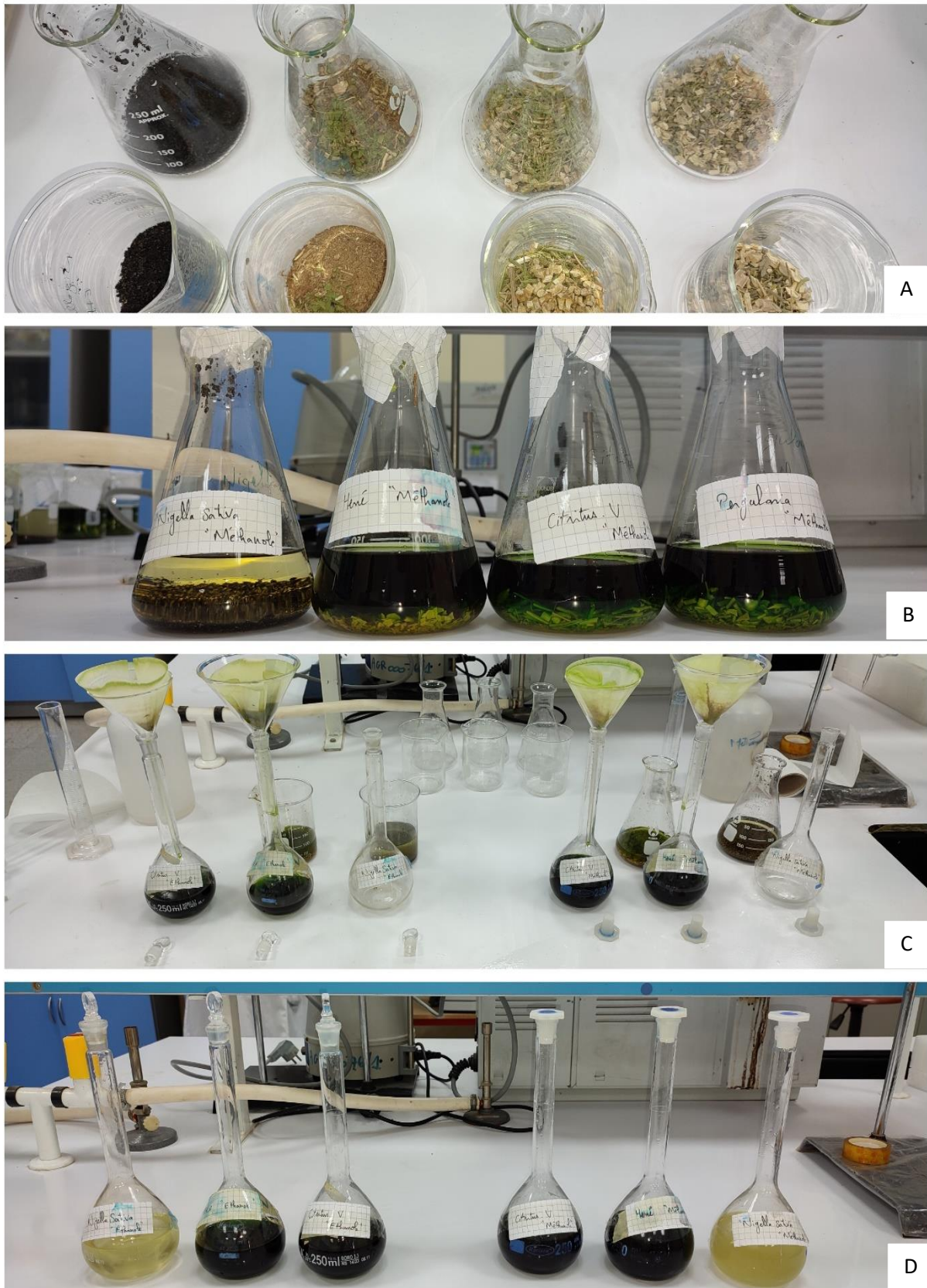
### 3.2. Extraction

L'extraction est le processus de séparation des composants actifs des composants inactifs ou inertes dans les tissus végétaux ou animaux à l'aide de solvants sélectifs, tels que l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits qui en résultent sont des liquides, des semi-solides ou des poudres quelque peu impurs, destinés uniquement à un usage interne ou externe. Il s'agit de préparations bien connues comme les tisanes et les huiles médicinales (Handa, 2008).

#### 3.2.1 Préparation des extraits méthanoliques et éthanoliques

Les extraits méthanoliques et éthanoliques sont préparés selon la méthode décrite par Saeed Mohammadi et Naghibi (2010). 10 g de la poudre végétale de chaque plante est macérée dans 150 ml de solvant 95% pendant 48 h. après macération, le solvant est filtré à travers un papier filtre Wattman (n° 1) (Figure 14). Les filtrats sont ensuite évaporés sous vide par un évaporateur rotatif à 40°C. Les extraits bruts obtenus sont conservés en verre hermétiquement fermé au froid jusqu'à leur utilisation (Figure 15).

# Chapitre I : Matériel et méthodes



**Figure 14** les étapes de préparation des extraits éthanoliques et méthanoliques (Original)

# Chapitre I : Matériel et méthodes

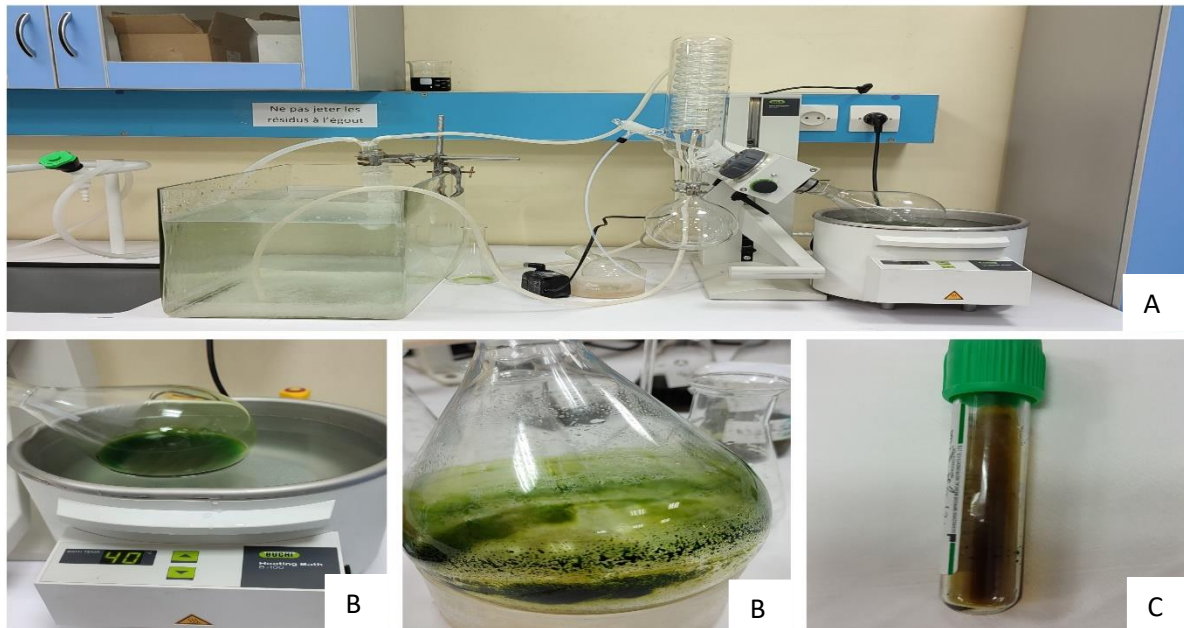


Figure 15 Evaporation ; Rotavap (Original)

## 3.2.2. Préparation des extraits aqueux

Les extraits aqueux sont préparés selon la méthode décrite par (Lee *et al.*, 2007) sans utilisation d'eau bouillante.

10g de la poudre végétal a été macéré dans 150ml d'eau distillé avec agitation pendant 72h à température ambiante. Ensuite les extraits ont été filtrés par un papier Wattman (n°1). Les filtrats ont subi une centrifugation à 300 tr/min pendant deux fois 10 min pour la séparation des impuretés. Les extraits obtenus sont conservés en verre hermétiquement fermé au froid jusqu'à l'utilisation (Figure 16).

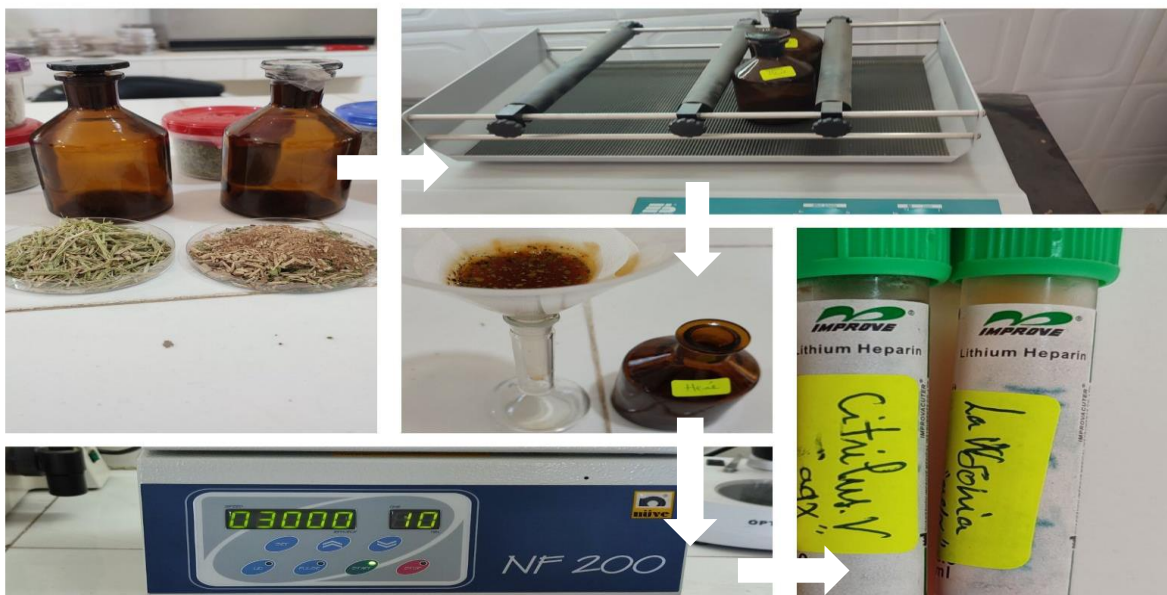


Figure 16 Préparation des extraits aqueux (Original)

## Chapitre I : Matériel et méthodes

### 3.3. Etude de l'activité antibactérienne

L'étude de cette activité consiste à tester les effets antibactériens des extraits et les caractériser par la détermination de leurs concentrations minimales inhibitrices (CMI). Pour cela, nous avons utilisé les méthodes de diffusion sur disque et de dilution en milieu solide.

L'évaluation de l'activité bactérienne des extraits bruts méthanoliques, éthanolique et aqueux de *Nigella sativa*, *Lawsonia inermis*, *Citrillus colocynthis* et *Pergularia tomentosa* a été réalisé vis-à-vis de trois souches bactériennes : *Pseudomonas savastanoi*, *Esherichia Coli* et *Proteus vulgaris*. L'activité anti bactérienne des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux est réalisée à partir plusieurs étapes :

#### a) Milieu de culture

Le mélange des composants est chauffé en agitant, porté à ébullition pendant 1 min, introduite dans un flacon de 1 litres puis addition de 1000 ml d'eau distillée et autoclavé 20 min à 120°C. Le milieu est coulée dans des boîtes de Pétri de façon à obtenir une épaisseur de 4 mm (Figure 17).

Tableau 1 Composants du milieu LPGA

Composants du milieu LPGA (g/l)	
Extrait de levure	5g
Peptone	5g
Gélose ``Agar bactériologique``	15g
Glucose	10g
Eau distillé	1l

Tableau 2 Composants du gélose nutritive

Composition gélose nutritive	
Ingrédients	gramme/litre
Tryptone	5,0g
Extrait de viande	1,0g
Extrait de levure	2,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g

# Chapitre I : Matériel et méthodes



Figure 17 Préparation et coulage du milieu (Original)

## b) Souches bactérienne testés

Les tests antibactériens ont été effectués sur des germes couramment responsables de diverses pathologies. Les microorganismes étudiés sont rapportées dans le tableau suivant :

Tableau 3 Les microorganisme testées

Microorganismes	Famille	Gram	Origines
<i>Pseudomonas savastanoi</i>	Pseudomonaceae	-	INPV
<i>Escherichia coli</i>	Enterobacteriaceae	-	Laboratoire de C.Q.C
<i>Proteus vulgaris</i>	Enterobacteriaceae	-	Laboratoire de C.Q.C

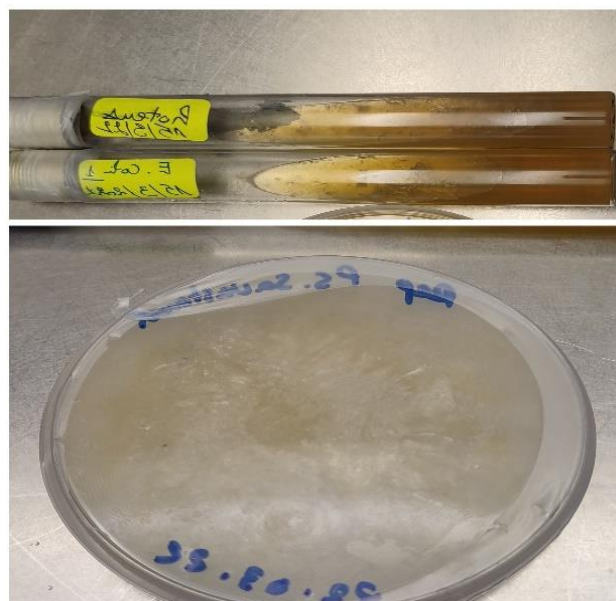


Figure 18 les trois espèces bactériennes testées ( Originale)

# Chapitre I : Matériel et méthodes

## c) Ensemencement et incubation des souches

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries dans un milieu de gélose nutritive, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Les colonies isolées ont servi à préparer l'inoculum (Moroh *et al.*, 2008) (Figure 19).

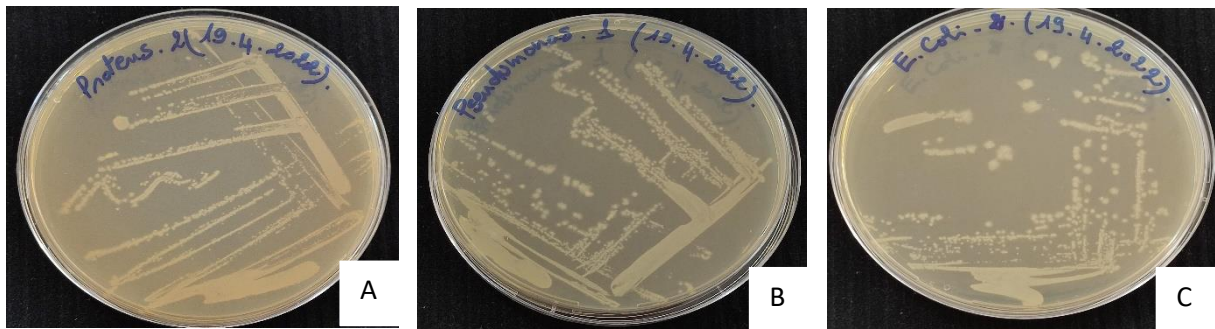


Figure 19 des cultures jeunes, A : *Proteus vulgaris*, B: *Pseudomonas savastanoi*, C : *Escherichia coli* (Original)

## d) Préparation de la suspension bactérienne (Inoculum bactérienne)

Les colonies bien isolées sont prélevées et émulsionnées dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 % à l'aide d'un vortex ensuite une dilution est réalisée pour la standardisation de la suspension bactérienne (Figure 20).

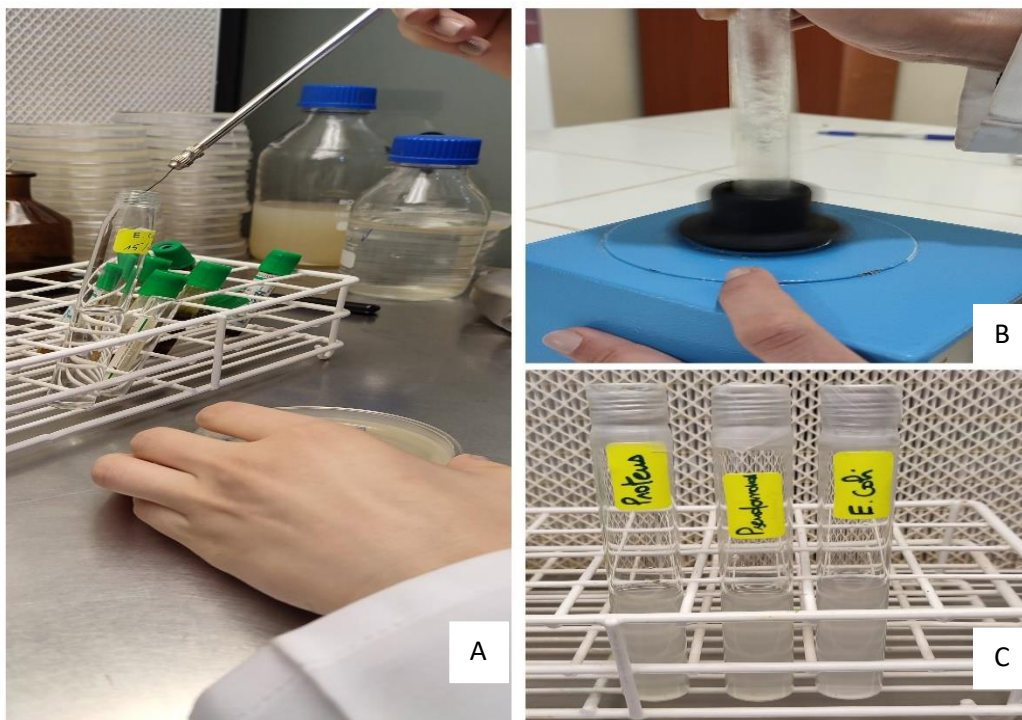


Figure 20 Préparation de la suspension bactérienne (Original)

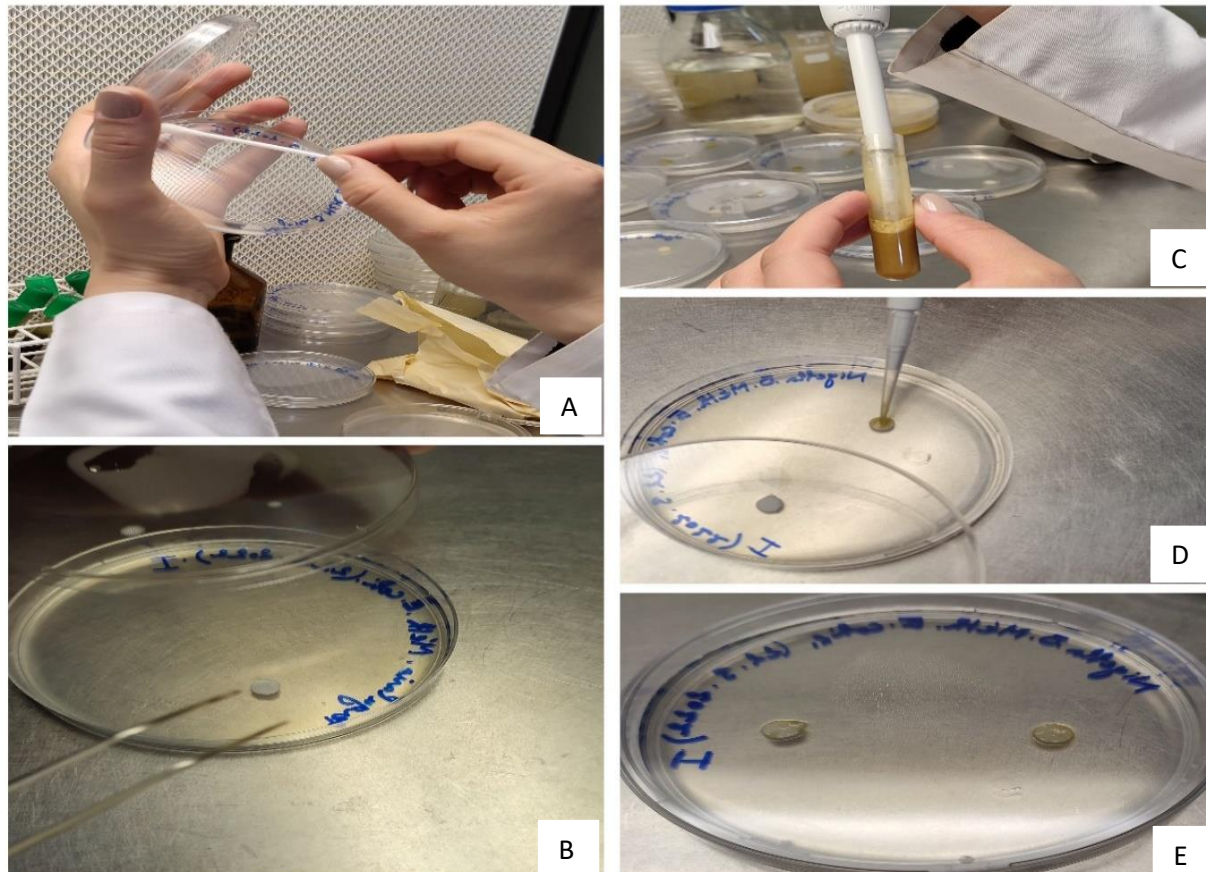
## e) Préparation des disques

Des disques de papier wattman de 6 mm de diamètre sont mis dans un tube à essai bien fermer et subissent une stérilisation de long cycle (30 min à 121°C) dans l'autoclave puis conserver jusqu'à l'utilisation.

### 3.3.1. Effet antibiotique des extraits bruts

#### ➤ Methode de diffusion sur disque

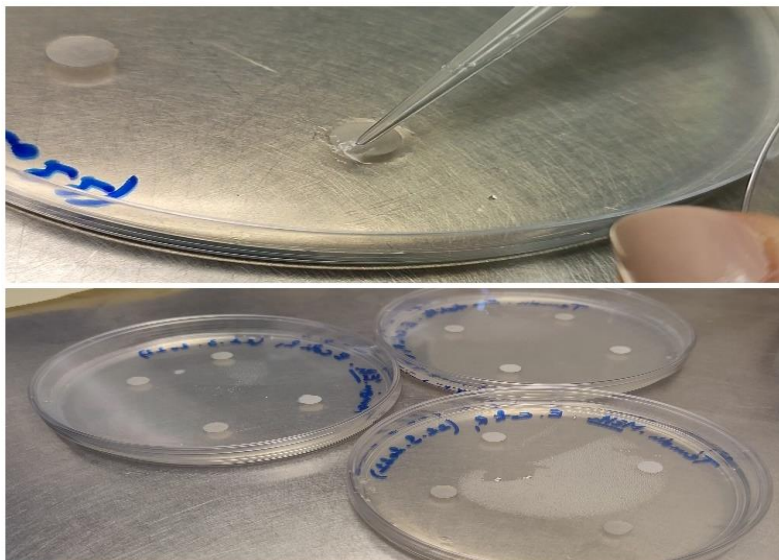
Pour étudier l'activité antibactérienne des extraits aqueux bruts obtenus, on a choisi la méthode de diffusion sur disques, appelée aussi méthode de Vincent ou technique de l'aromatogramme mise au point par **Schroeder et Messing en 1949** et cité par (**Rhayour, 2002**). Dans cette méthode, on a utilisé des disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre, imprégnés par un volume connu de l'extrait brut à évaluer et déposés à la surface d'un milieu gélosé (Agar de Muller Hinton « AMH »), préalablement ensemencé par écouvillonnage en surface par la suspension bactérienne. Après incubation pendant 24 h à 37° C, la lecture des résultats a été faite par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition en mm (**Ponce et al., 2003**) (**Figure 21**).



**Figure 21** Réalisation de la méthode de diffusion sur disque (Original)



## Chapitre I : Matériel et méthodes



**Figure 22** Préparation des témoins de contrôle négatif (Original)

- (Le choix de la dose : a été basée sur la littérature qui mentionne l'utilisation des doses entre 0.25 µl à 60 µl. Nous avons utilisé la dose de 5 µl).
- Les disques des contrôles négatifs sont imprégnés d'eau distillée, éthanol et méthanol (**Figure 22**).

Cette méthode présente l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de pouvoir s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (**Fauchère et Avril, 2002**)

### **3.3.2. Combinaison des extraits « *Lawsonia inermis* + *Nigella sativa* » et « *Lawsonia inermis* + *Citrillus colonynthis* »**

C'est un test réalisé pour la détermination de l'activité antibactérienne additive de la combinaison des extraits le plus efficace observés pendant l'évaluation initiale. Les procédures suivies dans cette étude sont les mêmes que celles utilisées pour déterminer l'activité antimicrobienne de différents extraits préparés.

### **3.3.3. Détermination de la concentration minimal inhibitrice CMI et bactéricide CMB**

#### **3.3.3.1. La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)**

L'OMS définit la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) comme la plus faible concentration d'un agent antimicrobien capable de provoquer une inhibition complète de la croissance d'une bactérie donnée, appréciable à l'œil nu, après une période d'incubation

## Chapitre I : Matériel et méthodes

donnée. La concentration minimale inhibitrice divise les bactéries en trois catégories : sensible, intermédiaire et résistante. Cette valeur peut être déterminée par un certain nombre de méthodes d'essai standard ; les plus couramment utilisées sont les méthodes de dilution et de diffusion sur gélose (Mann et Markham, 1998 ; Mendoza-Yepes *et al.*, 1997).

### 3.3.3.2. La concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMB est la concentration de la substance antibactérienne permettant d'obtenir, après 18 à 24h d'incubation à 37°C, 0,1 % de germes, c'est-à-dire une bactérie pour 1000 de l'inoculum initial (Rodríguez-Vaquero *et al.*, 2010). La concentration minimale bactéricide (CMB), est la concentration de l'antimicrobien qui laisse au plus 0.01% de germes survivants. Pour sa détermination, la gélose nutritive coulée dans des boîtes de pétri estensemencée en stries par les contenus des tubes ayant une concentration  $\geq$  CMI dans la série de dilution précédente. La CMB est déterminée après une incubation de 24 heures à 37°C (Biyiti *et al.*, 2004).

Des concentrations (2, 5, 10, 20  $\mu$ l/ml) d'extraits testés sont diluées dans un volume connu de gélose de MH en surfusion 45° C. Après solidification, une suspension bactérienne est déposée à la surface du milieu gélifié. L'extrait ou le composé est considéré inhibiteur lorsqu'il y a absence de colonies visibles à l'œil nu. La lecture des résultats se fait après 24h d'incubation à 37°C par observation ou inhibition de la croissance du microorganisme testé par rapport à la croissance sur une boîte témoin sans extrait.

### 3.3.4. Test de sensibilité des bactéries à l'antibiotique de référence

Ce test a été réalisé pour l'évaluation de l'efficacité antibiotique des extraits par rapport à un antibiotique de référence (chloramphénicol). Les étapes réalisées pour ce test sont les mêmes étapes réalisées dans l'évaluation de l'activité antimicrobienne des divers extraits. Les disques d'antibiotique sont déposés sur milieu Muller-Hinton préalablementensemencé par une bactérie par écouvillonnage, l'antibiotique utilisée est le chloramphénicol (30  $\mu$ g). Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h. Après l'incubation les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés en mm.

### 3.3.5. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide de SPSS pour découvrir des différences significatives dans les effets antibactériens. Les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification sont faites par le test ANOVA un seul facteur suivi du test de Tukey. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0.05 ( $p < 0.05$ ).

# **Chapitre II**

## **Résultats et Discussion**

## Chapitre II : Résultats et Discussion

### Chapitre II : Résultats et Discussion

#### 1. Résultats

##### 1.1. Etude de l'activité antibactérienne

###### 1.1.1. Effet antibiotique des extraits bruts

L'activité antibactérienne *in vitro* de notre extraits des plantes «*Lawsonia inermis*, *Nigella sativa*, *Citrillus colonynthis* et *Pergularia tomentosa*» a été réalisé pour évaluer la capacité à inhiber la croissance des différentes espèces bactériennes par la méthode de diffusion sur disques sur un milieu gélosé, qui est une technique qualitative basée sur la mesure des diamètres d'inhibition en mm.

###### 1.1.1.1. Effet sur *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi*

###### a) Zone d'inhibition

Après une incubation de 24 h, les résultats sont enregistrés par la mesure de la zone d'inhibition exercée par les extraits éthanoliques, méthanoliques et aqueux des déférant plantes vis-à-vis *P.savastanoi* (Tableau4) (Tableau 5) (Annexe 1).

**Tableau 4** Les diamètres d'inhibition des extraites contre *P.savastanoi*





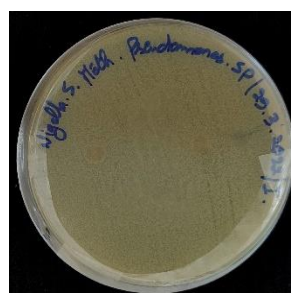
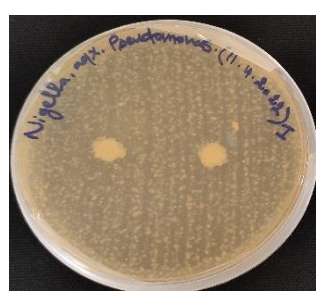
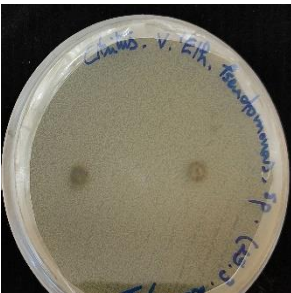





	Extrait éthanolique	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
<i>Lawsonia inermis</i>	15	15	6.5
<i>Nigella sativa</i>	7	6	6
<i>Citrillus colonynthis</i>	6	9.25	6.5
<i>Pergularia tomentosa</i>	8	7	8.25

**Tableau 5** Les diamètres d'inhibition des témoins « *P.savastanoi* »

	Ethanol	Méthanol	Eau distillé
Témoins	13	9.5	6



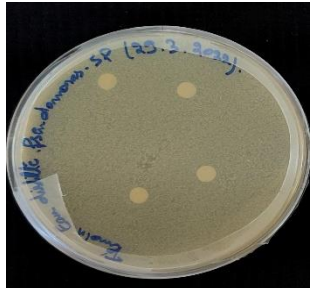
## Chapitre II : Résultats et Discussion

**Tableau 6** Résultat de l'effet des extraits éthanolique méthanolique et aqueux sur *P. savastanoi* (Originale)

Plantes	Type d'extrait		
	Ethanolique	Méthanolique	Aqueux
<i>Lawsinia inermis</i>			
<i>Nigella sativa</i>			
<i>Citrillus colonynthis</i>			
<i>Pergularia tomentosa</i>			

## Chapitre II : Résultats et Discussion

**Tableau 7** Résultats des contrôles négatif (Original)

	Ethanol	Méthanol	Aqueux
Témoin			

Les résultats révèlent que l'extrait éthanolique et méthanolique de *Lawsonia inermis* avec une zone d'inhibition de 15 mm exercent un effet antibactérien remarquable sur *Pseudomonas savastanoi* (**Tableau 6**) (**Tableau 7**). Cet effet est plus important que celui des témoins ; éthanol, méthanol et eau distillée. Cela montre que l'extrait éthanolique et méthanolique de *Lawsonia inermis* a eu une bonne activité inhibitrice avec une efficacité plus forte vis-à-vis de *pseudomonas savastanoi*.

Cependant, une faible efficacité a été observée avec les extraits aqueux des 4 plantes testées contre PSV avec des diamètres d'inhibition inférieure à 10 mm.

Par ailleurs, les extraits des plantes : *Nigella sativa*, *Citrillus colonynthis* et *Pergularia tomentosa*, quel que soit éthanolique, méthanolique et aqueux ; ne révèlent pas une activité inhibitrice importante qui varie entre 0 à 10 mm. (**Annex 6**)

### b) Analyses statistiques

Les résultats de test de diffusion en milieu gélose effectués *in vitro* sont exprimés par le test ANOVA pour la détermination des taux de signification suivi du test Tukey pour la comparaison multiples des moyennes.

#### ➤ Analyse de la variance par le test ANOVA

## Chapitre II : Résultats et Discussion

**Tableau 8** Analyse de la variance par test ANOVA(*P.savastanoi*)

Table de la variance					
Inhibition					
	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
<b>Inter-groupes</b>	1675,233	14	119,660	126,698	0,000
<b>Intra-groupes</b>	42,500	45	0,944		
<b>Total</b>	1717,733	59			

D'après les résultats obtenus dans les tableaux ci-dessous on remarque que, La probabilité  $p < 0.05$  démontre que la différence entre les moyennes n'est pas due au hasard. Par conséquence la différence entre les traitements est très hautement significative (**Tableau 8**).

➤ **Comparaison des moyennes par le Test de Tukey**

Ce test a été effectué en raison d'une comparaison entre les extraits utilisés dans cette étude, et pour donner les niveaux d'efficacité dans lesquels les extraits sont regroupées afin de déterminer les produits les plus efficace et les moins efficaces (**Tableau 9**)

**Tableau 9** Résultats de test Tukey de comparaison multiple des moyennes (*P.savastanoi*)

Inhibition					
	Traitement	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05		
			a	b	c
Test de Tukey	nig méth	4	6,0000 <sup>a</sup>		
	cit éth	4	6,0000 <sup>a</sup>		
	temoin Ed	4	6,0000 <sup>a</sup>		
	nig aqx	4	6,0000 <sup>a</sup>		
	hén aqx	4	6,5000 <sup>a</sup>		
	cit aqx	4	6,5000 <sup>a</sup>		
	nig éth	4	7,0000 <sup>ab</sup>	7,0000 <sup>ab</sup>	
	per méth	4	7,0000 <sup>ab</sup>	7,0000 <sup>ab</sup>	
	per éth	4	8,0000 <sup>ab</sup>	8,0000 <sup>ab</sup>	
	per aqx	4	8,2500 <sup>ab</sup>	8,2500 <sup>ab</sup>	
	cit méth	4		9,2500 <sup>b</sup>	
	méthanol	4		9,5000 <sup>b</sup>	
	éthanol	4			13,0000 <sup>c</sup>
	hén éth	4			15,0000 <sup>c</sup>
	hén méth	4			15,0000 <sup>c</sup>
Signification			0,126	0,054	0,261

Selon l'analyse statistiques de comparaison des moyennes ; Test de Tukey (Tableau) (Annex), on remarque qu'on a obtenu trois niveau d'efficacité représentés par les groupes a, b

## Chapitre II : Résultats et Discussion

et c. L'extrait méthanolique et aqueux de *N.sativa*, l'extrait éthanolique et aqueux de *C.colonyntis*; l'extrait aqueux de *L.inermis* et le témoin d'eau distillé représentées le groupe (a) qui détermine les produits les plus faibles dans l'ensemble des extraits utilisés, suivi par le groupe (b) composé de différents extraits ayant un effet moyennement faible tel que l'extrait éthanolique de *N.sativa* et *P.tomentosa*, l'extrait méthanolique de *P.tomentosa* et *C.colonyntis*, l'extrait aqueux de *P.tomentosa* et le témoin de méthanol, l'effet de ce groupe est plus proche que le premier groupe. En dernier, les produits les plus efficaces sont classés sous le groupe (c) qui est composé de l'extrait éthanolique et méthanolique de *L.inermis* ainsi que le témoin éthanol.

Les niveaux d'efficacité des produits signifient la sensibilité de la bactérie donc à partir des résultats consignés dans le **tableau (9)**, *Pseudomonas savastanoi* est plus résistante.

### 1.1.1.2. Effet sur *Escherichia coli*

#### a) Zone d'inhibition

Après une incubation de 24 h, les résultats sont enregistrés par la mesure de la zone d'inhibition exercée par les extraits éthanoliques, méthanoliques et aqueux des différentes plantes vis-à-vis des trois bactéries testées (**Tableau 10**) (**Tableau 11**) (**Annexe 2**).

**Tableau 10** Les diamètres d'inhibition des extraits contre *E.coli*

	Extrait éthanolique	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
<i>Lawsonia inermis</i>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>6</b>
<i>Nigella sativa</i>	<b>7.75</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<i>Citrillus colonyntis</i>	<b>11.25</b>	<b>11.25</b>	<b>6</b>
<i>Pergularia tomentosa</i>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>9.75</b>




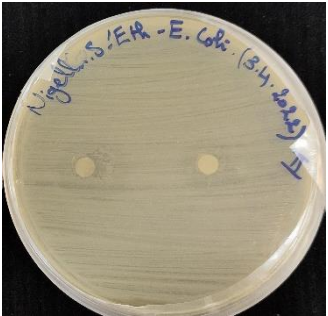
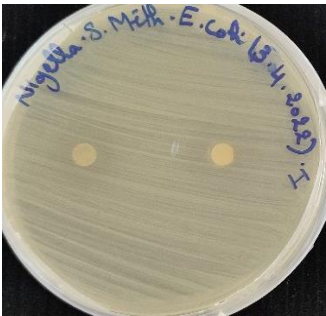

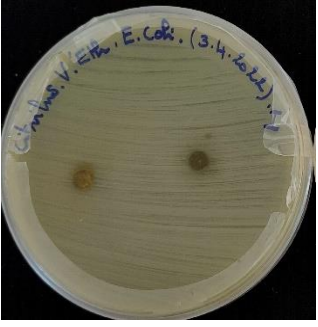


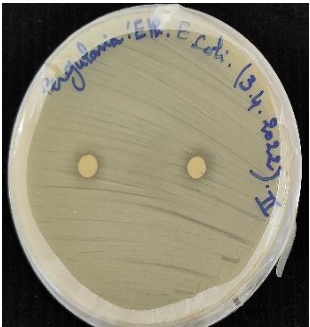


**Tableau 11** Les diamètres d'inhibition des témoins « *E.coli* »

	Ethanol	Méthanol	Eau distillé
Témoins	<b>15</b>	<b>9.5</b>	<b>6</b>




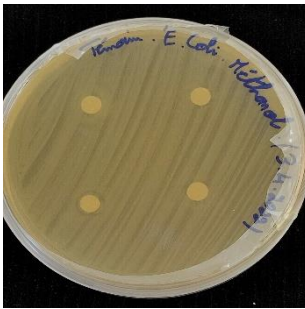
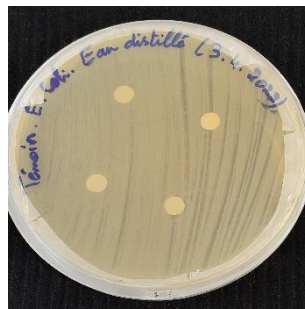
## Chapitre II : Résultats et Discussion

**Tableau 12** Résultat de l'effet des extraits éthanolique méthanolique et aqueux sur *E.coli* (Originale)

Plantes	Type d'extrait		
	Ethanolique	Méthanolique	Aqueux
<i>Lawsonia inermis</i>			
<i>Nigella sativa</i>			
<i>Citrillus colonyntis</i>			
<i>Pergularia tomentosa</i>			

## Chapitre II : Résultats et Discussion

**Tableau 13** les diamètres d'inhibition des témoins (Original)

	Ethanol	Méthanol	Aqueux
Témoin			

Les résultats consignés dans le tableau (12 , 13 ) ont montré que l'extrait éthanolique et méthanolique de *L.inermis* et *C.colonyntis* ont une activité antibactérienne plus élevées que celle de *N.sativa* et *P.tomentosa* .En terme de diamètre de zone d'inhibition les extraits alcooliques de *Linermis* exercent une efficacité remarquable avec 15 mm suivi par *C.colonyntis* avec 11.25 mm de diamètre. Concernent les extraits de *N.sativa* et *P.tomentosa* les zone d'inhibition varient entre 6 et 9 mm de diamètre. Par contre, l'absence d'une activité inhibitrice a été observée avec les extraits aqueux, ce qui confirme le faible pouvoir antibactérienne de ces extraits vis-à-vis a *E coli* (**Tableau12**) (**Tableau 13**) (**Annexe 7**).

### b) Analyses statistiques

#### ➤ Analyse de la variance par le test ANOVA

**Tableau 14** Analyse de la variance par test ANOVA (E.coli)

Table de la variance					
Inhibition					
	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
<b>Inter-groupes</b>	566,233	14	40,445	108,659	0,000
<b>Intra-groupes</b>	16,750	45	0,372		
<b>Total</b>	582,983	59			

## Chapitre II : Résultats et Discussion

D'après les résultats obtenus dans les tableaux ci-dessous on remarque que, La probabilité  $p < 0.05$  démontre que la différence entre les moyennes n'est pas due au hasard. Par conséquent la différence entre les traitements est très hautement significative (**Tableau 14**).

### ➤ Comparaison des moyennes par le Test de Tukey

Ce test a été effectué en raison d'une comparaison entre les extraits utilisées dans cette étude, et pour donner les niveaux d'efficacité dans lesquels les extraits sont regroupés afin de déterminer les produits les plus efficace et les moins efficaces (**Tableau 15**)

**Tableau 15** Résultats de test Tukey de comparaison multiple des moyennes (*E.coli*)

		inhibition							
	traitement	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05						
			a	b	c	d	e	f	g
Test de Tukey <sup>a</sup>	nig méth	4	6,0000 <sup>a</sup>						
	temoin Ed	4	6,0000 <sup>a</sup>						
	hén aqx	4	6,0000 <sup>a</sup>						
	nig aqx	4	6,0000 <sup>a</sup>						
	cit aqx	4	6,2500 <sup>ab</sup>	6,2500 <sup>ab</sup>					
	nig éth	4		7,7500 <sup>bc</sup>	7,7500 <sup>bc</sup>				
	per éth	4			8,0000 <sup>cd</sup>	8,0000 <sup>cd</sup>			
	per méth	4			9,0000 <sup>cde</sup>	9,0000 <sup>cde</sup>	9,0000 <sup>cde</sup>		
	méthanol	4				9,5000 <sup>de</sup>	9,5000 <sup>de</sup>		
	per aqx	4					9,7500 <sup>ef</sup>	9,7500 <sup>ef</sup>	
	cit éth	4						11,2500 <sup>f</sup>	
	cit méth	4						11,2500 <sup>f</sup>	
	hén éth	4							14,0000 <sup>g</sup>
	éthanol	4							14,0000 <sup>g</sup>
	hén méth	4							15,0000 <sup>g</sup>
Signification			1,000	0,066	0,236	0,066	0,909	0,066	0,583

D'après les résultats enregistrer dans le tableau de comparaison des moyennes (**Tableau 15**), il existe 7 niveaux d'efficacité représentés par les groupes a, b, c, d, e, f et g ; de moins efficace jusqu'à le plus efficace. Selon le nombre des niveaux, *Escherichia coli* est plus sensible vis-à-vis nos produit testés, suivant ces résultats on prend les produits les plus efficace (bactérie est plus sensible) et le moins efficace (bactérie est résistant). Au-delà les extraits aqueux de *N.sativa*, *C.colonyntthis* et *L.inermis*, l'extrait éthanolique de *N.sativa* et du témoin d'eau distillé tous sont classé comme faible sous le groupe (a). Tandis que, les extraits les plus efficace représentées par le groupe (g) qui est composé d'extraits éthanolique et méthanolique de

## Chapitre II : Résultats et Discussion

*L.inermis* ainsi que d'éthanol comme témoin. Même le groupe (f) a une efficacité plus proche que le groupe (g) mais avec des valeurs plus faible, concernant les groupe restants (b, c, d et e) ont un effet modéré.

Ce tableau (**Tableau 15**) montre que les extrais alcoolique de *Lawsonia inermis* étaient les plus actif vis-à-vis *Escherichia coli*.

### 1.1.1.3.Effet sur *Proteus vulgaris*

#### a) Zone d'inhibition

Après une incubation de 24 h, les résultats sont enregistrés par la mesure de la zone d'inhibition exercée par les extraits éthanoliques, méthanoliques et aqueux des déférant plantes vis-à-vis *P.vulgaris* (**Tableau16**) (**Tableau 17**) (**Annexe 3**).

**Tableau 16** Les diamètres d'inhibition des extraites contre *P.vulgaris*


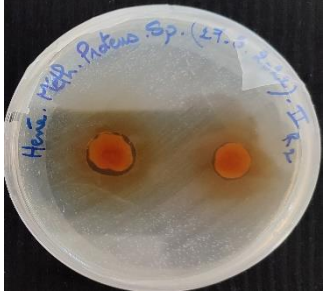

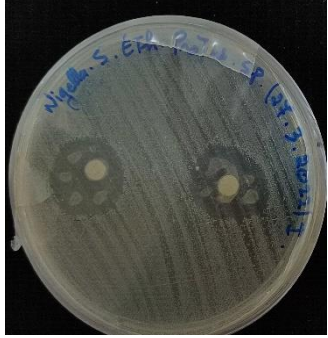


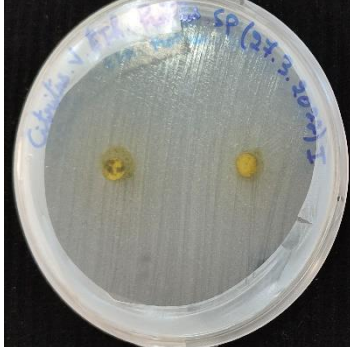
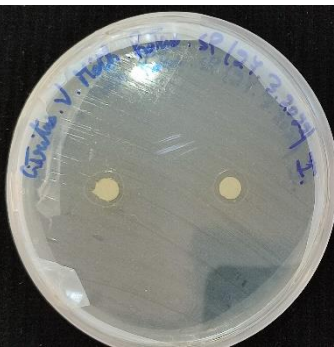

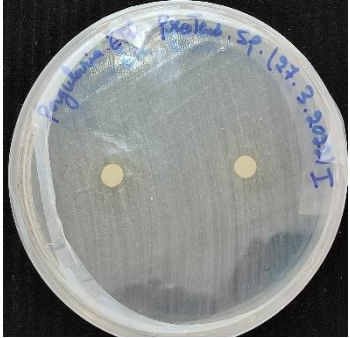
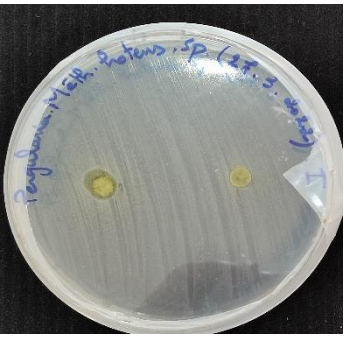

	Extrait éthanolique	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
<i>Lawsonia inermis</i>	<b>19.5</b>	<b>20.25</b>	<b>7.75</b>
<i>Nigella sativa</i>	<b>20.75</b>	<b>9.25</b>	<b>9</b>
<i>Citrillus colonyntis</i>	<b>7.5</b>	<b>9.75</b>	<b>7.25</b>
<i>Pergularia tomentosa</i>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8.5</b>

**Tableau 17** Les diamètres d'inhibition des témoins « *P.vulgaris* »

	Ethanol	Méthanol	Eau distillé
Témoins	<b>14.5</b>	<b>12.75</b>	<b>6</b>

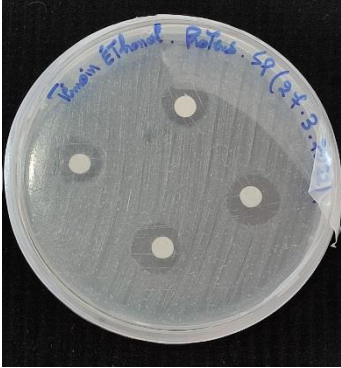


## Chapitre II : Résultats et Discussion

**Tableau 18** Résultat de l'effet des extraits éthanolique méthanolique et aqueux sur *P. vulgaris* (Originale)

Plantes	Type d'extrait		
	Ethanolique	Méthanolique	Aqueux
Lawsonia inermis			
Nigella sativa			
Citrillus colonythis			
Pergularia tomentosa			

## Chapitre II : Résultats et Discussion

**Tableau 19** Les diamètres d'inhibition des témoins(Original)

	Ethanol	Méthanol	Aqueux
Témoin			

Les diamètres des zones d'inhibition obtenus sont rapportés dans le **tableau (18) (19)**. La meilleure activité est présentée par les extraits alcooliques de *L.inermis* avec 19.5 et 20.25 mm de diamètre (extrait éthanolique et méthanolique respectivement) et de l'extrait éthanolique de *N.sativa* avec un diamètre de 20.75 mm, ces deux plantes exercent un effet considérable sur *Proteus* (Tableau ) (Figure ). Cet effet est plus important que celui des témoins avec des zones d'inhibition de 14.5, 12.75 et 6 mm (Ethanol, Méthanol et Eau distillé respectivement). Cela montre que l'extrait éthanolique et méthanolique de *L.inermis* et de l'extrait éthanolique de *N.sativa* révèlent une bonne activité inhibitrice avec une plus forte efficacité vis-à-vis *Proteus*. Cependant, une faible efficacité a été remarquée avec les extraits aqueux et les extraits alcooliques de *P.tomentosa* et *C.colonythis* avec des zones d'inhibition variant entre 6 et 8.5 mm de diamètre, ce qui confirme le pouvoir antibactérien de ces plantes a été très faible contre *Proteus*. (**Annexe 8**).

### b) Analyses statistiques

#### ➤ Analyse de la variance par le test ANOVA

**Tableau 20** Analyse de la variance par test ANOVA(*P.vulgaris*)

Table de la variance					
Inhibition					
	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
<b>Inter-groupes</b>	1543,600	14	110,257	86,665	0,000
<b>Intra-groupes</b>	57,250	45	1,272		
<b>Total</b>	1600,850	59			

## Chapitre II : Résultats et Discussion

D'après les résultats obtenus dans les tableaux ci-dessous on remarque que, La probabilité  $p < 0.05$  démontre que la différence entre les moyennes n'est pas due au hasard. Par conséquent la différence entre les traitements est très hautement significative (**Tableau 20**).

### ➤ Comparaison des moyennes par le Test de Tukey

Ce test a été effectué en raison d'une comparaison entre les extraits utilisés dans cette étude, et pour donner les niveaux d'efficacité dans lesquels les extraits sont regroupés afin de déterminer les produits les plus efficaces et les moins efficaces (**Tableau 21**).

**Tableau 21** Résultats de test Tukey de comparaison multiple des moyennes (*P. vulgaris*)

inhibition						
	traitement	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05			
			a	b	c	d
Test de Tukey <sup>a</sup>	per éth	4	6,0000 <sup>a</sup>			
	témoin Ed	4	6,0000 <sup>a</sup>			
	per méth	4	7,0000 <sup>ab</sup>	7,0000 <sup>ab</sup>		
	cit aqx	4	7,2500 <sup>ab</sup>	7,2500 <sup>ab</sup>		
	cit éth	4	7,5000 <sup>ab</sup>	7,5000 <sup>ab</sup>		
	hén aqx	4	7,7500 <sup>ab</sup>	7,7500 <sup>ab</sup>		
	per aqx	4	8,5000 <sup>ab</sup>	8,5000 <sup>ab</sup>		
	nig aqx	4		9,0000 <sup>b</sup>		
	nig méth	4		9,2500 <sup>b</sup>		
	cit méth	4		9,7500 <sup>b</sup>		
	méthanol	4			12,7500 <sup>c</sup>	
	éthanol	4			14,5000 <sup>c</sup>	
	hén éth	4				19,5000 <sup>d</sup>
	hén méth	4				20,2500 <sup>d</sup>
	nig éth	4				20,7500 <sup>d</sup>
	Signification			0,146	0,071	0,667

Selon l'analyse statistique test de Tukey (**Tableau 21**), on remarque qu'il y a 4 niveaux d'efficacité représentés par les groupes suivants a, b, c et d, de moins efficace jusqu'à le plus efficace. Les produits les plus faibles (aucun effet) sont classés dans le groupe (a) qui comprend l'extrait éthanolique de *P. tomentosa* et du témoin d'eau distillé. Certains produits ayant une efficacité moyenne sont classés sous les deux groupes (b) et (c) avec une variation des valeurs relevées dans le groupe (c) qui montre plus d'efficacité et concernant les produits les plus

## Chapitre II : Résultats et Discussion

efficace sont classés dans le 4<sup>ème</sup> niveau (d) qui est composé de l'extrait éthanolique et méthanolique de *L.inermis* et l'extrait éthanolique de *N.sativa*.

Ce tableau (21) confirme que les extraits éthanoliques étaient les plus actifs pour les deux plantes *Lawsonia inermis* et *Nigella sativa* contre *Proteus*.



### 1.1.2 Combinaison des extraits « *Lawsonia inermis* + *Nigella sativa* » et « *Lawsonia inermis* + *Citrillus colonynthis* »

Ce test a été réalisé pour voir s'il y a un effet additif de l'activité antibiotique des produits les plus efficaces observés durant notre essai entre autre la combinaison de des extraits éthanoliques de *L. inermis* plus *N. sativa* et *L. inermis* plus *C. colocynthis*. Le tableau (22) (23) représente les résultats du test réalisé.(Annexe 4) (Annexe 5)

**Tableau 22** Résultats de combinaison des extraits

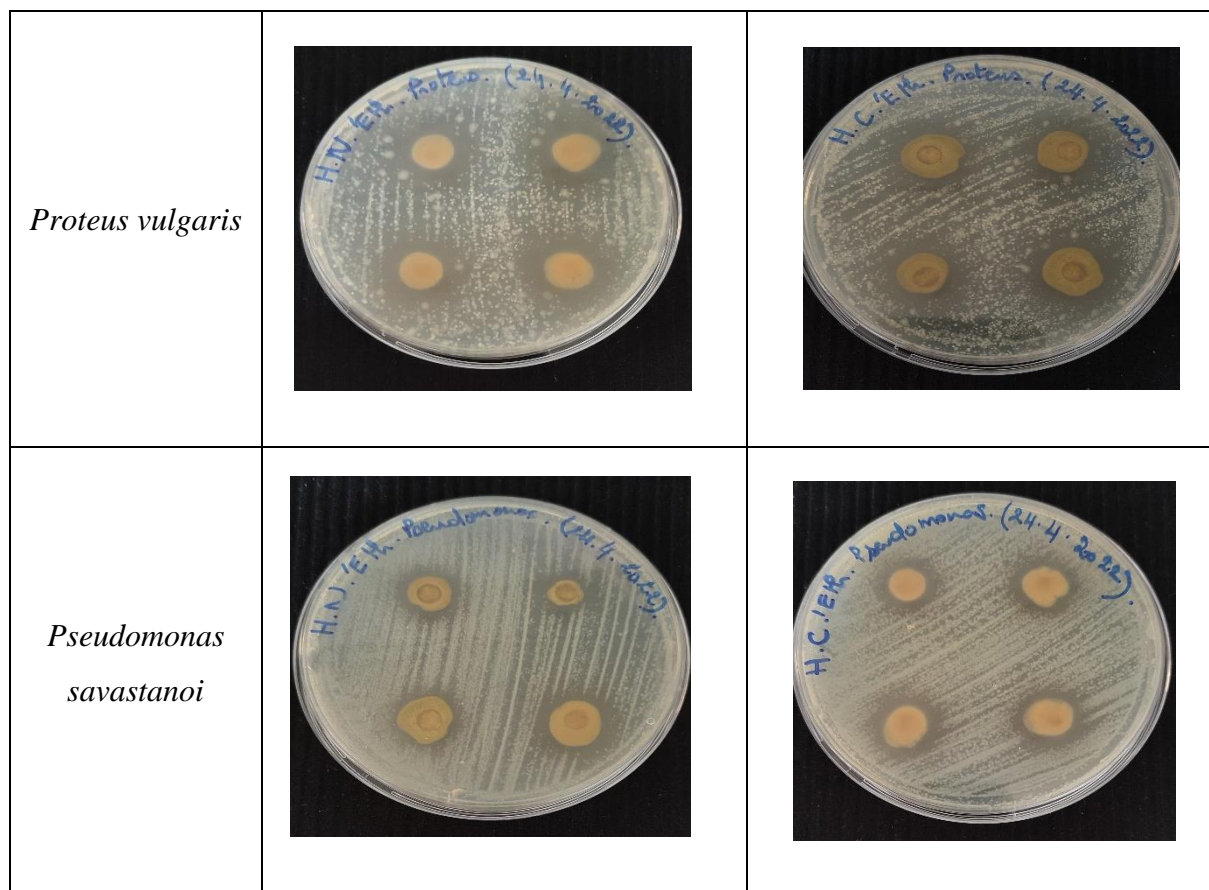
Micro-organismes	Zone d'inhibition en mm	
	<i>L.inermis</i> + <i>N.sativa</i>	<i>L.inermis</i> + <i>C.colonynthis</i>
<i>Escherichia coli</i>	21	18.75
<i>Proteus vulgaris</i>	20.5	19.5
<i>Pseudomonas savastanoi</i>	16.75	15.75

**Tableau 23** Résultats d'inhibition obtenus par combinaison des extraits (Originale)

Microorganisme	Zone d'inhibition	
	<i>L.inermis</i> + <i>N.sativa</i>	<i>L.inermis</i> + <i>C. colonynthis</i>
<i>Escherichia coli</i>		



## Chapitre II : Résultats et Discussion



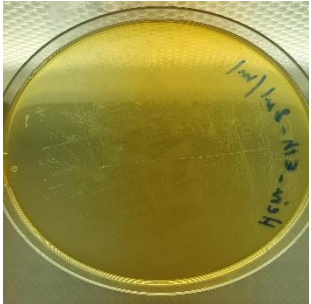

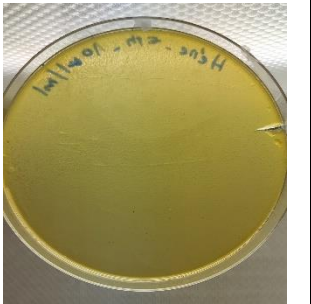
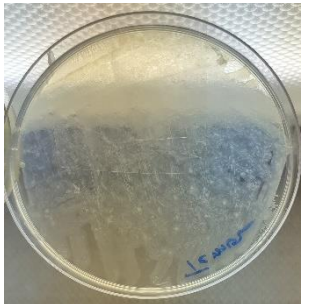

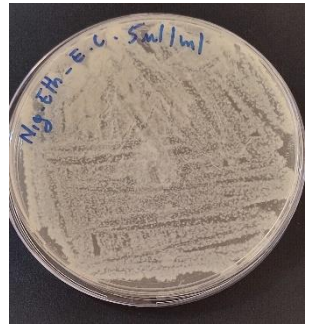


Les résultats obtenus (**Tableau 22**) (**Tableau 23**) montrent que l'association de l'extraits éthanolique de *Lawsonia inermis* et *Nigella sativa* testée vis-à-vis les trois souches bactériennes avec un diamètre d'inhibition de 16.75 mm sur *P.savastanoi*, de 20.5 mm sur *Proteus vulgaris* et de 21 mm sur *E coli* a eu une bonne inhibitrice avec une fort efficacité cela confirme que cet association est plus actif sur ces trois souches par rapport à l'autre association de l'extrait éthanolique de *Lawsonia inermis* et *Citrillus colonynthis*. Tandis que ce dernier exercent des résultats remarquable ; une faible zone d'inhibition a été observé de 15 mm contre *P.savastanoi* suivi par *E.coli* et *Proteus vulgaris* avec des zones d'inhibition de 18.75 et 19.5 mm respectivement, cet effet est considéré comme efficace. L'association entre les extraits a révélé un effet additif dont la zone d'inhibition à augment par rapport à la zone obtenue par l'extrait seul (**Tableau 6**) (**Tableau 12**) (**Tableau 18**).

### 1.1.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI et bactéricide CMB

Les résultats représentées dans le tableau (**24**) détermine l'effet de l'extrait éthanolique de *Lawsonia inermis* et *Nigella sativa* testées vis-à-vis *Escherichia coli* a partir les concentrations suivants : 2, 5, 10 et 20 µl/ml.

## Chapitre II : Résultats et Discussion

**Tableau 24** Résultats de CMI et CMB de *L.inermis* et *N.sativa* sur *E.coli* ( Original)

Extrait éthanologique	Concentrations (µl/ml)			Témoin
	2 µl/ml	5 µl/ml	10 µl/ml	
<i>Lawsonia inermis</i>				
<i>Nigella sativa</i>				

L'effet bactéricide le plus important manifesté par l'extrait éthanologique de *Lawsonia inermis* sur *Escherichia coli* et montré un pouvoir bactéricide a la concentration de 10 µl/ml avec une CMI de 2 µl/ml. A l'opposé, l'extraits éthanologique de *Nigella sativa* ne révèle aucun effet quel que soit bactéricide ou inhibitrice.

### 1.1.4. Test de sensibilité des bactéries a l'antibiotique de référence

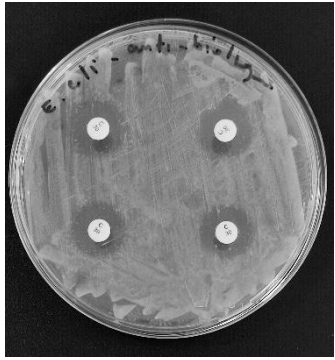

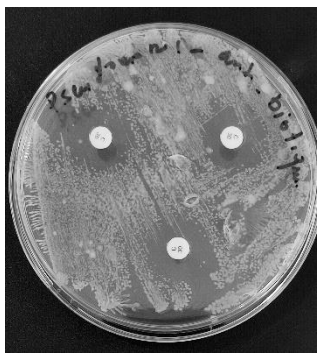
Vu l'importance des résultats obtenus sur l'efficacité des extraits testés vis-à-vis des trois espèces bactériennes, une comparaison des résultats avec un antibiotique de référence a été nécessaire pour une évaluation réelle de nos produit. Les résultats de ce testes sont gardées dans le tableau (25) et (26) en mesurent les diamètres d'inhibition exercées par l'antibiotique de Chloramphénicol contre les trois bactéries.

## Chapitre II : Résultats et Discussion

**Tableau 25** Résultats de la sensibilité des bactéries au chloramphénicol

Antibiotique	Zone d'inhibition en mm		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>P savastanoi</i>
Chloramphénicol	15	20.6	18.33

**Tableau 26** Résultats de la sensibilité des bactéries a l'antibiotique de chloramphénicol (Original)

Antibiotique	Zone d'inhibition		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus</i>	<i>Pseudomona savastanoi</i>
<b>Chloramphénicol</b>			

Les résultats obtenus de la sensibilité des bactéries à l'antibiotique de chloramphénicol sont très importantes. Par ailleurs, *E.coli* révéla une zone d'inhibition de 15 mm de diamètre. Une zone d'inhibition de 18.33 mm a été mesurée pour *P.savastanoi*, suivi par *Proteus* qui a montré de grande zone d'inhibition de 20.6 mm de diamètre. Cela indique *Proteus* a été le microorganisme le plus sensible avec chloramphénicol (**Tableau 25**) (**Tableau 26**).

En comparaison avec nos résultats, on peut confirmer que l'effet antibiotique de certains de nos extraits alcooliques et leur combinaison est beaucoup plus important que l'effet de l'antibiotique testé.

Le tableau ci-dessous représente une récapitulation de l'effet des extraits sur les différentes espèces étudiées (**Tableau 27**).

## Chapitre II : Résultats et Discussion

**Tableau 27** Récapitulation de l'effet des extraits sur les différentes espèces des bactéries testées

		Plantes médicinales utilisées											
		<i>L.inermis</i>			<i>N.sativa</i>			<i>C.colonynthis</i>			<i>P.tomentosa</i>		
Types d'extraits Microorganismes		Eth	Méth	Aqx	Eth	Méth	Aqx	Eth	Méth	Aqx	Eth	Méth	Aqx
		<i>P.savastanoi</i>	***	***	-	-	-	-	-	*	-	-	-
	<i>E.coli</i>	***	***	-	*	-	-	**	**	-	-	*	*
	<i>P.vulgaris</i>	***	***	-	***	*	*	-	*	-	-	-	*

(-) : Aucun effet, (\*) : Effet faible, (\*\*) : Effet moyen, (\*\*\*) : Effet supérieur

## Chapitre II : Résultats et Discussion

Les extraits alcooliques de *L.inermis* sont les produits les plus efficaces contre les espèces bactériennes testées dans cet essai. Mise à part l'effet de *N.sativa* et plus remarquable sur *Proteus vulgaris*, le reste des extraits exercent un effet moyen à faible contre les bactéries.

Parmi les trois types d'extractions testées, les extraits éthanoliques sont le plus efficace sur l'ensemble des bactéries alors que les extraits aqueux n'ont montré aucun effet inhibiteur sauf l'effet faible de *P.tomentosa* contre *Escherichia coli* et *Proteus vulgaris*.

La sensibilité des bactéries aux extraits testées n'est pas la même, dans lesquels *Escherichia coli* est la plus sensible suivi par *Proteus vulgaris* avec une sensibilité moyenne tandis que *Pseudomonas savastanoi* semble être la plus résistante aux différents extraits.

### 2. Discussion

La recherche de nouveaux agents antimicrobiens est un axe de recherche important en raison de la résistance acquise par plusieurs microorganismes.

L'objectif principal de la présente étude était d'évaluer la capacité des extraits de trois plantes à inhiber la croissance bactérienne en utilisant la méthode de diffusion de disque d'agar. L'objectif est d'explorer l'utilisation future possible de ces extraits comme alternatives aux produits chimiques et les pesticides courants et de déterminer leur capacité.

Trois types d'extraits différents ont été préparés notamment l'extrait de méthanol, l'extrait d'éthanol et l'extrait aqueux. Les résultats ont montré qu'à l'exception des extraits aqueux, tous les extraits de certaines plantes présentaient une activité antibactérienne contre les espèces bactériennes utilisées dans cette étude. Cependant, les espèces bactériennes ont montré une sensibilité différentielle pour chaque extrait. Les résultats de cette étude ont montré que les extraits alcooliques étaient plus actifs contre les bactéries, un résultat cohérent avec (**Ahmad et al., 1998**), qui a noté que l'alcool était le meilleur solvant pour extraire les substances antimicrobiennes par rapport à l'eau.

Dans cette étude, l'extrait de méthanol de *L. inermis* a présenté un degré d'efficacité plus élevé d'activité antimicrobienne par rapport à l'extrait éthanoliques et aqueux avec une zone d'inhibition de 20.25 mm contre *Proteus*. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus à partir d'une étude récente de (**Arun et al., 2010 ; Almanama et al., 2011**). Suivi par des zones d'inhibition de 15 mm de l'extrait éthanoliques et méthanoliques de *L.inermis* vis-à-vis

## Chapitre II : Résultats et Discussion

*Escherichia coli*, ce résultat est le même obtenu par **Kouadri en 2018** avec une zone d'inhibition de 16 mm du diamètre.

Selon l'étude de **Papageorgiou et al en 1999**, les constituants phytochimiques de *Lawsonia inermis* présentent une activité antimicrobienne uniquement contre les bactéries à Gram positif alors qu'elles sont inefficaces contre les bactéries à Gram négatif. D'autres études ont montré que *Lawsonia inermis* avait une activité antimicrobienne contre Gram positif et Gram négatives (**Iram et al., 2013**, **Bhuvaneshwari et al., 2002** ; **Habbal et al., 2005** ; **Hussain et al., 2011**). Nos résultats sont cohérents avec ceux d'une étude précédente qui a révélé que les extraits alcooliques et huileux de henné étaient plus efficaces que les extraits de henné à base d'eau en termes d'activité antibactérienne (**Borade et al., 2011**). Cela pourrait être dû à un manque de propriétés de solvant, qui jouent un rôle essentiel dans l'efficacité antibactérienne (**Arun et al., 2010** ; **Kelmanson et al., 2002** ; **Al.Maqtari, 2014**)

L'étude précédente sur les extraits de plantes bruts *N.sativa* et les phytoconstituants soutient également le fait que *N.sativa* est actif contre divers agents pathogènes. Dans le passé, de nombreux chercheurs ont étudié le potentiel antimicrobienne de *N.sativa*.ils ont constaté que les extraits éthanoliques de *N.sativa* étaient actifs contre un microorganisme standard testé et des souches de bactéries multirésistantes (**Salman et al., 2005**). Ainsi, *N.sativa* avec un ensemble des composés polyphénoliques qui possèdent une activité antibactérienne (**Ani et al., 2006**). Dans notre étude, l'extrait éthanolique a donné une zone d'inhibition plus élevée que l'extrait méthanolique contre *Proteus* d'une valeur de 20.75 mm du diamètre et le reste des résultats n'a montré aucune activité contre *E.coli* et *P.savastanoi*. Ce résultat montre plus d'activité que celui obtenu par **Shabina en 2013**.

Concernant *C.colonythis* ; Les extraits d'éthanol et de méthanol ont présenté une activité antibactérienne excessive contre *E. coli* par rapport *Proteus* et *P.savastanoi*. En ce qui concerne cette découverte, il a été constaté dans d'autres études que l'effet de cette plante existe contre *E.coli* (**Al-Snaf, 2017** ; **Kapoor, 2020** ; **Abed, 2021**).

Nos résultats indiquent que les extraits aqueux ne montrent aucune activité contre *E. coli*, *Proteus* et *P.savastanoi*. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus à partir d'une étude récente en ce qui concerne *Lawsonia inermis* (**Al.Maqtari, 2014**)

Les propriétés antimicrobiennes des extraits de plantes sont influencées par un certain nombre d'éléments, y compris l'habitat et les conditions climatiques de la plante, le solvant d'extraction, la méthodologie et les concentrations d'essai (**Trease et Evans, 1983** ; **Harborne, 1998**)

# Conclusion

### Conclusion

De cette étude qui avait pour but d'évaluer *in-vitro* l'activité antibactérienne des extraits bruts (éthanoliques, méthanoliques et aqueux) des différentes parties de *Lawsinia inermis*, *Nigella sativa*, *Citrillus colonynthis* et *Pergularia tomentosa* sur trois différentes espèces bactériennes dont lesquels *Escherichia coli*, *Pseudomonas savastanoi* et *Proteus* .... L'étude de l'activité antibactérienne est déterminée d'abord qualitativement par le test de diffusion en milieu gélosé puis quantitativement par la détermination des CMI et CMB en milieu solide. Il ressort que :

D'une façon générale, la plus part de nos extraits ont une activité antimicrobienne qui varie d'une souche à une autre. Cette activité peut être importante ou faible selon les plantes utilisées, la concentration de nos extraits et la souche testée.

- Les trois bactéries étudiées ont été sensibles à l'extrait éthanolique et méthanolique de *L.inermis*.
- L'extrait éthanolique et méthanolique de *C.colonyntthis* exerce une efficacité moyenne contre *E.coli*.
- L'extrait éthanolique de *Nigella sativa* révèle un effet remarquable contre *Proteus*.
- L'extrait éthanolique de *L.inermis* a exercé un pouvoir inhibiteur et bactéricide sur *E.coli* avec des valeurs de 2 µl/ml et 10 µl/ml respectivement.
- Par contre, aucune activité n'a été déterminée concernant les extraits aqueux vis-à-vis les bactéries testées.

L'association entre les extraits éthanolique de *L.inermis* avec *N.sativa* et de *L.inermis* avec *C.colonyntthis* à montrer un effet positif dont les zones d'inhibition à augmenter par rapport à la zone obtenue par l'extrait seul. Cette étude suggère probablement la possibilité d'une utilité concourante de l'extrait de henné en association dans les traitements des infections provoquées par les microorganismes.

La sensibilité des différentes souches aux extraits alcooliques de *L.inermis* revêt une grande importance dans le traitement contre ces microorganismes, car ces souches présentent des résistances élevées vis-à-vis des antibiotiques utilisés en pratique courante. Cette étude confirme la validité des propriétés antimicrobiennes attribuées à cette plante.



## Conclusion

D'après nos résultats, nous pouvons confirmer que *Lawsonia inermis* riches en substances biologiquement actives. Au terme de cette étude nous pouvons conclure que l'utilisation des plantes médicinales est d'un grand intérêt dans la recherche des molécules bioactives qui sont à l'origine de plusieurs activités biologiques telles que l'activité antibactérienne.

Si on veut investiguer une plante connue pour des effets biologiques, utilisez la méthode d'extraction et le solvant appropriés, ce qui nous permet d'obtenir un extrait avec une grande quantité, une activité biologique élevée et une composition chimique diversifiée.

On peut conclure à partir de cette étude un certains nombres de perspectives  
Faisant suite à ce travail. Ainsi :

- Etablir des études chimiques des extraits des plantes pour pouvoir connaître leur composition et comprendre leur mode d'action.
- Approfondir les investigations phytochimiques et biologiques de ces plantes afin d'isoler les molécules responsables de cette activité observée, ce qui permettra d'élargir les recherches.
- Evaluer les activités biologiques *in vivo* de ces plantes afin d'isoler les substances responsables des activités biologiques étudiées.
- Il serait aussi très utile de tester la toxicité de ces plantes *in vivo* dans le but de mettre en place des produits naturels pour la lutte.
- Rechercher l'activité antifongique, antivirale....
- Essai d'utilisation de quelques IGR qui peuvent être une autre alternative à la lutte chimique.

Il sera donc intéressant de poursuivre ces travaux à grande échelle afin d'obtenir des résultats satisfaisants et de trouver de nouvelles solutions et alternatives à l'élimination des ravageurs et microorganismes par des moyens biologiques, en particulier l'utilisation de plantes telles que l'utilisation de produits chimiques, pour réduire leurs dommages à l'homme et l'environnement.

# Références

## Références bibliographiques

### Références bibliographiques

- Abed, H. H. (2021).** Evaluation of the antibacterial activity of *citrullus colocynthis* extracts (In vitro study ) Keywords : 26, 175–180.
- Abegaz, B., Demissew S. (1998).** Indigenous African food crops and useful plants: their preparation for food and home gardens in Ethiopia, Kenya, Tanzania and Uganda, with special emphasis on medicinal plants and issue associated with their management. African Journal of Plant Science, Hawassa, Ethiopia, Vol. 10(10), pp. 211-233.
- Abbott, S. L. (2007).** Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A. Tenover (Eds.), Manual of Clinical Microbiology (9th ed., pp. 698-711). Washington, USA: ASM Press.
- Ahmad, I., Mehmood, Z., Mohammad, F. (1998).** Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties. J. Ethnopharm. 62: 183-93.
- Ait youssef, M. (2006).** Plantes médicinales de Kabylie. Edition Ibis press 349 p
- Alderman, S.C., Coats D.D., Crowe F.J. (1996).** Impact of ergot on Kentucky bluegrass grown for seed in northeastern Oregon. Plant Dis. **80**, 853-855.
- Al-Farraj, A. S., Al-Wabel, M. I. (2007).** Heavy metals accumulation of some plant species grown on mining area at Mahad AD'Dahab, Saudi Arabia. Journal of Applied Sciences, 7(8), 1170-1175.
- Al-Snaf, A E. (2017).** Chemical constituents and pharmacological effects of Dalbergia sissoo - A review. IOSR Journal of Pharmacy (IOSRPHR), 07(02), 59–71. <https://doi.org/10.9790/3013-0702015971>
- APG (2003).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. Botanical Journal of the Linnean Society 141: p 399-436.
- APG (2009).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III », Botanical Journal of the Linnean Society, vol. 161, no 2, p. 105-121.

## Références bibliographiques

- Ani, V., Varadaraj, MC., Naidu, KA. (2006).**Antioxidant and antibacterial activities of polyphenolic compounds from bittercumin (*Cuminumnigrum* L) .Eur.Food Res .Technol.224(1):109-115.
- Arun, P., Purushotham, K.G., jayarani, J., kumara, D. (2010).** In vitro antibacterial activity and flavonoid contents of *Lawsonia inermis* (henna). Intern. J. Pharm. Tech. Research; 2(2): 1178-81.
- Babu, M. M., Sivaram, V., Immanuel, G., Citarasu, T., Punitha, S. M. J. (2008).** Effects of Herbal Enriched Artemia Supplementation over the Reproductive Performance and Larval Quality in Spent Spawners of the Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 8, 301-307. Benhouhou S., A Guide to Medicinal Plants in North Africa. IUCN: (2005) 179.
- Batanouny, K.H., Abou-Tabl, S., Shabana M., Soliman F. (1999).** Wild medicinal plants in Egypt: An Inventory to Support Conservation and Sustainable Use. Chapitre 2: Pharmacopoeial Wild Medicinal Plants in Egypt Academy of Scientific Research and Technology, Egypt International Union for Conservation (IUCN)
- Benjama, A. (2003).** Méthode d'évaluation rapide du degré d'attaque de l'olivier par la tuberculose cause par *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* en verger au Maroc, Fruits, 58 : 213-219.
- Benyoub, K. (2010).** Isolement de souches de *Pseudomonas* à partir des sols et des nécroses d'oliviers de l'Ouest Algérien : Identification et caractérisation biochimique, sérotypique et phytopathologique. Recherche de l'antibiorésistance, d'antagonisme (bactériocine) et d'ADN plasmidique. Mém. Magis. Univ. Oran (Algérie). 156p.
- Berche, P., Gaillard, J-L., Simonet, M. (1989).** Bactériologie: bactéries des infections humaines.Médecine-Sciences Flammarion.
- Bergey's Manual of systematic Bacteriology. (2001).** 2ème Edition .vol 1.
- Bertolini, E. (2003).** Virosis y bacteriosis del olivo: detección serológica y molecular. Thesis (Ph. D.). Universidad Politécnica de Valencia, Spain
- Bhuvanewari, K., Poongothai, S., Kuruvilla, A., Raju, B. (2002).** Inhibitory Concentrations of *Lawsonia inermis* Dry Powder for Urinary Pathogens. Indian Journal of Pharmacology; 34: 260-263

## Références bibliographiques

- Biyiti, L. F., Meko, D. J. L., Tamzc, V., Amvam Zollo, P. H. (2004).** Research of the antibacterial activity of four Cameroonian medicinal plants. *Pharmacopoeia and African Traditional Medicine*, 13, 11-20.
- Bonnier, G. (1990).** La grande flore en couleur. Ed Belin, Paris. Tome 1. pp: 17.
- Borade, A., Kale, B., Shete, R. (2011).** A phytopharmacological review on *Lawsonia inermis* (Linn.). *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*; 2(1): 536-541.
- Botineau., (2010)** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs édition Lavoisier 501pp.
- Boullard, B., (2001).** Plantes médicinales du monde: croyances et réalités. Edition ESTEM 307.
- Boulos, L., (2000).** Flora of Egypt, Vol. 2: Geraniaceae- Boraginaceae. Cairo, Al-Hadara Publishing, Livre.
- Boulssen, B Z., Bouraoui N., (2016).** Etude sur la tuberculose de l'olivier ; isolement et identification présomptifs de quelques isolats bactériens à partir des tumeurs.
- Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X., Gardan, L., (2000).** The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *Agronomie* .20: 51-63.
- Campos, A., Da Costa, G., Coelho, A. V., Fevereiro, P. (2009).** Identification of bacterial protein markers and enolase as a plant response protein in the infection of *Olea europaea* subsp. *europaea* by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. *European Journal of Plant Pathology*, 125(4), 603–616.
- Coker, C., Poore, C. A., Li, X., Mobley, H. L. (2000).** Pathogenesis of *Proteus mirabilis* urinary tract infection. *Microbes and Infection / Institut Pasteur*, 2(12), 1497-1505.
- Corbaz, R. (1990).** Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Presse polytechniques et universitaires romandes.
- Cox, P. A., Balick, M. J. (1994).** The ethnobotanical approach to drug discovery. *Scientific American*. 270(6):82-87.

## Références bibliographiques

- Darcan, C., Ozkanca, R., Idil, O., and K. P. Flint. (2009).** Viable but Non-Culturable State (VBNC) of *Escherichia coli* Related to EnvZ under the Effect of pH, Starvation and Osmotic Stress in Sea Water. *Polish Journal of Microbiolog.* 58 (4):307-317.
- Ducke, J A. (1983).** *Citrullus colocynthis* (L) Schars. Handbook of Energy Corps.
- Ducluzeau, R., Raibaud, P. (1985).** Microbial ecology of the digestive system. *Agressologie: revue internationale de physio-biologie et de pharmacologie appliquées aux effets de l'agression.* 26 (2):161-163.
- Eilenberg, J., Hajek, A., Lomer C. (2001)** Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Biocontrol* 46: 387---400.
- Elmanama, A. A., Alyazji, A. A., Abu, N. A. (2011).** Antibacterial , Antifungal and Synergistic Effect of *Lawsonia inermis* , *Punica granatum* and *Hibiscus sabdariffa* . *Annals of Alquds Medicine*, 41(7), 33–41.
- Ercolani, G.L. (1978).** *Pseudomonas savastanoi* and other bacteria colonizing the surface of olive leaves in the field. *Journal of General Microbiology*, Vol. 109, (December 1978), pp. 245-257, ISSN 0022-1287.
- Ercolani, G. L. (1993).** Comparison of strains of *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* from olive leaves and knots. *Letters in Applied Microbiology*, 16(4), 199–202. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1993.tb01396.x>
- Fauchère, J. L., Avril, J. L. (2002).** *Bactériologie générale et médicale.* Ellipses.
- Forestier, J.P. (1982).** Henné, Absorption de la lawsone par le cheveu. *International Journal of Cosmetic Science*, 4 : 153-174.
- Ghedira, K. (2006).** La nigelle cultivée : L.(Ranunculaceae). *Phytothérapie*, 5(4), 220-226.
- Gohar, A. A., El-Olemy, M. M., Abdel-Sattar, E., El-Said, M., Niwa, M. (2000).** Cardenolides and  $\beta$ -Sitosterol Glucoside from *Pergularia tomentosa* L. *Natural Product Sciences*, 6(3), 142-146.
- Gomes, S., Martins-Lopes, P., et Guedes-Pinto, H. (2012).** Olive Tree Genetic Resources Characterization through Molecular Markers, *Genetic Diversity in Plants*, Prof. Mahmut Caliskan (Ed.), ISBN: 978-953-51-0185-7, InTech, Available from:

## Références bibliographiques

<http://www.intechopen.com/books/genetic-diversity-inplants/olivetree-genetic-resourcescharacterization-through-molecular-markers>.

- Gonzales, C.F., Layher S.K., Vidaver A.K., Olsen, R.H. (1984).** Transfer mapping and cloning of *Pseudomonas syringae* pv. *Syringae* plasmid pCG 131 and assessment of its role in virulence. *Phytopathology* 74, 1245-1250.
- Good, R. (1951).** Atlas of the Asclepiadaceae. University College, Hull. Pages 198-209.
- Gordon, D. M., Cowling, A. (2003).** The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. *Microbiology*. 149 (12):3575-3586.
- Guido M., Carlo V., Luciana G., Guisepe S. (2005).** Spread of Levan positive Populations of *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi*, the causal agent of olive knot, in Central Italy, *European journal of plant pathology* (2005). 112: 101-112 p.
- Guignard, J.L. (2001).** Botanique systématique moléculaire. 12ème Edition Masson (Paris), P : 304.
- Habbal, O.A., Al-Jabri, A.A., El-Hag, A.H., Al-Mahrooqi, Z.H. and Al- Hashmi, N.A. (2005).** In-vitro antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* Linn. (henna): A pilot study on the Omani henna. *Saudi Medical Journal* 26:69-72.
- Hammiche, V., Merad, R., Azzouz M. (2013).** Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. Springer-Verlag Paris.
- Handa, S. S. (2008).** An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants. *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*, 1, 21-40.
- Harborne, J. B.(1998).** *Phytochemical Method* 3rd ed.,203-214.
- Hauser, H .(1885).** Über Fäulnisbakterien und deren Beziehungen zur Septicämie., Ein Beitrag zur Morphologie der Spaltpilze., Leipzig, Vogel.
- Horne, T., Parker, B., Daines, L.L. (1912).** The method of spreading of the olive knot disease. *Phytopathology*. Vol. 2, pp. 101-105, ISSN: 0031-949X.
- Hussain, A. I., Rathore, H. A., Sattar, M. Z. A., Chatha, S. A. S., Sarker, S. D., Gilani, A. H. (2014).** *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad (bitter apple fruit): A review of its

## Références bibliographiques

- phytochemistry, pharmacology, traditional uses and nutritional potential. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(1), 54–66.
- Hussain, T., Arshad, M., Khan, S., Sattar, H., Qureshi, M.S. (2011).** In vitro screening of methanol plant extracts for their antibacterial activity. *Pak J Bot*, 43:531–538.
- Immanuel, G., Vincybai, V. C., Sivaram, V., Palavesam, A., and Marian, M. P. (2004).** Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus* juveniles. *Aquaculture*, 236, 53–65.
- Iram, G., Maria, S., Muhammad, S. A., and Muhamma, A. A. (2013).** Phytochemical, toxicological and antimicrobial evaluation of lawsoniainermis extracts against clinical isolates of pathogenic bacteria. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*.12:36
- Junio, H. A., Cordero, A. A., Ettefagh, K. A., Burns, J. T., Micko, K. T., Graf, T. N. (2011).** Synergy-directed fractionation of botanical medicines: A case study with goldenseal (*Hydrastis canadensis*). *Journal of Natural Products*, 74:1621-1629
- Jourdheuil, P., Grison, P., and Fraval, A. (2002)** La lutte biologique: un aperçu historique. INRA (Institut National de la Recherche Agronomique). Laboratoire de Zoologie, Le Courrier de l'Environnement de l'INRA n° 15.
- José, M., Quesada, R. P., and M. M. L. (2012).** Epidemiology and Control of Plant Diseases Caused by Phytopathogenic Bacteria: The Case of Olive Knot Disease Caused by *Pseudomonas savastanoi pv.savastanoi*. *Plant Pathology*. <https://doi.org/10.5772/32544>
- Kada, S. (2018).** Thèse Doctorat en Sciences Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques.
- Kado, C.I. (1992).** Plant pathogenic bacteria, In: *The Prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications*.



## Références bibliographiques

- Kannan, V., Bastas, K., et Devi, R., (2015).** Scientific and economic impact of plant pathogenic bacteria, in Sustainable Approaches to Controlling Plant Pathogenic Bacteria, eds R.V. Kannan, and K. K. Bastas (Boca Raton, FL: CRC Press), p369–392.
- Kapoor, M., Kaur, N., Sharma, C., Kaur, G., Kaur, R., Batra, K., & Rani, J. (2021).** *Citrullus colocynthis* an Important Plant in Indian Traditional System of Medicine. *Pharmacognosy Reviews*, 14(27), 22–27. <https://doi.org/10.5530/phrev.2020.14.4>
- Kazandjieva, J., Grozdev, I., & Tsankov, N. (2007).** Temporary henna tattoos. *Clinics in Dermatology*, 25(4), 383–387.
- Kelmanson, J., Jager, A., Staden, J. (2002).** Zulu medicinal plants with antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*; 69(3): 241-246.
- Kemassi, A. (2008).** Toxicité comparée des extraits de quelques plantes acridifuges du Sahara septentrional Est algérien sur les larves du cinquième stade et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). Mémoire de Magister en Agronomie Saharienne, université Kasdi Merbah-Ouargla, 168 p.
- Kheddache, K., Bettayeb, F. (2018).** Recherche et identification préliminaire de *Pseudomonas savatanoi*, agent causal de la tuberculose dans quelques oliveraies de Bouira. Mémoire de master. Université Akli Mohand Oulhadj – Bouira. p 60.
- King, E.D., Ward, M.K., Raney, D.E., (1954).** Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.* 44: 301-307.
- Kouadri, F. (2018).** In vitro antibacterial and antifungal activities of the Saudi *Lawsonia inermis* extracts against some nosocomial infection pathogens. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12(2), 281–286. <https://doi.org/10.22207/JPAM.12.1.33>
- Lavermicocca, P., Lonigro, S.L., Valerio, F., Evidente, A., & Visconti, A. (2002).** Reduction of olive knot disease by a bacteriocin from *Pseudomonas syringae* pv. *ciccaronei*. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 68, No. 3, (March 2002), pp. 1403-1407, ISSN 0099-2240.
- Leber, M., Leber, M., Schrad, L., Matthieu, L., & Hakim, M. E. O. (2020).** Intoxications par les Cucurbitaceae (notamment *Citrullus colocynthis* (L) Schrad.). *Prise en charge à l'officine* To cite this version : HAL Id : dumas-02447049 pour le Diplôme D'Etat De Docteur En Pharmacie par Intoxications par les Cucurbitaceae .P 149.

## Références bibliographiques

- Leclerc, H., Mossel, D.D. (1989).** Microbiologie du tube digestif, l'eau et les aliments. Doin (ed.), Paris, p. 99.
- Lee, S. H., Chang, K. S., Su, M. S., Huang, Y. S., & Jang, H. D. (2007).** Effects of some Chinese medicinal plant extracts on five different fungi. *Food control*, 18(12), 1547-554.
- Lepoivre, P. (2003).** *Phytopathologie*. De Boeck les presses agronomiques de Gembloux, p 432.
- Li, L., Mendis, N., Trigui, H., Oliver, J.D and Faucher, S.P. (2014).** The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology*. 5 (258)
- Malekzadeh, F. (1968).** Antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* L. *Applied Microbiology*, 16(4), 663–664.
- Maman, S. (2003).** Contribution à l'étude de l'écologie de *Pergularia tomentosa* et son impact sur les ressources sylvopastorales au niveau du massif forestier de Daddaria (Mainé Soroa) ; mémoire d'Ingénieur IPR/IFRA de Katibougou (Mali) 61 p.
- Mann, C. M., Markham, J. L. (1998).** A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of Applied Microbiology*, 84, 538-544.
- Mansfield, J., Geni, S., Magori, S., Citovasky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P. (2012).** Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol*. BSPP And Black Well Publishing Ltd. p 614-629.
- Maqtari, Q. (2018).** In Vitro Antibacterial activity of Different Yemeni Leaves extracts of *Lawsonia inermis* against Some Bacterial Pathogens. *Researchgate.Net*, 2(April), 52–57. [https://www.researchgate.net/profile/Maher\\_Almaqtari/publication/269409921\\_In\\_Vitro\\_Antibacterial\\_activity\\_of\\_Different\\_Yemeni\\_Leaves\\_extracts\\_of\\_Lawsonia\\_inermis\\_against\\_Some\\_Bacterial\\_Pathogens/links/548b31da0cf214269f1dd23a/In-Vitro-Antibacterial-activi](https://www.researchgate.net/profile/Maher_Almaqtari/publication/269409921_In_Vitro_Antibacterial_activity_of_Different_Yemeni_Leaves_extracts_of_Lawsonia_inermis_against_Some_Bacterial_Pathogens/links/548b31da0cf214269f1dd23a/In-Vitro-Antibacterial-activi)
- Meziti, A. (2009).** Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L Étude in vitro et in vivo (Doctoral dissertation, Université de Batna 2), P : 105.
- Michaut, M., Michaut, M. (2019).** Déterminisme environnemental de la contamination par *Escherichia coli* des eaux et des biofilms d ' un hydrosystème karstique .

## Références bibliographiques

- Moroh J, Bahi C, Dje K, Loukou Y, Gued-Guina F, (2008).** Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétique de morinda morindoides sur la croissance in vitro des souches d'*Escherichia coli*. Bulletin de la société royale des sciences de liège : pp44-66
- Motamed, S. M., Naghibi, F. (2010).** Antioxidant activity of some edible plants of the Turkmen Sahra region in northern Iran. Food Chemistry, 119(4), 1637-1642
- Muzzalupo, I ; Vendramin, G.G et Chiappetta, A., (2014).** Genetic Biodiversity of Italian Olives (*Olea europaea*) Germplasm Analyzed by SSR Markers. The Scientific World Journal, 12 p.
- Nakkeeran, S., Fernando, W.G.D., Siddiqui, Z.A. (2005).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria Formulations and its Scope in Commercialization for the Management of Pests and Diseases. In: Siddiqui, Z.A. (Eds) PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/1-4020-4152-7\\_10](https://doi.org/10.1007/1-4020-4152-7_10)
- Nasraoui, B., (2006).** Les champignons parasites des plantes cultivées, biologie, systématique, pathologie, maladies. Centre de publication universitaire, Tunis. p 456.
- OMS. (2008).** Statistiques sanitaires mondiales. Données de l'Observatoire de la santé mondiale. Bibliothèque de l'Organisation Mondiale de la Santé. 119p.
- Orth, D., K. Grif, M. P. Dierich, and R. Wuerzner. (2007).** Variability in tellurite resistance and the ter gene cluster among Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from humans, animals and food. Research in Microbiology. 158 (2):105-111.
- Ouraini, D., Agoumi, A., Ismaïli-Alaoui, M., Alaoui, K., Cherrah, Y., Alaoui, M.A. et Belabbas, M.A. (2007).** Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de *Thymus saturejoides* L. et de *Mentha pulegium* L., comparée aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques. Phytothérapie, **1**: 6–14.
- Palleroni, N.J., Moore, E.R.B. (2004).** Taxonomy of pseudomonads: experimental approaches. In "Pseudomonas", vol. 1. Ramos, J. L. (Eds). Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, Etats-Unis, pp. 3-44.

## Références bibliographiques

- Papageorgiou, V., Assimopoulou, A., Couladouros, E., et al. (1999).** The Chemistry and Biology of Alkannin, Shikonin, and Related Naphthazarin Natural Products. *Angewandte Chemie International*; 38: 270-300.
- Penyalver, R., García, A., Ferrer, A., Bertolini, E., Quesada, J.M., Salcedo, C.I., Piquer, J., Pérez-Panadés, J., Carbonell, E.A., del Río, C., Caballero, J.M., & López, M.M. (2006).** Factors affecting *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi* plant inoculations and their use for evaluation of olive cultivar susceptibility. *Phytopathology*, Vol. 96, No. 3, (March 2006), pp. 313-319.
- Philogene, B.J-R., Fabres, G., Regnault-Roger, C., (2005)-** Protection des cultures, environnement et développement durable :Enjeux pour le XXIe siècle. In Regnault-Roger, C, Fabres G. Philogène, B J.R .Enjeux phytosanitaires pour l' agriculture et l'environnement. Ed. Lavoisier Tec & Doc, Paris,p 1-14.
- Pierangeli, G., Vital, G., Windell Revera, L.J, (2009)..** *Plants Res*, (3)7, 511.
- Pommepuy, M., M. Butin, A. Derrien, M. Gourmelon, R. R. Colwell., and M. Cormier. (1996).** Retention of enteropathogenicity by viable but non culturable *Escherichia coli* exposed to seawater and sunlight. *Applied and Environmental Microbiology*. 62 (12):4621-4626. Ponce AG., Fritz R., Del Valle C., Roura SI. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm Wiss Technol* 2003; 36:679-84.
- Prapagdee, B., Kuekulvong, C. and Mongkolsuk, S. (2008).** Antifungal potential of extracellular metabolite produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. *Int. J. Biol. Sci.* 4, 330-337.
- Protta, U. (1995).** Le malattie dell' olivo. *Informatore Fitopatologico*, No. 12, pp. 16-26, ISSN 0020-0735
- Quesada, J.M., Penyalver, R., Pérez-Panadés, J., Salcedo, C.I., Carbonell, E.A., López, M.M. (2010a).** Dissemination of *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi* populations and subsequent appearance of olive knot disease. *Plant Pathology*, Vol. 59, No. 2, (April 2010), pp. 262–269, ISSN 1365-3059
- Quesada, J.M., Penyalver, R., Pérez-Panadés, J., Salcedo, C.I., Carbonell, E.A., López, M.M. (2010b).** Comparison of chemical treatments for reducing epiphytic

## Références bibliographiques

- Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* populations and for improving subsequent control of olive knot disease. *Crop Protection*, Vol. 29, No. 12, (December 2010), pp. 1413-1420, ISSN 0261-2194
- Regnault-Roger, C., (2002).** De nouveaux phytoinsecticides pour le troisième millénaire. *Biopesticides d'origine végétales*, Ed. Tec & doc. Londres-Paris-New York. p.19-39.
- Rhayour, K. (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*.
- Roberts T, (1989).** Pesticides in drinking water. *Shell Agriculture* 3, 18-20.
- Rouage, N. (2022).** Pathologie et protection des plantes. 1–25.
- Roque H., (1960).** Précis de botanique pharmaceutique, Phanérogamie. Libraire Maloine S.A. p 546.
- Sabarly, V., Bouvet, O., Glodt, J., Clermont, O., Skurnik, D., Diancourt, L., de Vienne, D., Denamur, E., Dillmann, C. (2011).** The decoupling between genetic structure and metabolic phenotypes in *Escherichia coli* leads to continuous phenotypic diversity. *Journal of evolutionary biology* 24, 1559–71. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2011.02287.x>
- Salman, M.T., Ali RShukla, I. (2005).** A study of *Nigella sativa* seed for antimicrobial activity with special reference to resistant bacteria. *Open Med.J.N Medical College, Aligarh Muslim University*.
- Schroeder, M. P., Messing, A. M. (1949).** Methods for comparing the antibacterial activity of essential oils and other aqueous insoluble compound.
- Seitz, L.M., Sauer, D.B., Mohr, H.E., and Aldis, D.F. (1982).** Fungal growth and dry matter loss duringbin storage of high-moisture corn. *Cereal Chem.* 59, 9-14.
- Serdoun Bekri, S., (2013).** Détection de *Pseudomona savastanoi*, agent causal de la tuberculose de l'olivier, Evaluation et comparaison d'une technique d'isolement sue milieu de culture et d'une technique sérologique (immunofluorescence). Mémoire de magister en phytopharmacie. Université d'Oran.
- Smati, M., O. Clermont, A. Bleibtreu, F. Fourreau, A. David, A.-S. Daubie, C. Hignard, O. Loison, B. Picard, and E. Denamur. (2015).** Quantitative analysis of commensal

## Références bibliographiques

- Escherichia coli* populations reveals host-specific enterotypes at the intra-species level. *MicrobiologyOpen*. 4 (4):604-615.
- Smith, E.F. (1920).** Pathogenicity of the olive knot organism on hosts related to the olive. *Phytopathology*, Vol. 12, pp. 271-278.
- Stewart (2015).** *Plos Biologiy*.
- Surico, G. (1986).** Indoleacetic acid and cytokinins in the olive knot disease. An overview of their role and their genetic determinants. In: Bailey J. (ed.). *Biology and Molecular Biology of Plant Pathogen Interactions*, Vol. H1, pp. 315- 329. NATO ASI Series. Springer-Verlag, Berlin, Germany
- Tombesi ,A., Tombesi, S., Saavedra, M.S., Fernández-Escobar, R., Andria, R., Lavini, A., Jardak T. (2007).** Conseil Oléicole Internationale. *Techniques de production en oléiculture*. Madrid (Espagne), ISBN. 1 ère édition, 348p.
- Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B. & Denamur, E.(2010).** The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 8, 207-17.
- Trease, G. E., & Evans, W. C. (1983).** *Pharmacognosy*.
- Tschen, J. S. M., Kuo, W. L. (1985).**Antibiotic inhibition and control of *Rhizoctonia solani* by *Bacillus subtilis*. *Plant protection bulletin*.
- Vaquero, M. R., Serravalle, L. T., De Nadra, M. M., & De Saad, A. S. (2010).** Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from Argentinean herbs infusions. *Food control*, 21(5), 779-785.
- Walk, S. T., E. Alm, E. W., Calhoun, L. M., Mladonicky, J. M., Whittam, T.S. (2007).** Genetic diversity and population structure of *Escherichia coli* isolated from freshwater beaches. *Environmental Microbiology*. 9 (9): 2274-2288
- Wichtl, M., (1999).** *Plantes thérapeutiques, Tradition pratique officinale*. Science et thérapeutique 3ème édition. Edition française par Robert Anton. *Technique et documentation*. pp 262-264.
- Wilson, E.E. (1935).** The olive knot disease: its inception, development and control.*Hilgardia*, 9, pp 233-264.

## Références bibliographiques

Yang, C. S., Chen, J. J., Huang, H. C., Huang, G. J., Wang, S. Y., Chao, L. K., Hsu, C., and Kuo, Y. H. (2017). New flavone and eudesmane derivatives from *Lawsonia inermis* and their inhibitory activity against NO production. *Phytochemistry Letters*, 21(June), 123–127.

Young, J.M., Saddler, G.S., Takikawa, Y., De Boer, S.H., Vaqueterin L., Gardan, L., Gvozdyak, R.I., Stead De . (1996). Names of plant pathogenic bacteria. Review of plant pathology, 75: 721-763

Young, J. (2004). Olive knot and its pathogens. *Australien Plant Pathology*, 33: 33–39.

### Sitographie :

- 1- (<https://pin.it/6nxbeXr>)
- 2- (<https://pin.it/7a7MYTb>)
- 3- *Pergularia tomentosa* - Biodiversité végétale du sud-ouest marocain ([teline.fr](http://teline.fr))

# Annexes



## Annexes

### Annexe 1 : Zones d'inhibition « *E.Coli* » (Totale des répétitions)

Temoin	REP 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Moy
Ethanol	15	13	14	14	14
Méthanol	9	10	10	9	9,5
Eau distillé	6	6	6	6	6

Plantes	Extraits	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Moy
<i>L.inermis</i>	Ethanolique	13	15	13	15	14
	Méthanolique	16	15	14	15	15
	Aqueux	6	6	6	6	6
<i>N.sativa</i>	Ethanolique	8	7	8	8	7,75
	Méthanolique	6	6	6	6	6
	Aqueux	6	6	6	6	6
<i>C.colonyntis</i>	Ethanolique	11	11	12	11	11,25
	Méthanolique	12	11	11	11	11,25
	Aqueux	7	6	6	6	6,25
<i>P.tomentosa</i>	Ethanolique	8	7	8	9	8
	Méthanolique	10	9	9	8	9
	Aqueux	10	10	9	10	9,75

### Annexe 2 : Zone d'inhibition « *Proteus vulgaris* » (Totale des répétitions)

Témoin	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Moy
Ethanol	15	15	14	14	14,5
Méthanol	11	14	11	15	12,75
Eau distillé	6	6	6	6	6

Plantes	Extraits	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Moy
<i>L.inermis</i>	Ethanolique	20	19	20	19	19,5
	Méthanolique	18	20	23	20	20,25
	Aqueux	8	7	8	8	7,75
<i>N.sativa</i>	Ethanolique	21	22	18	22	20,75
	Méthanolique	10	9	9	9	9,25
	Aqueux	10	11	9	6	9
<i>C.colonyntis</i>	Ethanolique	7	8	7	8	7,5
	Méthanolique	10	9	10	10	9,75
	Aqueux	8	7	7	7	7,25
<i>P.tomentosa</i>	Ethanolique	6	6	6	6	6
	Méthanolique	7	7	7	7	7
	Aqueux	8	9	9	8	8,5

## Annexes

### Annexe 3 : Zone d'inhibition « *P.savastanoi* » ( Totale des répétitions)

Témoin	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Moy
Ethanol	12	15	11	14	13
Méthanol	8	8	10	12	9,5
Eau distillé	6	6	6	6	6

Plantes	Extraits	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Moy
<i>L.inermis</i>	Ethanolique	14	14	15	17	15
	Méthanolique	15	15	15	15	15
	Aqueux	7	7	6	6	6,5
<i>N.sativa</i>	Ethanolique	6	6	9	7	7
	Méthanolique	6	6	6	6	6
	Aqueux	6	6	6	6	6
<i>C.colonyntis</i>	Ethanolique*	6	6	6	6	6
	Méthanolique	9	11	8	9	9,25
	Aqueux	7	6	6	7	6,5
<i>P.tomentosa</i>	Ethanolique	9	9	7	7	8
	Méthanolique	7	7	7	7	7
	Aqueux	8	8	8	9	8,25

### Annexe 4 : Combinaison " Lawsonia + Citrillus " (Totale des répétitions)

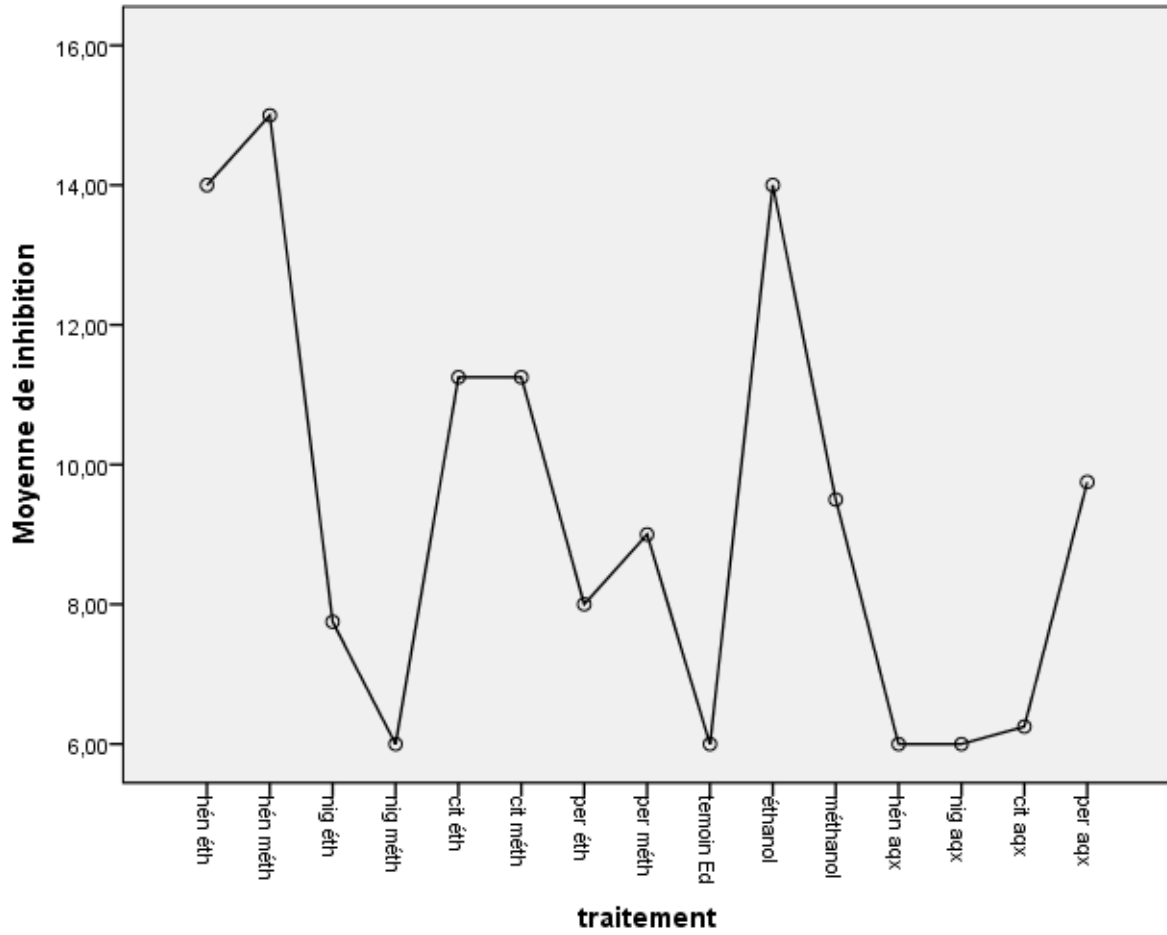
Bactéries	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Moy
<i>E. Coli</i>	16	23	17	19	18,75
<i>Proteus</i>	20	20	20	18	19,5
<i>Pseudomonas</i>	15	15	18	15	15,75

### Annexe 5 : Combinaison " Lawsonia + Nigella "(Totale des répétitions)

Bactéries	Rep1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Moy
<i>E.Coli</i>	21	24	19	20	21
<i>Proteus</i>	20	20	23	19	20,5
<i>Pseudomonas</i>	15	17	18	17	16,75

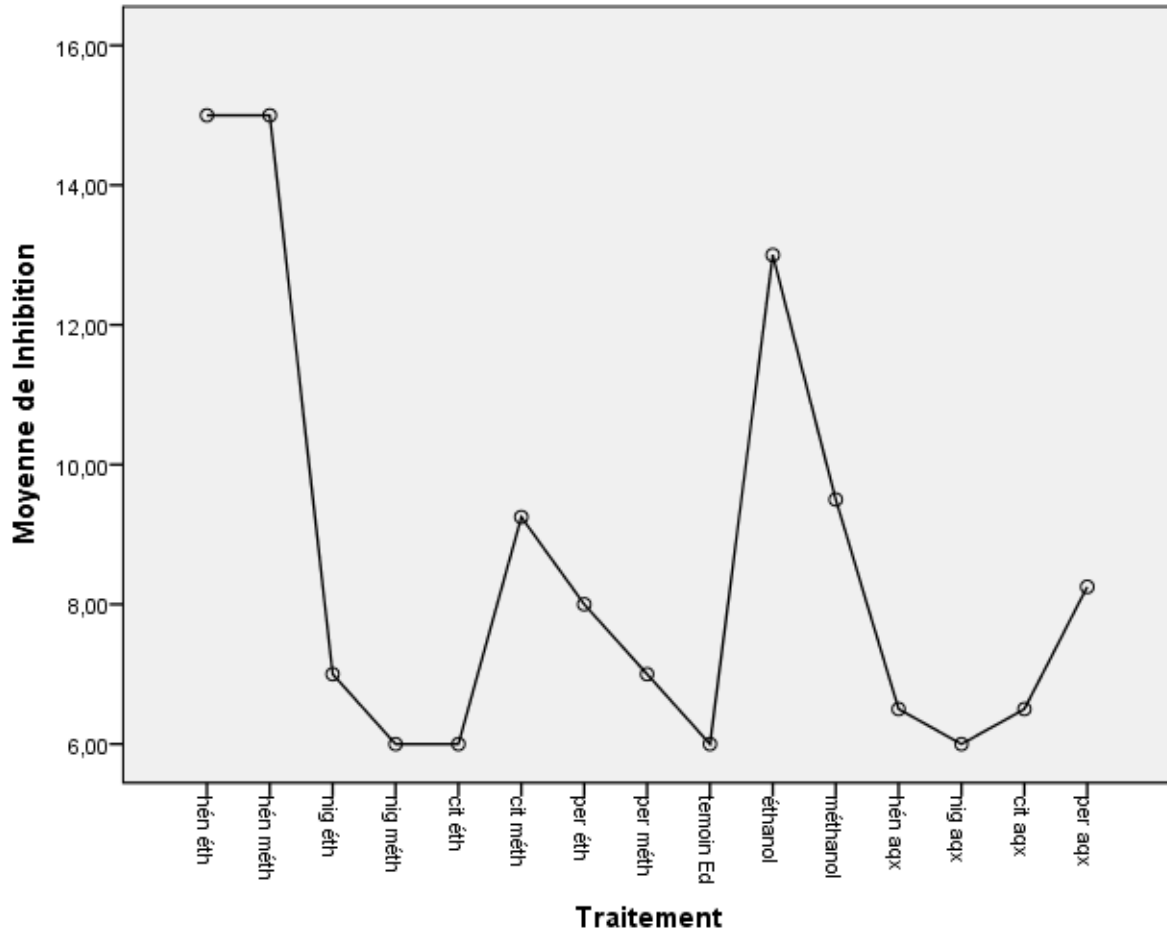
## Annexes

Annexe 6 : Diagramme des moyennes de l'ensemble des extraits (Escherichia coli)



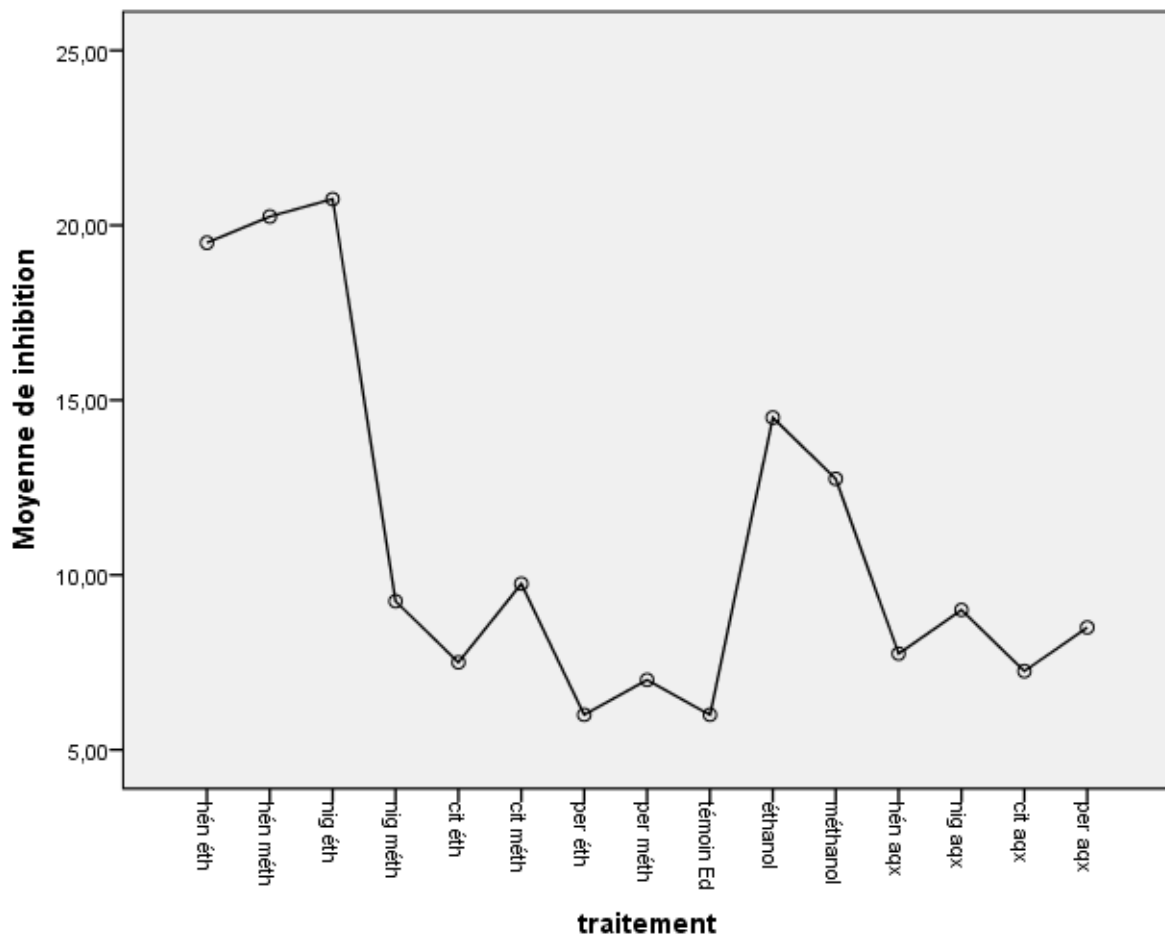
## Annexes

Annexe 7 : Diagramme des moyennes de l'ensemble des extraits (*Pseudomonas savastanoi*)



## Annexes

Annexe 8 : Diagramme de moyenne de l'ensemble des extraits (*Proteus vulgaris*)



## Résumé

### Effet des extraits de quelques plantes spontanées sur quelques bactéries

#### Résumé

Les extraits éthanoliques, méthanoliques et aqueux des quatre plantes (*Lawsonia inermis*, *Nigella sativa*, *Citrillus colonynthis* et *Pergularia tomentosa*) ont été soumis à des tests in vitro dans le but de mettre en évidence leur activité antibactérienne vis-à-vis trois bactéries (*Escherichia coli*, *Pseudomonas savastanoi* et *Proteus*). Une extraction par macération a été réalisée sur les différentes parties de la plante. L'activité antibactérienne a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose. La concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) ont été déterminées pour les extraits bruts qui possèdent un effet antibactérienne. Un test d'association réalisée pour évaluer l'interaction entre les extraits. Et pour faire une comparaison à nos extraits, un test d'antibiotique a été évalué. Les résultats montrent une activité antibactérienne dont l'inhibition de croissance des trois bactéries testées obtenus avec les extraits alcooliques de *L.inermis*, les zones d'inhibition varient entre 15 et 20 mm. L'association entre les extraits a révélé un effet additif dont la zone d'inhibition à augment par rapport à la zone obtenue par l'extrait seul. La valeur de CMI rapportée dans cette étude est  $\geq 2 \mu\text{l/ml}$  avec CMB égal à  $10 \mu\text{l/ml}$  sont les résultats obtenus de l'extrait éthanolique de *L.inermis*. Nos ressort que l'alcool est le meilleur solvant de la réalisation de l'extraction. En conclusion, les résultats éthanoliques et méthanoliques de *Lawsonia inermis* possède une activité antibactérienne remarquable ainsi que sa combinaison avec la nigelle (*Nigella sativa*) pourrait représenter une bonne alternative pour lutter contre les bactéries. Ces résultats doivent être compléter par des études in vivo afin des confirmer l'effet antibactérienne observé.

**Mots clés :** Plantes médicinales, Extraction, Inhibition, Activité antibactérienne, CMI, CMB.

### Effect of extracts of some spontaneous plants on some bacteria

#### Abstract

The ethanolic, methanolic, and aqueous extracts of the four plants (*Lawsonia inermis*, *Nigella sativa*, *Citrillus colonynthis*, and *Pergularia tomentosa*) were put through in vitro experiments in order to demonstrate their antibacterial activity against three bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas savastanoi*, and *Proteus vulgaris*). An extraction by maceration was carried out on the different parts of the plant. The antibacterial activity was evaluated by the agar diffusion method. The minimum inhibitory concentration (MIC) and bactericidal concentration (BMC) were determined for the crude extracts that have an antibacterial effect. An association test was performed to evaluate the interaction between the extracts. In addition, an antibiotic test was performed to compare with our extracts. The results show an antibacterial activity with growth inhibition of the three tested bacteria obtained with the alcoholic extracts of *L. inermis*. The inhibition zones vary between 15 and 20 mm. The association between the extracts revealed an additive effect with an increase in the zone of inhibition compared to the zone obtained with the extract alone. The MIC value reported in this study is  $2 \text{ l/ml}$  with BMC equal to  $10 \text{ l/ml}$ . These are the results obtained from the ethanolic extract of *L. inermis*. Our results show that alcohol is the best solvent for the realization of the extraction. To summarize, the ethanolic and methanolic products of *Lawsonia inermis* have remarkable antibacterial activity, and its combination with nigella (*Nigella sativa*) could be a good alternative to fight bacteria.

**Key words:** Medicinal plants, Extraction, Inhibition, Antibacterial Activity, MIC, MBC.

### تأثير مستخلصات بعض النباتات العفوية على بعض البكتيريا

#### المخلص

خضعت المستخلصات الإيثانولية والميثانولية والمائية للنباتات الأربعة (*Pergularia tomentosa*, *Citrillus Colonynthis*, *Nigella sativa*, *Lawsonia inermis*) لاختبارات في المختبر بهدف إثبات نشاطها المضاد للبكتيريا ضد ثلاث بكتيريا (*Escherichia coli*, *Pseudomonas savastanoi* و *Proteus*). تم إتباع الاستخلاص بالنقع على أجزاء مختلفة من النبات، وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا بواسطة طريقة الانتشار على سطح الجيلوز، وتحديد أقل تركيز مثبط (MIC) وأقل تركيز قاتل (MBC) للمستخلصات الخام التي أظهرت تأثير ضد البكتيريا، وتم إجراء اختبار ارتباط لتقييم التفاعل بين المستخلصات، وللمقارنة مع مستخلصاتها، تم تقييم اختبار المضادات الحيوية. أظهرت النتائج نشاطاً مضاداً للبكتيريا بما في ذلك تثبيط نمو البكتيريا الثلاثة المختبرة التي تم الحصول عليها بالمستخلصات الكحولية لـ *L. inermis*، وتتراوح مناطق التثبيط بين 15 و 20 ملم. أظهر الارتباط بين المستخلصات تأثيراً إضافياً زادت منطقة تثبيطه مقارنة بالمنطقة التي حصل عليها المستخلص وحده. قيمة MIC المذكورة في هذه الدراسة هي 2 ميكرو لتر / مل مع CMB يساوي 10 ميكرو لتر / مل وهي النتائج المتحصل عليها من المستخلص الإيثانولي من *L. inermis*. نجد أن الكحول هو أفضل منيبي لإجراء الاستخلاص. في الختام، فإن النتائج الإيثانولية والميثانولية لـ *Lawsonia inermis* لها نشاط مضاد للبكتيريا، بالإضافة إلى نتائج دمجها مع *nigella* (*Nigella sativa*) يمكن أن تمثل بديلاً جيداً لمحاربة البكتيريا، يجب استكمال هذه النتائج بدراسات في الجسم الحي لتأكيد التأثير المضاد للبكتيريا المتحصل عليه من خلال هذه الدراسة.

**الكلمات المفتاحية:** النباتات الطبية، الاستخلاص، التثبيط، النشاط المضاد للبكتيريا، CMI، CMB.