

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE

جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOÛT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option: Microbiologie appliquée

Intitulé

Potentiel antimicrobien des extraits de *Pulicaria odora* : évaluation *in vitro*

Présenté Par : - BOUKELOUA Zineb
- BOUHADRA Khadidja
- BEN MOUSSA Ahlem

Membres de Jury :

Dr ENNAGHRA Nadjjet

Présidente

MCA. Univ. 20 août 1955- Skikda

Dr MELOUKA Hadda

Promotrice

MCB. Univ. 20 août 1955- Skikda

Dr DJERRAB Leila

Examinatrice

MCB. Univ. 20 août 1955- Skikda

Année universitaire 2024/2025

Remerciements

Au terme de ce travail, nous ne pouvons que rendre grâce à Allah, Le Tout-Puissant, qui nous a accordé la force, la patience et la santé, et qui nous a guidés tout au long de notre parcours académique et scientifique. C'est grâce à Sa miséricorde que nous avons pu surmonter les différentes difficultés rencontrées et atteindre ce stade de réalisation.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadrante, Madame Dr **MELOUKA Hadda**, pour son accompagnement constant, ses orientations précieuses, sa patience et son soutien indéfectible tout au long de ce mémoire. Grâce à elle, nous avons pu mener notre travail dans les meilleures conditions.

Nous exprimons également toute notre gratitude à Madame **Dr ENNAGHRA Nadjat**, présidente du jury, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de superviser cette soutenance, ainsi que pour ses remarques pertinentes qui ont enrichi notre étude.

Nos remerciements les plus profonds vont également à Madame **Dr DJERRAB Leila**, examinatrice, pour le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer et pour ses observations constructives.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent également à Madame **Dr GUERGUEB Salha**, pour son aide précieuse dans l'identification botanique de la plante étudiée et pour sa disponibilité.

Nous remercions aussi chaleureusement l'ensemble du personnel technique des laboratoires, pour leur aide précieuse et leur disponibilité qui ont facilité notre travail au quotidien.

Enfin, nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation universitaire, et qui ont joué un rôle essentiel dans notre parcours académique. À vous tous, nous disons merci du fond du cœur.

Dédicace

Louange à Dieu, pour Sa grâce infinie et Sa miséricorde inépuisable...

C'est par Lui que naît toute lumière et que chaque réussite trouve son sens.

À mes chers parents, Youssef et Yamina...

Votre amour, vos prières et votre patience ont été la lumière de mon chemin.

Qu'Allah vous bénisse, vous protège et vous récompense pour tout.

À Khadidja, Zahra et Saad, mes êtres chers disparus...

Votre souvenir est ma force. Qu'Allah vous accorde Sa miséricorde et illumine vos tombes.

À mes frères et sœurs : Fatima, Rabia, Abdelrahmane, Malika, Fadila et Abdelhamid...

Merci pour votre amour, vos prières et votre soutien constant.

À mes tantes : **Aïcha, Faïza**, et à mes oncles : **Ahsene et Ammar**...

Votre soutien discret a été une lumière précieuse. Merci du fond du cœur.

À mon enseignante de Coran, Yasmina...

Tu m'as appris que chaque verset est une lumière et chaque mot peut illuminer un destin.

Qu'Allah te récompense pour tout le bien que tu as semé en moi.

À Madame Dr Melouka Hadda, mon encadrante bienveillante...

Vous avez été bien plus qu'une directrice de mémoire. Votre patience, vos conseils et votre confiance m'ont portée. Merci pour votre accompagnement sincère.

À Khadidja, Ahlam, Aya et Hiba...

Vous avez été mon refuge dans les moments d'épuisement, mes compagnes de route et d'effort.

Merci pour votre amitié fidèle et votre présence apaisante.

Et à tous ceux qui m'ont soutenue dans le silence, ou qui ont prié pour moi en secret...

Je vous dédie ce modeste accomplissement. ♥

Zineb

Dédicace

Avant toute chose, je rends grâce à **Allah**, Le Tout-Puissant, qui m'a soutenue et m'a accordé la patience et la force nécessaires pour achever ce travail tout au long de ces années d'études. Louange à Lui pour chaque réussite et chaque bénédiction.

Je dédie humblement ce travail, fruit de persévérance et d'efforts, à :

Ma chère mère, source d'amour inconditionnel, de tendresse et de sacrifices. Tu as toujours été mon refuge et ma force. Que Dieu te protège et te comble de santé et de sérénité.

Mon père bien-aimé, modèle de patience et de dévouement, qui m'a transmis l'amour du travail et de la persévérance. Qu'**Allah** te récompense pour tout ce que tu as fait pour nous.

Mes chères sœurs pour votre amour sincère et votre soutien constant. Je vous souhaite une vie pleine de succès et d'épanouissement.

Mes chers frères merci pour votre soutien et votre présence constante dans ma vie.

J'adresse également mes plus sincères remerciements à ma **professeure encadrante, Madame Malouka Hadda**, pour ses orientations précieuses, sa patience, et sa confiance tout au long de ce travail. Recevez toute ma gratitude.

Je tiens aussi à remercier mes chères amies **Zineb** et **Ahlam**, pour votre présence constante, vos encouragements sincères et tous les beaux moments partagés. Votre amitié a été un vrai soutien tout au long de ce parcours.

À tous ceux que j'aime,

À mes camarades du Master 2 Microbiologie Appliquée,

À tous ceux qui m'ont soutenue, de près ou de loin...

Merci du fond du cœur ♥

khadidja

Dédicace

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

(يرفع الله الدين امنوا منكم والدين اوتوا العلم درجات)

Peu importe les mots que j'écrirai, rien ne saurait être plus sincère que la parole d'**Allah**.
Louange à **Allah**, par Sa grâce les objectifs se réalisent, les chemins se complètent avec Son aide, et les rêves deviennent réalité par Sa bénédiction.

Louange à **Allah**, aucun effort n'a été accompli sans Son soutien, et aucun pas sans Sa faveur.

Louange à Celui qui m'a accordé ce savoir et m'a aidée à l'achever.

Je dédie avec tout mon amour le fruit de ma réussite :

À **moi-même**, cette âme forte et courageuse qui a surmonté tous les obstacles malgré les difficultés.

À **mon père Boudjemâa**, mon pilier, ma fierté, celui dont je porte le nom avec honneur. Que Dieu l'ait comblé de dignité et de respect, celui qui a enlevé les épines de mon chemin et m'a appris que la fatigue pour les rêves est un honneur, non une perte.

À **ma chère mère Alima**, source de tendresse infinie, mon refuge chaleureux. Celle qui m'a enseigné les valeurs avant les lettres, qui a été la lumière dans mon obscurité, la main invisible qui a retiré les obstacles, et dont les prières m'ont portée nuit et jour.

À **mes sœurs bien-aimées : Bouchra, Sarah, Nesrine**, et au petit trésor **Jaber**. Vous êtes les bénédictions que je remercie chaque jour. Vous êtes le mur sur lequel je me suis appuyée à chaque instant.

À **mes amies fidèles : Khadidja, Zineb, Rayane, Chaïma, Farha et Amira**. Compagnes de fatigue et partenaires de joie, vous avez embelli mon chemin par votre amour et étiez mes compagnes précieuses dans chaque instant.

À **ma supervisrice précieuse, Mme Hadda Mellouka**, qui fut plus qu'une simple encadrante. Une lumière éclairant mon chemin, une main généreuse tendue, une source d'inspiration qui m'a poussée à continuer malgré la fatigue. Merci pour votre patience, votre soutien et votre encouragement constant.

À **mon fiancé bien-aimé Aymen, mon roc**, celui qui m'a soutenue quand je me sentais faible, mon présent rassurant et mon avenir prometteur. Merci pour ta présence constante, ton encouragement et ton amour silencieux mais puissant. Ce succès porte une part de ton âme.

À **ma grand-mère bien-aimée Daouia**, qu'**Allah** lui fasse miséricorde, qui remplissait mon cœur de force par ses paroles et ses prières, et dont la mémoire est toujours vivante dans mon esprit. Ce succès lui revient en grande partie. Je prie pour qu'elle en ressente la joie dans les jardins du Paradis comme elle l'attendait ici-bas.

À **tous ceux qui ont cru en moi, même d'un mot, merci à vous d'avoir fait partie de ce voyage.**

Ce diplôme n'est pas qu'un simple papier...

C'est une histoire écrite avec l'encre de la patience et signée par un espoir inébranlable.

Aujourd'hui, je vous l'offre, car la joie n'est complète qu'avec vous. ♥

Ahlem

SOMMAIRE

	Page
REMERCIEMENTS	
DEDICACES	
SOMMAIRE	
RESUME	i
ABSTRACT	ii
المخلص	iii
LISTE DES FIGURES	iv
LISTE DES TABLEAUX	v
LISTE DES ABREVIATIONS	vi
INTRODUCTION	
	01
PARTIE THEORIQUE	
Chapitre I : L'antibio-résistance	
1. Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques	05
1.1 Inactivation ou modification de l'antibiotique	05
1.2 Modification de la cible de l'antibiotique	05
1.3 Efflux actif	05
1.4 Réduction de la perméabilité membranaire	05
1.5 Acquisition de gènes de résistance	06
2. Causes principales de la résistance bactérienne aux antibiotiques	06
2.1 Utilisation excessive d'antibiotiques	06
2.2 Transmission croisée des bactéries résistantes	07
2.3 Environnement et contamination	07
3. Impact sanitaire, social et économique	07
1.3 Impact sanitaire	07
3.2 Impact social	08
3.3 Impact économique	08
4. Stratégies actuelles de lutte contre la résistance bactérienne aux antibiotiques	09
4.1 Optimisation de l'utilisation des antibiotiques	09
4.2 Contrôle de l'infection et hygiène	09
4.3 Développement de nouveaux antibiotiques et alternatives thérapeutiques	09
4.4 Surveillance et réglementation	10
Chapitre II : La phytothérapie et plantes médicinales	
1. La phytothérapie	12
1.2 Les différentes formes de phytothérapie	12
1.2.1 Gemmothérapie	12

1.2.2 Aromathérapie	13
1.2.3 Phytothérapie pharmaceutique	13
1.2.4 Herboristerie	13
2. Les plantes médicinales	14
2.1 Définition d'une plante médicinale	14
3. Les principes actifs des plantes médicinales	14
3.1. Les métabolites primaires : les briques de la vie végétale	14
3.2. Les métabolites secondaires : une stratégie de défense sophistiquée	15
4. Mécanismes d'action antimicrobiens des métabolites secondaires	16
5. Les avantages et limites des extraits végétaux par rapport aux antibiotiques	17

Chapitre III : *Pulicaria odora* – Monographie botanique.

1. Description morphologique	19
2. Classification botanique	20
3. Répartition géographique	21
4. Les Usages de <i>Pulicaria odora</i> dans la médecine traditionnelle	21
5. Études phytochimiques et biologiques antérieures	22
6. Potentiel antibactérien documenté	23

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériel et Méthodes

1. Matériel	26
1.1. Matériel végétal	26
1.1.1. Choix de la plante	26
1.1.2. Site de récolte	26
1.1.3. Préparation des échantillons végétaux	27
2. Méthodes	28
2.2. Préparation des extraits de <i>P. odora</i>	28
2.2.1. Préparation de l'extrait méthanolique	28
2.2.2. Préparation de l'extrait acétonique	29
2.2.3. Rendement en extrait sec	30
2.3. Confirmation des souches	30
2.3.1. Culture sur milieu gélosé	30
2.3.2. Vérification de pureté	30
2.3.3. Profil de sensibilité microbienne par diffusion en disques	30
2.4. L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de <i>P. odora</i>	31
2.4.1. Méthodes de diffusion en disques sur milieu solide	31
2.4.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)	34

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Résultats	36
1.1. Rendement en extrait sec	36
1.2. Étude microscopique	36
1.2.1. Bactéries	37
1.2.2. Levure	38
1.3. Profils de sensibilité : antibiogramme et antifongigramme	39
1.3.1. L'antibiogramme	39
1.3.2. L'antifongigramme	40
1.4. L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de <i>P. odora</i> par la méthode de diffusion en disque	41
1.5. Détermination de la CMI par méthode de microdilution en microplaque	48
2. Discussion	52
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	55
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	I

Résumé

Depuis des siècles, les plantes médicinales constituent la principale source de remèdes naturels et sont utilisées en médecine traditionnelle par différentes civilisations. Dans ce contexte, notre étude visait à évaluer l'activité antimicrobienne d'extraits de *Pulicaria odora*, une plante bien connue de la médecine populaire algérienne.

Deux types d'extraits ont été préparés à partir de poudre sèche de matière végétale : un extrait méthanolique et un extrait acétonique, par macération suivie d'une filtration et d'une évaporation pour concentrer les échantillons. L'effet antimicrobien de ces extraits a été testé sur cinq souches microbiennes de référence, dont deux bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et sous-espèces de *Bacillus spizizenii* ATCC 6633), deux bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginos* DSM1117) et une levure pathogène (*Candida albicans* d'origine clinique).

L'activité antimicrobienne a été évaluée à l'aide de deux méthodes principales : la méthode de diffusion sur disque pour mesurer le diamètre des zones d'inhibition et la méthode de la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour déterminer la concentration minimale requise pour inhiber la croissance microbienne. Les résultats ont montré que l'extrait méthanolique était plus efficace, notamment contre les bactéries Gram-positives, tandis que les bactéries Gram-négatives présentaient une résistance relative.

Ces résultats confirment que *P. odora* possède des propriétés prometteuses comme source naturelle de composés antimicrobiens, notamment lorsqu'il est extrait à l'aide de solvants polaires tels que le méthanol. Cette étude encourage la poursuite des recherches visant à isoler et identifier les composés actifs responsables de cette activité biologique.

Mots-clés : Activité antimicrobienne, extraits méthanoliques, extraits acétoniques, plantes médicinales et *Pulicaria odora*.

Abstract

For centuries, medicinal plants have been the main source of natural remedies and have been used in traditional medicine across different civilizations. In this context, our study aimed to evaluate the antimicrobial activity of extracts of *Pulicaria odora*, a plant well known in Algerian folk medicine.

Two types of extracts were prepared from dry powdered plant material: a methanolic extract and an acetone extract, using maceration followed by filtration and evaporation to concentrate the samples. The antimicrobial effects of these extracts were tested against five reference microbial strains, including two Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Bacillus spizizenii* ATCC 6633), two Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* DSM 1117) and one pathogenic fungus (*Candida albicans* of clinique origine).

Antimicrobial activity was evaluated using two main methods: the disk diffusion method to measure the diameters of the inhibition zones, and the minimum inhibitory concentration (MIC) method to determine the lowest concentration required to inhibit microbial growth. The results showed that the methanolic extract was more effective, particularly against Gram-positive bacteria, while Gram-negative bacteria showed relative resistance.

These results confirm that *Pulicaria odora* has promising properties as a natural source of antimicrobial compounds, especially when extracted using polar solvents such as methanol. This study encourages further research to isolate and identify the active compounds responsible for this biological activity.

Keywords: Antimicrobial activity , Acetonic extracts, Medicinal plants, Methanolic extracts and *Pulicaria odora*.

المخلص

على مدى القرون كانت النباتات الطبية المصدر الرئيسي للعلاجات الطبيعية وقد استخدمت في الطب التقليدي عبر مختلف الحضارات. في هذا السياق هدفت دراستنا الى تقييم النشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات نبات *Pulicaria odora* وهو نبات معروف في الطب الشعبي الجزائري.

تم إعداد نوعين من المستخلصات من مادة نباتية جافة ومطحونة، أحدهما ميثانولي والآخر أسيتوني، باستخدام طريقة النقع، ثم التصفية والتبخير بهدف تركيز العينات. تم تقييم الفعالية المضادة للميكروبات لهذه المستخلصات ضد خمس سلالات ميكروبية مرجعية، تضمنت بكتيرييتين موجبتَي الغرام (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) و (*Bacillus spizizenii* ATCC 6633)، وبكتيرييتين سالبتَي الغرام (*Escherichia coli* ATCC 25922) و (*Pseudomonas aeruginosa* DSM 1117)، بالإضافة إلى فطر ممرض واحد هو *Candida albicans*.

تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقتين رئيسيتين: طريقة انتشار القرص لقياس أقطار التثبيط، وطريقة التركيز المثبط الأدنى (IMC) لتحديد أقل تركيز مطلوب لتثبيط نمو الميكروبات. أظهرت النتائج أن المستخلص الميثانولي كان أكثر فعالية، وخاصةً ضد البكتيريا موجبة الجرام، بينما أظهرت البكتيريا سالبة الجرام مقاومة نسبية. تؤكد هذه النتائج أن *Pulicaria odora* تتمتع بخصائص واعدة كمصدر طبيعي للمركبات المضادة للميكروبات، وخاصةً عند استخلاصها باستخدام مذيبات قطبية مثل الميثانول. تشجع هذه الدراسة على إجراء المزيد من الأبحاث لعزل وتحديد المركبات الفعالة المسؤولة عن هذا النشاط البيولوجي.

الكلمات المفتاحية : المستخلصان الميثانولي والأسيتوني- النشاط المضاد للميكروبات - نباتات طبية - *Pulicaria odora*.

LISTE DES ABREVIATION

Abréviation	Signification
%	Pourcentage
°C	Degré Celsius
ADN	Acide Désoxyribonucléique
ATCC	American Type Culture Collection
BN	Bouillon nutritif
CC BY-SA	<i>Creative Commons Attribution – Share Alike</i> (Licence d'utilisation de contenu)
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMI	Concentration minimale inhibitrice
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DSM	<i>Deutsche Sammlung von Mikroorganismen</i> (German Collection of Microorganisms)
G	Gramme
Gram+	Bactéries à Gram positif
Gram-	Bactéries à Gram négatif
L	<i>Linnaeus</i> (abréviation du nom du botaniste ayant décrit l'espèce)
mL	Millilitre
mg/mL	Milligramme par millilitre
MH	Gélose Muller Hinton
Mm	Millimètre
MRSA	Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
µL	Microlitre
PBP	Penicillin-Binding Protein
POWO	Plants of the World Online (base de données botanique)
Rchb	Reichenbach (co-auteur botanique de la dénomination de l'espèce)
WHO	<i>World Health Organization</i>

LISTE DES FIGURES

N°	Titre	Page
01	<i>Pulicaria odora</i> (L.) Rchb en floraison	20
02	Répartition géographique de <i>Pulicaria odora</i>	21
03	Localisation géographique du site de récolte des échantillons de <i>P. odora</i> .	26
04	Préparation du matériel végétal.	27
05	les étapes de préparation des extraits	29
06	Méthodes de diffusion en disques sur milieu solide.	32
07	Disposition des puits d'une microplaque à 96 puits utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne d'un extrait végétal par la méthode de dilution en milieu liquide.	35
08	Coloration de Gram ; observation microscopique (objectif ×100 à l'huile à immersion)	38
09	Observation microscopique de <i>Candida albicans</i> après coloration au bleu de méthylène (objectif ×100 à l'huile à immersion).	38
10	Résultat de l'antibiorésistances des souches bactériennes testées vis-à-vis de cinq antibiotiques	40
11	Résultat de teste antifongique de la nystatine et du fluconazole contre <i>Candida albicans</i>	41
12	La moyenne des diamètres des zones d'inhibition vis à vis de <i>Staphylococcus aureus</i> en fonction des deux extraits de <i>Pulicaria odora</i> .	42
13	Résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique (a) et acétonique (b) de <i>Pulicaria odora</i> vis-à-vis de <i>Staphylococcus aureus</i> .	42
14	La moyenne des diamètres des zones d'inhibition vis à vis de <i>Bacillus spizizenii</i> en fonction des deux extraits de <i>Pulicaria odora</i>	43
15	Résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique (a) et acétonique (b) de <i>Pulicaria odora</i> vis-à-vis de <i>Bacillus spizizenii</i> .	43
16	Résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique (a) et acétonique (b) de <i>Pulicaria odora</i> vis-à-vis de <i>Escherichia coli</i> .	44
17	La moyenne des diamètres des zones d'inhibition vis à vis de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fonction des deux extraits de <i>Pulicaria odora</i>	45
18	Résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique (a) et acétonique (b) de <i>Pulicaria odora</i> vis-à-vis de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
19	La moyenne des diamètres des zones d'inhibition vis à vis de <i>Candida albicans</i> en fonction des deux extraits de <i>Pulicaria odora</i>	46
20	Résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique (a) et acétonique (b) de <i>Pulicaria odora</i> vis-à-vis de <i>Candida albicans</i> .	46

LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre	Page
01	Principaux métabolites primaires et leurs fonctions	15
02	Principaux métabolites secondaires et leurs rôles biologiques	16
03	Taxonomie	20
04	Souches microbiennes utilisées dans cette étude	28
05	Liste des souches microbiennes testés, leur type et leur famille pharmacologique	31
06	Caractéristiques de l'extrait de la plante <i>P. odora</i>	36
07	Résultats de l'antibiogramme des souches bactériennes de référence.	39
08	Resultats de l'antifongigramme	40
09	Diamètres des zones d'inhibition (en mm) induites par l'extrait méthanolique de <i>Pulicaria odora</i> contre différentes souches microbiennes.	47
10	Diamètres des zones d'inhibition (en mm) induites par l'extrait acétonique de <i>Pulicaria odora</i> contre différentes souches microbiennes	48
11	Résultats des CMI obtenues par la méthode de microdilution sur microplaque d'extrait méthanolique de <i>Pulicaria odora</i> .	49
12	Résultats des CMI obtenues par la méthode de microdilution sur microplaque d'extrait acétonique de <i>Pulicaria odora</i>	49

Introduction

INTRODUCTION

La progression alarmante de la résistance des bactéries pathogènes aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'un des enjeux sanitaires les plus préoccupants de la médecine moderne. Selon l'Organisation mondiale de la santé (**WHO, 2020**), la perte d'efficacité des traitements antibiotiques menace les progrès majeurs accomplis ces dernières décennies dans la prévention et la prise en charge des maladies infectieuses. Ce phénomène résulte principalement de l'usage excessif et souvent inapproprié des antibiotiques, tant en médecine humaine qu'en élevage, générant une pression de sélection qui favorise l'émergence de souches bactériennes multirésistantes. Face à cette menace croissante, la communauté scientifique s'emploie activement à développer de nouvelles approches thérapeutiques, à la fois efficaces et durables.

Dans cette quête d'alternatives, les plantes médicinales suscitent un intérêt croissant en raison de leur richesse exceptionnelle en substances bioactives naturelles. Depuis des millénaires, les médecines traditionnelles du monde entier recourent aux plantes aromatiques et médicinales pour traiter une grande variété d'affections. Ces végétaux sont particulièrement réputés pour leur teneur en métabolites secondaires phénols, flavonoïdes, terpénoïdes et alcaloïdes (**Cowan, 1999**), dont les propriétés antimicrobiennes sont bien documentées. Ces composés agissent selon divers mécanismes : perturbation de l'intégrité de la membrane cellulaire bactérienne, inhibition d'enzymes essentielles à la survie bactérienne, ou encore interférence avec la synthèse et la réplication de l'ADN.

Parmi les plantes d'intérêt thérapeutique, *Pulicaria odora*, une espèce herbacée de la famille des Asteraceae, se distingue par ses usages traditionnels multiples. Présente principalement dans les zones arides et semi-arides d'Afrique du Nord, cette plante est utilisée en médecine populaire pour soulager les troubles digestifs, les inflammations et les infections des voies respiratoires. Ses extraits sont particulièrement riches en huiles essentielles, composés phénoliques et flavonoïdes, dont plusieurs ont montré des activités antibactériennes prometteuses (**Bekkara et al., 2018 ; Bouharb et al., 2021**). Parmi les molécules identifiées, des composés tels que le camphre, le bornéol et l'eugénol ont démontré une capacité à perturber les membranes bactériennes, inhibant ainsi la croissance et la prolifération des microorganismes pathogènes (**Bencheikh et al., 2021**).

Toutefois, malgré ces résultats encourageants, les connaissances actuelles sur l'étendue et les mécanismes précis de l'activité antibactérienne de *P. odora* demeurent limitées et fragmentaires. Il devient ainsi essentiel de mener des investigations approfondies pour mieux caractériser le potentiel antimicrobien de cette plante et identifier les souches bactériennes les plus sensibles à ses extraits.

Dans cette optique, le présent mémoire se propose d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits de *P. odora* à l'aide de méthodes microbiologiques rigoureuses. L'objectif final est de contribuer à la valorisation scientifique de cette espèce végétale et d'envisager son intégration future dans des stratégies thérapeutiques alternatives face à l'antibiorésistance.

The text is framed by two large, green, stylized brackets. The left bracket is on the left side, and the right bracket is on the right side, both with rounded ends.

Partie
Théorique

Chapitre I :

L'antibiorésistance

1. Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques

Les bactéries peuvent développer différents mécanismes leur permettant de résister aux antibiotiques, ce qui complique grandement le traitement des infections. Ces mécanismes se répartissent principalement en plusieurs catégories : l'inactivation ou la modification de l'antibiotique, la modification de la cible moléculaire, l'activation de systèmes d'efflux pour expulser l'antibiotique, ainsi que la réduction de la perméabilité de la membrane cellulaire.

1.1. Inactivation ou modification de l'antibiotique

Certaines bactéries produisent des enzymes capables de dégrader ou de modifier chimiquement les antibiotiques, les rendant ainsi inefficaces. C'est notamment le cas des bêta-lactamases, des enzymes qui hydrolysent les antibiotiques bêta-lactamines, comme la pénicilline. Ces enzymes détruisent la structure du noyau bêta-lactame, empêchant ainsi l'antibiotique de se fixer à sa cible, la protéine de liaison aux pénicillines (PBP) (Rice, 2017).

1.2. Modification de la cible de l'antibiotique

Certaines bactéries altèrent les structures ciblées par les antibiotiques afin d'empêcher leur fixation efficace. Par exemple, des mutations dans les gènes impliqués dans la synthèse de la paroi bactérienne peuvent conférer une résistance aux glycopeptides, comme la vancomycine (Liu et al., 2011). De même, des modifications au niveau des ribosomes peuvent rendre les bactéries insensibles aux antibiotiques macrolides.

1.3. Efflux actif

Certaines bactéries possèdent des pompes d'efflux qui expulsent activement les antibiotiques hors de la cellule, diminuant ainsi leur concentration à l'intérieur et réduisant leur efficacité. Ces systèmes de pompes jouent un rôle important dans la résistance à des antibiotiques à large spectre, tels que les fluoroquinolones et les tétracyclines (Li et Nikaido, 2009).

1.4. Réduction de la perméabilité membranaire

Certaines bactéries modifient la structure de leur membrane externe, en particulier les porines, qui sont des canaux facilitant l'entrée des antibiotiques dans la cellule. En réduisant cette perméabilité, elles empêchent les molécules d'antibiotiques de pénétrer, limitant ainsi leur action. Ce mécanisme est notamment observé chez les bactéries à Gram négatif, résistantes à certaines pénicillines et céphalosporines (**Piddock, 2006**).

1.5. Acquisition de gènes de résistance

Les bactéries peuvent acquérir des gènes de résistance par transfert horizontal, un mécanisme qui inclut la conjugaison, la transformation et la transduction. Ce processus favorise une propagation rapide de la résistance au sein des populations bactériennes. Les gènes concernés sont souvent localisés sur des plasmides ou d'autres éléments génétiques mobiles, comme les transposons (**Davies et Davies, 2010**).

2. Causes principales de la résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance bactérienne aux antibiotiques est un phénomène multifactoriel, influencé par plusieurs causes majeures. Parmi celles-ci figurent l'usage excessif ou inapproprié des antibiotiques, la transmission croisée entre patients ou entre milieux, ainsi que certains facteurs environnementaux. Ensemble, ces éléments favorisent l'émergence et la dissémination de souches bactériennes résistantes, rendant le traitement des infections de plus en plus difficile.

2.1. Utilisation excessive d'antibiotiques

L'usage inapproprié ou excessif d'antibiotiques, tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire, constitue l'un des principaux facteurs de développement de la résistance bactérienne. Cela inclut notamment la prescription d'antibiotiques pour traiter des infections d'origine virale contre lesquelles ces médicaments sont inefficaces ainsi que l'automédication et le non-respect des schémas thérapeutiques prescrits (**World Health Organization [WHO], 2014**).

Dans le domaine agricole, l'utilisation prophylactique des antibiotiques, notamment pour stimuler la croissance des animaux, a également contribué à aggraver le phénomène (**Van Boeckel et al., 2015**). Cette pression sélective favorise la survie et la multiplication des souches bactériennes résistantes, tandis que les souches sensibles sont éliminées.

2.2. Transmission croisée des bactéries résistantes

La transmission croisée de bactéries résistantes peut survenir aussi bien en milieu communautaire qu'en milieu hospitalier. Les établissements de santé sont particulièrement exposés à ce risque, notamment en raison de la présence de patients immunodéprimés ou longuement hospitalisés, souvent colonisés par des souches multirésistantes (**Piddock, 2006**). Une hygiène insuffisante comme le non-respect du lavage des mains ou l'usage d'équipements médicaux non stériles contribue fortement à la propagation de ces agents pathogènes. En milieu hospitalier, la transmission nosocomiale de bactéries résistantes constitue un problème majeur, notamment dans le cas du *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA).

2.3. Environnement et contamination

L'environnement joue un rôle important dans la dissémination des bactéries résistantes. Les antibiotiques utilisés dans les secteurs médical et agricole se retrouvent fréquemment dans les eaux usées, les sols et les milieux aquatiques (**Martínez et al., 2015**). Ces réservoirs environnementaux peuvent contenir des concentrations sublétales d'antibiotiques, créant des conditions favorables à la sélection et à la prolifération des bactéries résistantes. Par ailleurs, ces milieux favorisent les échanges génétiques entre bactéries, notamment par l'intermédiaire de plasmides et de transposons, facilitant ainsi la diffusion des gènes de résistance.

3. Impact sanitaire, social et économique

La résistance bactérienne aux antibiotiques constitue une menace croissante pour la santé publique à l'échelle mondiale. Ses conséquences sont multiples et profondes, affectant à la fois la santé des individus, l'efficacité des systèmes de soins, ainsi que les économies nationales et mondiales. L'impact de ce phénomène peut être analysé sous trois angles principaux : sanitaire, social et économique.

3.1. Impact sanitaire

La résistance bactérienne constitue avant tout un enjeu sanitaire majeur, car elle compromet l'efficacité des traitements antibiotiques. Elle entraîne un allongement de la durée des infections, une aggravation des symptômes, ainsi qu'une augmentation significative des taux de mortalité. Les infections provoquées par des bactéries résistantes, telles que *S. aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) ou *Escherichia coli* résistant aux carbapénèmes, sont particulièrement difficiles à traiter et peuvent engendrer de graves complications (WHO, 2014).

Les personnes les plus vulnérables notamment les patients immunodéprimés, les personnes âgées ou celles subissant des interventions chirurgicales sont les plus exposées à ces infections. Par ailleurs, la progression de la résistance bactérienne favorise l'émergence de *superbactéries*, des souches multirésistantes capables d'échapper à l'action des antibiotiques les plus puissants, mettant en péril les avancées médicales modernes.

3.2. Impact social

La résistance aux antibiotiques a aussi des conséquences importantes sur la société. Quand les infections ne peuvent pas être soignées facilement, les patients restent plus longtemps à l'hôpital, ce qui surcharge les services de santé et augmente le risque de nouvelles infections liées à l'hôpital. Cette situation crée aussi un stress et une souffrance pour les malades et leurs proches, qui doivent faire face à des infections difficiles à guérir (Laxminarayan et al., 2013). De plus, le recours plus fréquent aux antibiotiques pour traiter ces infections résistantes peut conduire à une consommation excessive de médicaments, ce qui aggrave encore le problème de la résistance.

3.3. Impact économique

La résistance bactérienne a un coût économique très élevé. D'après une étude de l'Organisation mondiale de la santé (WHO, 2020), ce phénomène pourrait entraîner des pertes économiques mondiales atteignant 100 000 milliards de dollars d'ici 2050 (O'Neill, 2014). Ces coûts s'expliquent principalement par l'allongement des hospitalisations, la nécessité de traitements plus longs et souvent en soins intensifs pour soigner les infections résistantes, ainsi que par les dépenses liées à la recherche de nouveaux antibiotiques.

En plus de cela, la résistance réduit la productivité des travailleurs malades. Dans les pays en développement, cette situation peut créer un cercle vicieux, renforçant la pauvreté et aggravant l'accès aux soins.

4. Stratégies actuelles de lutte contre la résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques représente un défi majeur pour la santé publique mondiale. Pour freiner sa progression et préserver l'efficacité des traitements, plusieurs stratégies sont déployées. Celles-ci combinent des mesures de prévention, une meilleure gestion et utilisation des antibiotiques, ainsi que des efforts de recherche et d'innovation visant à développer de nouveaux antibiotiques ou des alternatives thérapeutiques.

4.1. Optimisation de l'utilisation des antibiotiques

Pour lutter efficacement contre la résistance, il est essentiel de limiter l'usage excessif des antibiotiques. Cela passe par une gestion stricte des prescriptions, en ne les administrant que lorsque c'est vraiment nécessaire et en évitant leur usage pour les infections virales (**Laxminarayan et al., 2013**). Des démarches comme la médecine fondée sur les preuves et des politiques de prescription rigoureuses dans les hôpitaux ont permis de réduire la résistance. Le concept de « stewardship antimicrobien » encourage aussi une utilisation plus ciblée, en choisissant l'antibiotique le mieux adapté à chaque infection.

4.2. Contrôle de l'infection et hygiène

La prévention des infections est un élément essentiel pour lutter contre la résistance bactérienne. Des mesures d'hygiène rigoureuses, comme le lavage régulier des mains, la désinfection des surfaces dans les hôpitaux, et l'utilisation de matériel médical stérile, sont indispensables pour limiter la transmission des bactéries résistantes dans les établissements de santé (**Piddock, 2006**). Les protocoles destinés à prévenir les infections nosocomiales jouent un rôle crucial pour empêcher la propagation de ces souches résistantes dans les hôpitaux et autres structures de soins.

4.3. Développement de nouveaux antibiotiques et alternatives thérapeutiques

La mise au point de nouveaux antibiotiques capables de contrer les mécanismes de résistance reste une priorité, même si ce domaine a souffert d'un manque d'investissement ces dernières décennies (O'Neill, 2014). Néanmoins, certaines entreprises pharmaceutiques et centres de recherche renforcent leurs efforts pour découvrir de nouvelles classes d'antibiotiques. En parallèle, des solutions alternatives sont explorées, comme l'utilisation des bactériophages, des peptides antimicrobiens, ou encore des substances naturelles issues de plantes médicinales, telles que *Pulicaria odora* (Feng et al., 2020).

4.4. Surveillance et réglementation

Il est essentiel de surveiller en continu l'utilisation des antibiotiques ainsi que l'apparition des résistances pour pouvoir ajuster efficacement les politiques de santé publique. La surveillance antimicrobienne permet de détecter rapidement les nouvelles résistances et de mettre en place des mesures ciblées pour les contrôler. Par ailleurs, des réglementations strictes concernant la vente d'antibiotiques en pharmacie et leur usage en médecine vétérinaire jouent un rôle important pour limiter leur usage excessif (Van Boeckel et al., 2015).

Chapitre II :
La Phytothérapie
et Plantes
Médicinales

1. La phytothérapie

La phytothérapie désigne l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales et de leurs extraits naturels pour prévenir ou traiter diverses affections. Cette approche repose sur l'exploitation des propriétés pharmacologiques de nombreuses substances bioactives présentes dans les végétaux notamment les alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, terpénoïdes et phénols dont l'efficacité a été largement documentée (**Heinrich et al., 2018**). Contrairement aux médicaments issus de la chimie de synthèse, la phytothérapie privilégie des solutions dites "naturelles", utilisant souvent des extraits peu transformés ou élaborés sous forme traditionnelle, telles que les infusions, décoctions ou macérats.

Ancrée depuis l'Antiquité dans de nombreuses traditions médicales comme la médecine chinoise, ayurvédique ou gréco-romaine la phytothérapie suscite aujourd'hui un intérêt renouvelé. Ce regain d'attention s'explique en grande partie par les limites observées avec certains traitements modernes, en particulier face au phénomène croissant de résistance aux antibiotiques (**Rates, 2001**). De nombreuses recherches récentes confirment l'efficacité de certaines plantes médicinales et mettent en lumière le rôle clé de leurs composés secondaires dans les activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires ou antioxydantes (**Ekor, 2014**).

Dans le contexte actuel de l'émergence de bactéries multirésistantes, la phytothérapie se présente ainsi comme une source prometteuse de nouvelles molécules antimicrobiennes. L'identification de principes actifs capables de freiner la croissance bactérienne ou de potentialiser l'action des antibiotiques existants constitue désormais un axe de recherche prioritaire en pharmacognosie et en microbiologie appliquée (**Silva et al., 2012**).

1.2. Les différentes formes de phytothérapie

La phytothérapie regroupe plusieurs méthodes, qui varient selon les parties de la plante utilisées et les techniques d'extraction. Cette diversité permet d'adapter les traitements aux effets thérapeutiques recherchés.

1.2.1. Gemmothérapie

Créée dans les années **1950 par le Dr Pol Henry**, la gemmothérapie est une branche spécifique de la phytothérapie. Elle utilise les tissus végétaux en pleine croissance, comme les

bourgeons, les jeunes pousses ou les racicelles. Ces tissus, riches en facteurs de croissance et en composés actifs, sont extraits par macération dans un mélange d'eau, de glycérine et d'alcool, appelé « macérat glycéric » (**Henry, 1970 ; Bruneton, 2016**). Cette technique permet de conserver tout le potentiel thérapeutique des jeunes tissus de la plante.

1.2.2. Aromathérapie

L'aromathérapie repose sur l'usage des huiles essentielles, extraites principalement par distillation ou par pression mécanique de plantes aromatiques (**Ali et al., 2015**). Ces huiles concentrées, riches en composés actifs comme les monoterpènes, phénols et aldéhydes, proviennent de différentes parties de la plante (fleurs, feuilles, tiges, racines). Grâce à leurs propriétés antimicrobiennes, antifongiques et anti-inflammatoires, les huiles essentielles occupent une place importante dans les soins naturels.

1.2.3. Phytothérapie pharmaceutique

La phytothérapie pharmaceutique regroupe les médicaments fabriqués à partir des principes actifs extraits de plantes médicinales (**Heinrich et al., 2018**). Ces médicaments, disponibles sous forme de poudres, extraits liquides, sirops, gélules ou comprimés, garantissent une concentration précise en substances actives. Leur production respecte les mêmes normes de qualité, d'efficacité et de sécurité que les médicaments conventionnels.

1.2.4 Herboristerie

L'herboristerie est l'une des formes les plus anciennes de la phytothérapie. Elle consiste à utiliser la plante entière ou certaines parties spécifiques (feuilles, écorce, fruits, fleurs), souvent sous forme de tisanes, infusions, décoctions ou poudres (**Williamson, 2003**). Cette méthode cherche à profiter de l'effet synergique de tous les composants de la plante pour offrir un traitement global, généralement plus doux.

2. Les plantes médicinales

Une plante médicinale est définie comme un végétal, utilisé en tout ou en partie, pour ses propriétés bénéfiques sur la santé humaine ou animale. D'après **Farnsworth et al. (1985)**, une plante est considérée comme médicinale lorsqu'elle contient des substances chimiques capables d'induire une réponse biologique positive. Ces composés actifs tels que les alcaloïdes, les saponines, les polyphénols ou encore les huiles essentielles proviennent du métabolisme secondaire des plantes (**Samuelsson, 2004**). Depuis la préhistoire, les plantes médicinales jouent un rôle fondamental dans les pratiques de soins traditionnels, et elles continuent aujourd'hui d'occuper une place importante, notamment dans la recherche de nouveaux traitements (**Fabricant et Farnsworth, 2001**). Malgré les progrès de la chimie pharmaceutique moderne, près d'un quart des médicaments utilisés actuellement sont issus directement de molécules d'origine végétale ou de leurs dérivés (**Newman et Cragg, 2016**). La combinaison des savoirs traditionnels et des recherches scientifiques actuelles renforce l'intérêt pour ces ressources naturelles, en particulier dans le contexte des défis sanitaires mondiaux tels que la résistance aux antimicrobiens.

3. Les principes actifs des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont de véritables usines chimiques capables de produire une grande variété de composés biochimiques appelés métabolites. Ces substances, bien que toutes issues du métabolisme végétal, se divisent en deux grandes catégories : les métabolites primaires et les métabolites secondaires. Chacune de ces catégories joue un rôle spécifique et complémentaire dans la vie de la plante, que ce soit pour assurer ses fonctions vitales ou pour l'aider à interagir avec son environnement.

3.1. Les métabolites primaires : les briques de la vie végétale

Les métabolites primaires sont essentiels à la croissance, au développement et à la reproduction des plantes. On les retrouve dans toutes les cellules végétales, car ils participent directement à des processus fondamentaux comme la photosynthèse, la respiration cellulaire, la synthèse des protéines ou encore la division cellulaire (**Taiz et Zeiger, 2010**).

Parmi ces composés, on compte les glucides, qui fournissent l'énergie, les acides aminés et protéines, indispensables aux fonctions enzymatiques, les lipides qui forment les membranes cellulaires, et les acides nucléiques, porteurs de l'information génétique.

Tableau 01 : Principaux métabolites primaires et leurs fonctions

Catégorie	Structure	Fonction	Référence
Glucides	Molécules carbonées simples ou complexes (glucose, saccharose, amidon)	Source et réserve d'énergie, structure (cellulose)	Raven et <i>al.</i> , 2013
Acides aminés et protéines	Chaînes d'acides aminés	Synthèse des protéines, fonctions enzymatiques	Taiz et Zeiger, 2010
Lipides	Chaînes hydrocarbonées (phospholipides, triglycérides)	Membranes, stockage d'énergie, signalisation	Hopkins et Hüner, 2009
Acides nucléiques	Polymères de nucléotides (ADN, ARN)	Transmission de l'information génétique	Alberts et <i>al.</i> , 2022

3.2. Les métabolites secondaires : une stratégie de défense sophistiquée

À la différence des métabolites primaires, les métabolites secondaires ne sont pas directement impliqués dans la croissance ou la reproduction, mais ils confèrent à la plante un avantage adaptatif. Ces composés participent à la défense contre les prédateurs, les micro-organismes pathogènes, ou encore à l'attraction des pollinisateurs. Leur diversité chimique est impressionnante et ils sont souvent à l'origine des propriétés médicinales des plantes (Pichersky et Gang, 2000).

On distingue principalement trois grandes familles :

- Les alcaloïdes, souvent toxiques, mais très actifs sur le système nerveux,
- Les terpènes et terpénoïdes, qui assurent des rôles variés allant de la défense à l'attraction,
- Les composés phénoliques, connus pour leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes ou encore pigmentaires.

Tableau 02 : Principaux métabolites secondaires et leurs rôles biologiques

Catégorie	Structure	Fonction	Référence
Alcaloïdes	Composés azotés basiques	Défense, activité pharmacologique (quinine, morphine)	Croteau <i>et al.</i> , 2000
Terpènes et terpénoïdes	Unités d'isoprène (C ₅ H ₈)	Défense, attractants (menthol, taxol)	Croteau <i>et al.</i> , 2000
Composés phénoliques	Cycles aromatiques avec groupes hydroxyles	Protection UV, défense, pigmentation	Harborne, 1998 ; Dai et Mumper, 2010
Acides phénoliques	Cycle aromatique avec -OH et -COOH	Antioxydants, antimicrobiens	Harborne et Williams, 2000 ; Chainer, 2012
Dérivés de l'acide benzoïque	Structure C ₆ -C ₁	Activité antimicrobienne, antioxydante	Harborne et Williams, 2000
Dérivés de l'acide cinnamique	Structure C ₆ -C ₃	Structure lignines, défense	Cheynier, 2012
Flavonoïdes	Structure C ₆ -C ₃ -C ₆	Antioxydants, pigments, défense	Cheynier, 2012 ; Panche <i>et al.</i> , 2016
Tannins	Polymères phénoliques	Astringence, protection contre herbivores	Dey et Harborne, 1997
Coumarines	Structure benzopyrone	Défense contre maladies et insectes	Bourgaud <i>et al.</i> , 2006

4. Mécanismes d'action antimicrobiens des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires des plantes médicinales, comme les alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, terpénoïdes et phénols, ont une action antimicrobienne importante. Ils agissent principalement en perturbant la membrane cellulaire des bactéries, provoquant la fuite de leur contenu et leur mort (Cowan, 1999). Ils peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN/ARN, gêner la respiration cellulaire, ou bloquer des enzymes clés du métabolisme bactérien (Daglia, 2012). Par exemple, les flavonoïdes perturbent les protéines bactériennes (Cushnie et Lamb, 2005), tandis que les tanins précipitent ces protéines, limitant la croissance bactérienne (Scalbert, 1991). Ces mécanismes multiples rendent ces composés efficaces contre de nombreuses bactéries, y compris les souches résistantes aux antibiotiques classiques.

5. Les avantages et limites des extraits végétaux par rapport aux antibiotiques

Les extraits végétaux sont une alternative prometteuse aux antibiotiques, grâce à leur richesse en métabolites secondaires agissant par plusieurs mécanismes antimicrobiens souvent synergiques, limitant le développement de résistances bactériennes (**Cowan, 1999 ; Cushnie et Lamb, 2011**). Ils sont aussi accessibles, biodégradables et moins toxiques pour l'environnement et la santé, ce qui favorise leur usage durable, notamment dans les pays en développement (**Rates, 2001**). Cependant, leur composition varie selon les conditions de culture et d'extraction, compliquant la standardisation et la reproductibilité (**Cos et al., 2006**). De plus, leurs mécanismes d'action et leur innocuité nécessitent encore des recherches approfondies. Ainsi, ils restent complémentaires aux antibiotiques et requièrent une évaluation rigoureuse avant intégration à la pharmacopée moderne.

Chapitre III :
Pulicaria odora –
Monographie
botanique

1. Description morphologique

Pulicaria odora (L.) **Rchb.** est une plante vivace appartenant à la famille des *Asteraceae*. Elle est bien adaptée aux conditions environnementales arides et semi-arides, notamment dans les régions méditerranéennes du Maghreb. Cette espèce se distingue par sa capacité à survivre dans des milieux secs grâce à une morphologie particulière (**Quézel et Santa, 1963**).

La tige de *P. odora* est souterraine et renflée sous forme de tubercules, lui permettant de stocker de l'eau et de résister à de longues périodes de sécheresse. La tige aérienne, quant à elle, est dressée ou légèrement ramifiée dans sa partie supérieure, atteignant généralement entre 30 et 60 cm de hauteur. Elle est recouverte de feuilles écailleuses fines, contribuant à la rétention de l'humidité dans des environnements secs (**Emberger et Chadeaud, 1960**).

Les feuilles basales sont de grande taille, de forme ovale à lancéolée, disposées de manière alternée le long de la tige. Elles sont couvertes de poils glandulaires sécrétant des huiles essentielles, ce qui participe à la protection contre la déshydratation et les agressions climatiques. Les feuilles caulinaires, plus petites, sont sessiles ou embrassantes, avec des bords légèrement dentelés ou ondulés (**Rameau et al., 2008**).

Les fleurs de *P. odora* sont regroupées en capitules denses, portés par de longs pédoncules. Elles présentent des fleurs ligulées jaunes en périphérie et des fleurs tubulaires au centre. Ces dernières dégagent une forte odeur caractéristique, attirant divers insectes pollinisateurs tels que les abeilles et les papillons. Après la pollinisation, la plante produit de petits akènes secs, munis de poils facilitant leur dissémination par le vent (**Quézel et Santa, 1963**).



Figure 01 : *Pulicaria odora* (L.) Rchb en floraison.

Crédit photo : Liliane Roubaudi – Licence CC BY-SA 2.0 FR, via Tela-Botanica (2024).

Description : Capitules floraux jaunes, solitaires ou groupés, de type radié ; ligules jaunes périphériques et fleurons tubulés au centre. Floraison estivale, de juin à septembre.

2. Classification botanique

Tableau 03 : Données taxonomiques de *Pulicaria odora* issues de POWO (2024)

Rang taxonomique	Classification
Règne	Plantae
Embranchement	Streptophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Magnoliidae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae (Compositae)
Genre	<i>Pulicaria</i>
Espèce	<i>Pulicaria odora</i> (L.)

3. Répartition géographique

P. odora (L.) **Rchb.** est une plante médicinale typique du bassin méditerranéen, surtout présente dans les régions arides et semi-arides d'Afrique du Nord, notamment en Algérie, au Maroc, en Tunisie et en Libye. Elle pousse dans des zones steppiques avec des sols sablonneux, rocheux ou un peu salins, et un climat chaud et sec (**Dobignard et Chatelain, 2011**). On la trouve aussi dans le sud de l'Espagne, ce qui confirme sa préférence pour les climats méditerranéens (**POWO, 2024**). En Algérie, elle est courante dans le centre et l'est, notamment à M'Sila, Djelfa et Biskra, où elle est utilisée en médecine traditionnelle (**Boudjelal et al., 2013**). Sa répartition montre qu'elle s'adapte bien aux conditions difficiles avec peu d'eau, ce qui en fait une plante importante dans les milieux sahariens et pré-sahariens.

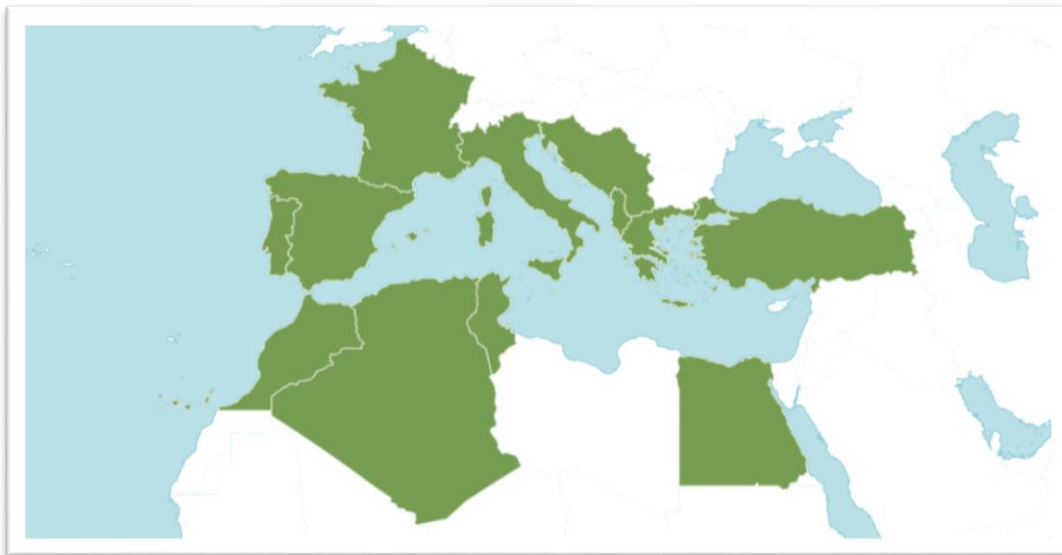


Figure 02 : Répartition géographique de *Pulicaria odora* (L.) **Rchb.**, d'après **IPNI** et **POWO (2025)**.

4. Les usages de *P. odora* dans la médecine traditionnelle

P. odora (L.) **Rchb.**, plante aromatique de la famille des *Asteraceae*, est largement utilisée en médecine traditionnelle en Afrique du Nord, notamment en Algérie, au Maroc et en Tunisie. Depuis longtemps, les populations locales la consomment pour traiter des problèmes digestifs comme les douleurs d'estomac, les ulcères, les coliques et les ballonnements. Elle sert aussi à soulager les règles douloureuses, les maux de tête, les inflammations, les infections de la peau et les piqûres d'insectes. Les feuilles et parties aériennes sont souvent préparées en

décoction ou infusion et utilisées comme antiseptique, analgésique ou anti-inflammatoire dans les zones rurales.

Une enquête menée dans la région de M'Sila (nord de l'Algérie) par **Boudjelal et al. (2013)** a montré que *P. odora* figure parmi les plantes médicinales les plus populaires auprès des herboristes locaux pour soulager les douleurs digestives.

D'un point de vue scientifique, ces bienfaits seraient liés à la présence de composés comme les flavonoïdes, les coumarines, les composés phénoliques et les huiles essentielles, connus pour leurs propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et anti-inflammatoires (**Ait Ouakrouch et al., 2020 ; Benariba et al., 2013**). Ces résultats confirment les usages traditionnels et soutiennent l'intérêt pharmacologique de cette plante.

5. Études phytochimiques et biologiques antérieures

Des recherches sur les plantes du genre *Pulicaria*, et plus particulièrement sur *P. odora*, ont montré qu'elles contiennent de nombreux composés secondaires actifs. **Harborne (1998)** et Harborne et **Williams (2000)** ont souligné l'importance des flavonoïdes dans les effets biologiques des plantes, tandis que **Cheyrier (2012)** a mis en avant leur abondance dans les plantes aromatiques. Grâce à des analyses chromatographiques, plusieurs métabolites ont été identifiés, comme l'acide caféique, la quercétine et des coumarines naturelles (**Venugopala et al., 2013 ; Kostova, 2005**). Plus précisément, **Bencheikh et al. (2019)** et **Bouharb et al. (2021)** ont étudié les composés volatils des huiles essentielles de *P. odora*, montrant la prédominance de terpènes tels que le 1,8-cinéole et le camphre, qui ont des activités biologiques importantes.

Ces composés confèrent à *P. odora* plusieurs propriétés bénéfiques, notamment antioxydantes, anti-inflammatoires et antifongiques. Les flavonoïdes et composés phénoliques présents sont connus pour leur puissant effet antioxydant, capable de neutraliser les radicaux libres et de limiter le stress oxydatif (**Panche et al., 2016 ; Wink, 2010**). Ils présentent aussi des propriétés anti-inflammatoires, confirmées par plusieurs études sur des extraits riches en polyphénols (**Daglia, 2012 ; Heinrich et al., 2018**).

6. Potentiel antibactérien documenté

Plusieurs études ont montré que *P. odora* possède une activité antibactérienne importante. **Bencheikh et al. (2019)** ont rapporté que les huiles essentielles de cette plante sont efficaces contre des bactéries Gram-positives comme *Staphylococcus aureus*, ainsi que contre certaines bactéries Gram-négatives, notamment *Escherichia coli*. Une revue par **Bouharb et al. (2021)** a également souligné l'efficacité du genre *Pulicaria* contre divers pathogènes bactériens et fongiques.

Ces effets sont attribués aux flavonoïdes et terpènes des huiles essentielles, qui perturbent les membranes bactériennes, affectant leur perméabilité et leur viabilité (**Cowan, 1999 ; Cushnie et Lamb, 2011**). **Silva et Fernandes Júnior (2010)** ont également mis en évidence un effet synergique entre les composés secondaires présents dans les extraits bruts, renforçant leur activité antibactérienne. Par ailleurs, des études sur d'autres espèces d'Asteraceae confirment un large spectre d'activité antimicrobienne (**Bekkara et al. 2018**), positionnant *P. odora* comme une candidate prometteuse pour le développement de nouvelles alternatives naturelles aux antibiotiques classiques (**Newman et Cragg, 2016 ; WHO, 2020**).



Partie
Expérimentale



Chapitre I : Matériel et Méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

1.1.1. Choix de la plante

La plante *Pulicaria odora*, connue localement sous le nom d'**Ouden El Halouf**, a été choisie pour cette étude en raison de son usage traditionnel bien documenté en médecine populaire. Elle est notamment réputée pour ses propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques et cicatrisantes. Ces vertus thérapeutiques, issues des savoirs ethnobotaniques transmis de génération en génération, suscitent un intérêt croissant pour son potentiel en tant que source de composés bioactifs naturels. L'identification botanique de l'espèce a été rigoureusement confirmée par le **Dr GUERGUEB S.**, spécialiste en physiologie végétale à l'Université 20 Août 1955 de Skikda, à partir de critères morphologiques et taxonomiques.

1.1.2. Site de récolte

P. odora a été collectée en mars 2025 dans la région d'Ain cheraïa, située dans le district de Tamalous, wilaya de Skikda, au nord-est de l'Algérie. Cette zone se caractérise par un climat méditerranéen, avec des hivers doux et humides, et des étés chauds et secs. L'altitude de la région varie entre 300 et 600 mètres, et le couvert végétal y est typiquement composé de maquis, d'arbustes aromatiques, et de plantes médicinales spontanées. Le sol, de type calcaire à tendance argilo-limoneuse, est favorable au développement de nombreuses espèces xérophiles, dont *P. odora*. Ce contexte agroécologique particulier pourrait influencer la composition chimique et l'activité biologique des extraits végétaux issus de cette plante.

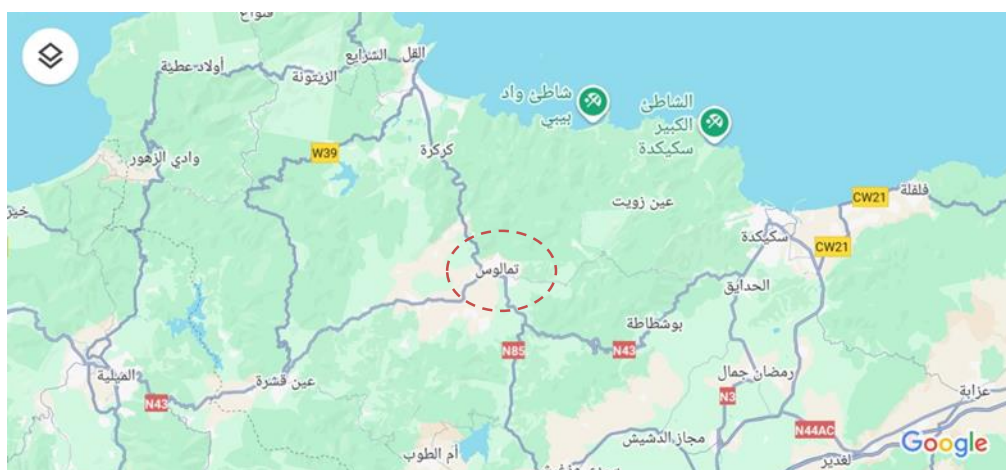


Figure 03 : Localisation géographique du site de récolte des échantillons de *P. odora*.

1.1.3. Préparation des échantillons végétaux

Les feuilles de *P. odora* utilisées dans cette étude ont été récoltées à maturité, puis soigneusement lavées à l'eau du robinet. Après un séchage complet à l'air libre, les échantillons ont été broyés à l'aide d'un mortier et d'un pilon jusqu'à obtention d'une poudre fine et homogène (**Figure 04**). Celle-ci a été conservée dans des flacons en verre ambré, hermétiquement fermés, et stockés à température ambiante dans un endroit sec, à l'abri de la lumière, jusqu'à leur utilisation pour l'extraction.



1.2 Matériel biologique

Afin d'évaluer le potentiel antimicrobien des extraits de *P. odora*, cinq souches microbiennes de référence ont été sélectionnées pour leur pertinence clinique et leur utilisation fréquente dans les protocoles standardisés, notamment ceux recommandés par le *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2023)*.

Le panel comprend :

- deux bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus spizizenii*),
- deux bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*),
- ainsi qu'une levure pathogène (*Candida albicans*).

Ces micro-organismes ont été choisis pour représenter un large spectre de pathogènes humains impliqués dans diverses infections nosocomiales et communautaires.

Tableau 04 : Souches microbiennes utilisées dans cette étude

Espèce microbienne	Référence de souche
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Bacillus spizizenii</i>	ATCC 6633
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	DSM 1117
<i>Candida albicans</i>	D'origine clinique

Les souches ont été réactivées sur milieu gélosé nutritif (GN) et incubées à 37°C pendant 24h. Pour réaliser les tests, une suspension bactérienne dans du sérum physiologique stérile a été préparée pour une utilisation ultérieure.

2. Méthodes

2.2. Préparation des extraits de *P. odora*

2.2.1. Préparation de l'extrait méthanolique

L'extrait méthanolique de *P. odora* a été préparé à partir de la poudre sèche de la plante, selon une méthode adaptée de **Sasidharan et al. (2011)** et **Basri et Fan (2005)**, avec quelques modifications mineures.

En résumé, 20 g de poudre fine ont été introduits dans un bécher contenant 200 mL d'un mélange hydroalcoolique composé de 70 % de méthanol et 30 % d'eau distillée. Le bécher a été hermétiquement recouvert de papier aluminium afin de limiter l'évaporation du solvant, puis placé sur un agitateur orbital et maintenu en agitation pendant 72 heures à température ambiante, à l'abri de la lumière.

Après la période de macération, le mélange a été filtré à l'aide d'un système de filtration sous vide équipé d'une pompe et d'un entonnoir Büchner, avec un papier filtre Whatman n°1, afin d'obtenir un filtrat clair. Ce dernier a ensuite été concentré sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (Rotavapor) à une température constante de 60 °C, afin de préserver les composés thermosensibles.

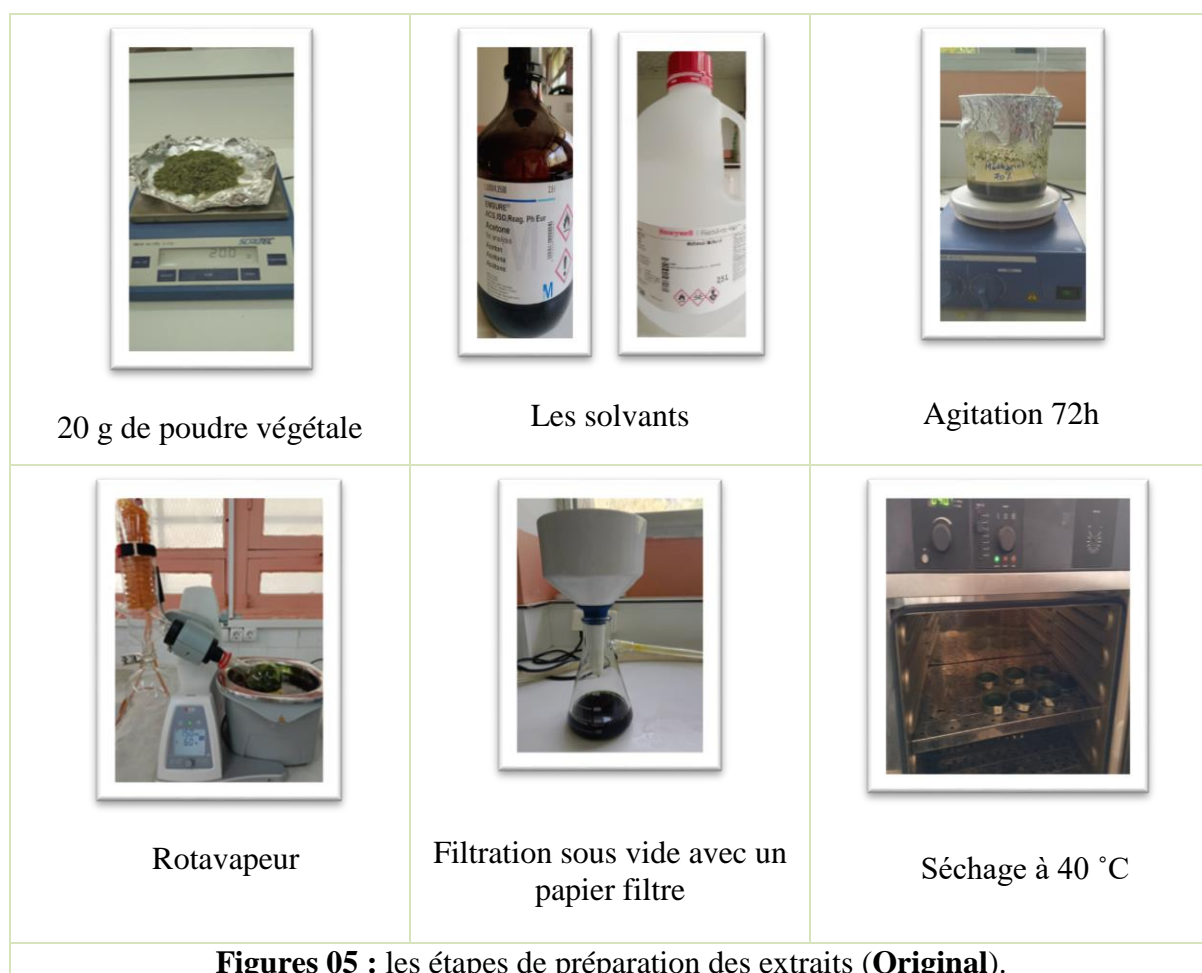
Les extraits concentrés ont été versés dans des boîtes de Pétri en verre stériles, étiquetées, puis placés dans une étuve à 40 °C pendant 2 à 3 jours pour permettre l'évaporation complète des solvants résiduels (**Figures 05**). Les extraits secs ont ensuite été récupérés par grattage à l'aide d'une spatule stérile, puis stockés dans des flacons hermétiques au réfrigérateur (4 °C) jusqu'à leur utilisation dans les essais biologiques.

2.2.2. Préparation de l'extrait acétonique

En parallèle, 20 g de la même poudre végétale ont été soumis à une macération dans 200 mL d'acétone pure (100 %), dans un bécher hermétiquement recouvert de papier aluminium. Le mélange a été placé sur un agitateur orbital et maintenu sous agitation pendant 72 heures, puis laissé à macérer à température ambiante, à l'abri de la lumière.

À l'issue de cette période, le mélange a été filtré à l'aide d'un système de filtration sous vide, équipé d'un entonnoir Büchner et d'un papier filtre Whatman n°1, afin d'obtenir un filtrat limpide. Ce dernier a été ensuite concentré sous vide à 40 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif.

Le concentré obtenu a été versé dans des boîtes de Pétri stériles, puis placé dans une étuve à 40 °C pendant 2 à 3 jours afin d'assurer l'évaporation complète des résidus d'acétone. L'extrait sec a ensuite été récupéré par grattage à l'aide d'une spatule stérile et conservé dans des flacons hermétiquement fermés, stockés au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à son utilisation.



Rendement en extrait sec

Le rendement d'extraction est un indicateur essentiel pour évaluer l'efficacité d'un procédé d'extraction appliqué à une substance d'origine végétale. Il correspond à la proportion de matière active obtenue par rapport à la masse de plante sèche utilisée, généralement exprimée en pourcentage. Ce rendement se calcule selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{Masse de l'extrait sec (g)} / \text{Masse de la plante sèche utilisée (g)}) \times 100.$$

2.3. Confirmation des souches

2.3.1. Culture sur milieu gélosé

La revivification des souches conservées a été réalisée par ensemencement sur milieu nutritif solide (gélose), afin de permettre leur croissance, d'évaluer leur viabilité et d'obtenir des colonies isolées. Cette étape est essentielle pour garantir l'obtention de cultures pures et viables en vue des analyses ultérieures. Après incubation à la température appropriée, l'apparition de colonies bien définies a permis la sélection de celles présentant une morphologie homogène, préalablement à toute analyse complémentaire.

2.3.2. Vérification de pureté

La pureté des souches isolées a été vérifiée par observation microscopique après coloration appropriée. Pour les bactéries, la coloration de Gram a permis de différencier les cellules Gram positif, apparaissant en violet, des Gram négatif, de teinte rose, en fonction des caractéristiques de leur paroi cellulaire. Cette méthode permet d'évaluer l'homogénéité morphologique de la population bactérienne.

Concernant *C. albicans*, une coloration simple au bleu de méthylène a été utilisée afin de visualiser la morphologie typique des cellules levuriformes, ainsi que la présence éventuelle de pseudo-hyphes. L'absence de formes cellulaires étrangères a permis de confirmer la pureté des cultures avant les essais expérimentaux.

2.3.3. Profil de sensibilité microbienne par diffusion en disques

La sensibilité de quatre souches bactériennes (*S. aureus* ATCC 25923, *B. spizizenii* ATCC 6633 *E. coli* ATCC 25922 et *P. aeruginosa* DSM 1117) a été évaluée par la méthode de diffusion en disques sur gélose Mueller-Hinton, selon la méthode de Kirby-Bauer. Une

suspension bactérienne standardisée (0,5 McFarland) a été étalée uniformément sur le milieu, puis des disques commerciaux imprégnés de cinq antibiotiques (ciprofloxacine, céfotaxime, vancomycine, gentamicine et imipénème) ont été appliqués à la surface. Après incubation à 37 °C pendant 18 à 24 heures, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés afin de déterminer le degré de sensibilité ou de résistance de chaque souche.

Un test antifongique a également été réalisé sur *C. albicans* en utilisant la gélose Sabouraud. Des disques stériles ont été imprégnés de 10 µL de solutions d'antifongiques (fluconazole et nystatine), préparées au laboratoire. Après une incubation de 24 à 48 heures à 37 °C, les zones d'inhibition ont été mesurées pour évaluer l'efficacité relative des agents antifongiques testés.

Le tableau suivant présente les antimicrobiens utilisés ainsi que leur famille pharmacologique ;

Tableau 05 : Liste des antimicrobiens testés, leur type et leur famille pharmacologique

Antimicrobien	Type	Famille
Vancomycine	Antibiotique	Glycopeptides
Imipénème	Antibiotique	Carbapénèmes (β-lactamines)
Céfotaxime	Antibiotique	Céphalosporines de 3 ^e génération
Gentamicine	Antibiotique	Aminosides
Ciprofloxacine	Antibiotique	Fluoroquinolones
Nystatine	Antifongique	Polyènes
Fluconazole	Antifongique	Azols

2.4. L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *P. odora*

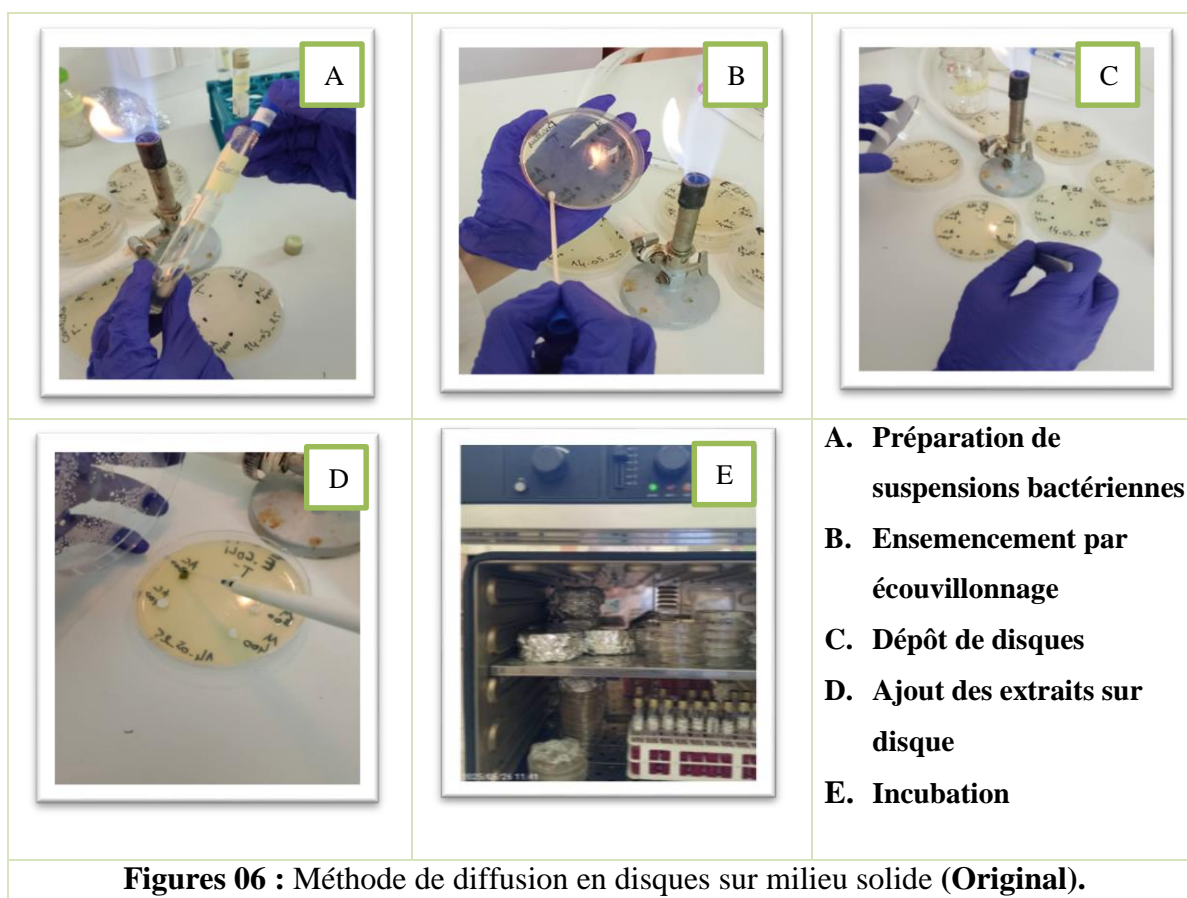
2.4.1. Méthodes de diffusion en disques sur milieu solide

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits méthanolique et acétonique de *P. odora* a été réalisée selon la méthode de diffusion sur disque (**Figures 06**), selon le protocole suivant :

- Des boîtes de Pétri contenant de la gélose Mueller-Hinton ont été préparées pour chaque souche bactérienne testée.
- Chaque boîte a étéensemencée en surface à l'aide d'un écouvillon stérile imbibé de 100 µL d'une suspension bactérienne standardisée à 0,5 McFarland.

- Cinq disques stériles de papier filtre ($\varnothing = 5 \text{ mm}$) ont été disposés à intervalles réguliers sur la surface de la gélose.
- Le premier disque a été imbibé de $10 \mu\text{L}$ de DMSO pur, servant de témoin négatif.
- Les quatre autres disques ont été imprégnés chacun de $10 \mu\text{L}$ d'une solution d'extrait, préparée en dissolvant respectivement 0,1 g, 0,2 g, 0,3 g et 0,4 g de l'extrait sec dans 1 mL de DMSO, correspondant à des concentrations de 100, 200, 300 et 400 mg/mL.
- Les extraits méthanolique et acétonique ont été testés séparément, dans des boîtes distinctes contenant les disques correspondant aux différentes concentrations.
- Pour chaque combinaison extrait/souche bactérienne, les essais ont été réalisés en triplicata.
- L'incubation a été effectuée à 37°C pendant 24 heures.
- À l'issue de l'incubation, les diamètres des zones d'inhibition autour des disques ont été mesurés en millimètres.
- Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne.

Conformément au principe proposé par **Cock (2008)**, toute zone d'inhibition visible autour d'un disque, même de faible diamètre, a été considérée comme indicatrice d'une activité antimicrobienne potentielle.



Figures 06 : Méthode de diffusion en disques sur milieu solide (Original).

2.4.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La méthode de microdilution en microplaque de 96 puits utilisée pour déterminer la CMI a été adaptée du protocole proposé par **Eloff (1998)** pour l'évaluation des extraits végétaux, en tenant compte des directives du *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2021)* pour les tests de sensibilité en milieu liquide. Des ajustements ont été apportés notamment au niveau du solvant (DMSO à 2 %) et du mode de dilution, afin d'assurer la stabilité et la solubilité de l'extrait de *P. odora*. Le protocole expérimental adopté pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne est décrit ci-après (**Figure 07**).

Protocole expérimental

1. Préparation de la dilution initiale

Dans le puits 1 de chaque ligne de la microplaque, ajouter 200 μL de bouillon nutritif, puis 10 μL de l'extrait de *P. odora* (concentration initiale de 400 mg/mL dans DMSO 2 %). La concentration dans ce puits est donc de 20 mg/mL.

2. Dilutions en série

Réaliser une dilution binaire successive de l'extrait de puits 1 à 10 comme suit :

- Transférer 100 μL du puits 1 vers le puits 2 pré-rempli de 100 μL de BN.
- Bien homogénéiser, puis répéter l'opération jusqu'au puits 10.
- Jeter les 100 μL excédentaires du puits 10 pour maintenir un volume constant.
- Cette méthode permet d'obtenir une gamme de concentrations décroissantes de l'extrait de 20 mg/mL à 0,039 mg/mL.

3. Ajout de l'inoculum

Dans chaque puits de 1 à 11, ajouter 5 μL de la suspension microbienne préparée à une densité optique équivalente à 0,5 McFarland. Le volume final dans chaque puits est alors de 205 μL .

4. Contrôles

- Puits 11 (contrôle positif) : 200 μL de BN + 5 μL d'inoculum (aucun extrait).
- Puits 12 (contrôle négatif) : 200 μL de BN uniquement (aucun extrait ni inoculum).

5. Incubation

La microplaque est incubée à 37 °C pendant 18 à 24 heures à l'obscurité.

Lecture des résultats

- La croissance bactérienne est évaluée par observation visuelle de la turbidité.

- La CMI est définie comme la plus faible concentration de l'extrait ne montrant aucune croissance visible, c'est-à-dire une transparence comparable au contrôle négatif.

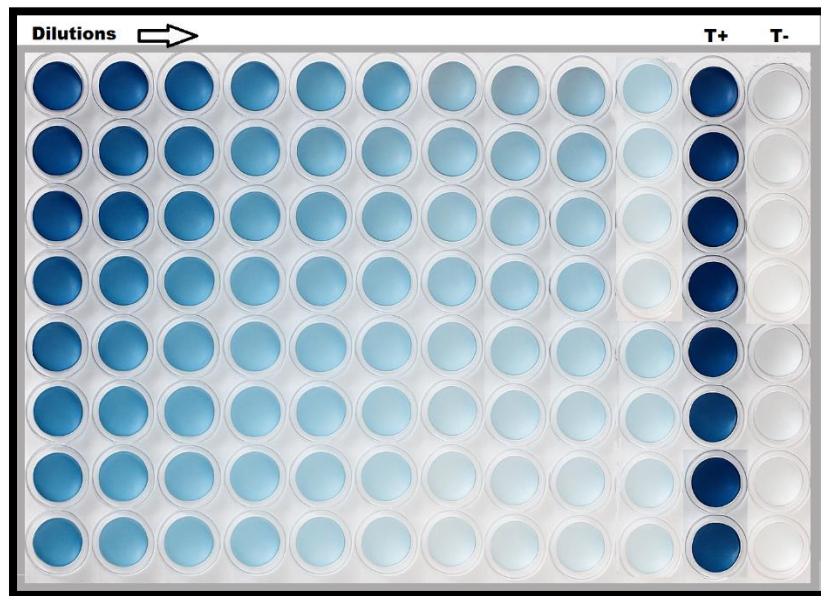



Figure 07 : Disposition des puits d'une microplaque à 96 puits utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne d'un extrait végétal par la méthode de dilution en milieu liquide.





Chapitre II : Résultats et Discussion

1. RESULTATS

1.1. Rendement en extrait sec

Le rendement en extrait sec correspond à la quantité d'extrait obtenue après évaporation complète du solvant par rapport à la masse initiale de matière végétale utilisée. Il permet d'évaluer l'efficacité du procédé d'extraction.

Tableau 06 : Caractéristiques de l'extrait de la plante *P. odora*

Extrait	Photos	Couleur	Aspect	Rendement (%)
Méthanolique		Vert foncé	sec	17,5%
Acétonique		Vert clair	Gel visqueux	10%

Dans cette étude, les rendements obtenus à partir des extraits méthanolique et acétonique de *P. odora* sont respectivement de 17,5% et 10%, comme indiqué dans le **Tableau 06**. Ces résultats montrent que le solvant méthanolique a permis une meilleure extraction de matière active par rapport à l'acétone.

1.2. Étude microscopique

Avant de procéder aux tests, la pureté des souches microbiennes utilisées a été vérifiée par observation microscopique après une coloration de Gram. Cette étape a permis de confirmer l'aspect morphologique et la coloration caractéristique de chaque souche bactérienne ou fongique.

1.2.1. Bactéries

Les souches de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus spizizenii* ATCC 6633 *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* DSM 1117 et ont été observées respectivement à partir de cultures jeunes sur gélose nutritive ;

➤ ***Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

La coloration de Gram révèle des coques Gram positives, de forme sphérique, regroupées en amas caractéristiques en grappes. Cette disposition est typique du genre *Staphylococcus*.

➤ ***Bacillus spizizenii* ATCC 6633**

Les cellules observées sont de grands bacilles Gram positifs, souvent disposés en chaînes. Certaines cellules présentent des spores à l'intérieur, visibles sous forme d'inclusions ovales non colorées.

➤ ***Escherichia coli* ATCC 25922**

Les cellules d'*Escherichia coli* apparaissent sous forme de courts bacilles Gram négatifs, isolés ou en paires. Leur coloration rose indique leur appartenance au groupe des Gram négatifs.

➤ ***Pseudomonas aeruginosa* DSM 1117**

Cette souche se présente sous forme de bacilles fins, allongés, colorés en rose (Gram négatif). Les cellules sont bien individualisées et uniformément réparties.

Les résultats de ces observations sont illustrés dans **Les Figures 08 (a à d)**.

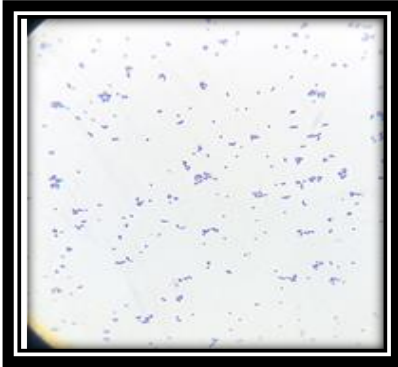


Figure 8 a : l'observation microscopique de bactérie *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

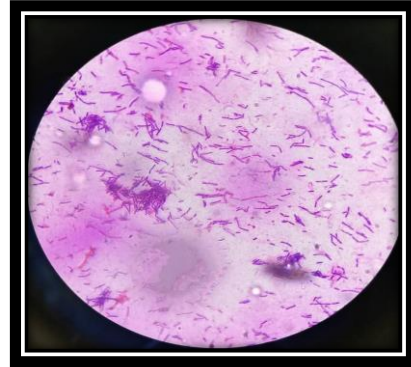


Figure 8 b : l'observation microscopique de bactérie *Bacillus spizizenii* ATCC 6633

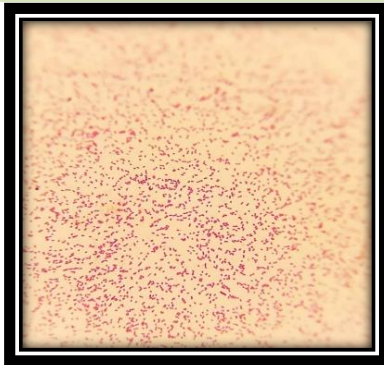


Figure 8 c : l'observation microscopique de bactérie *Escherichia coli* ATCC 25922

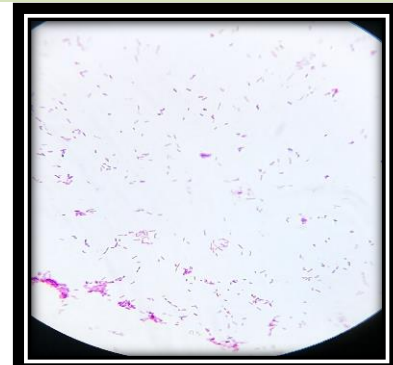


Figure 8 d : l'observation microscopique de bactérie *Pseudomonas aeruginosa*. DSM 1117

Figures 08 (a, b, c et d) : Coloration de Gram ; observation microscopique (objectif $\times 100$ à l'huile à immersion)

1.2.2. Levure

Pour *C. albicans*, on observe des cellules levuriformes ovales (**Figure 09**), isolées ou groupées, parfois accompagnées de pseudo-hyphes caractéristiques de cette levure.

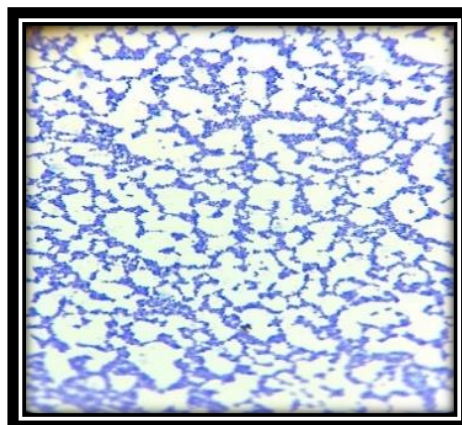


Figure 09 : Observation microscopique de *Candida albicans* après coloration au bleu de méthylène (objectif $\times 100$ à l'huile à immersion).



Figure 11 : Résultats du test antifongique de la nystatine et du fluconazole contre *C. albicans*.

1.4. L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *P. odora* par la méthode de diffusion en disque

La sensibilité des souches bactérienne testées par cette méthode se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques. Rappelons que chaque disque contient 10 μ l de chaque échantillon.

➤ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Les résultats de l'étude sur l'activité antibactérienne des extraits méthanolique et acétonique de *P. odora* vis-à-vis de *S. aureus* ATCC 25923 sont représentés dans le tableau ci-dessus. L'analyse a révélé que l'extrait méthanolique présente une activité inhibitrice significative à partir de la concentration de 300 mg/mL, avec un diamètre de 23 mm, atteignant 25 mm à 400 mg/mL. Quant à l'extrait acétonique, une activité modérée est observée dès 100 mg/mL (13 mm) et augmente progressivement pour atteindre 23 ecart type ici mm à 400 mg/mL (**Figure 12 et 13**). Le témoin négatif (DMSO) n'a présenté aucune activité inhibitrice. Ces résultats indiquent une sensibilité marquée de *S.aureus* ATCC 25923, surtout à l'extrait méthanolique, et confirment l'efficacité potentielle de *P. odora* contre les bactéries Gram positives.

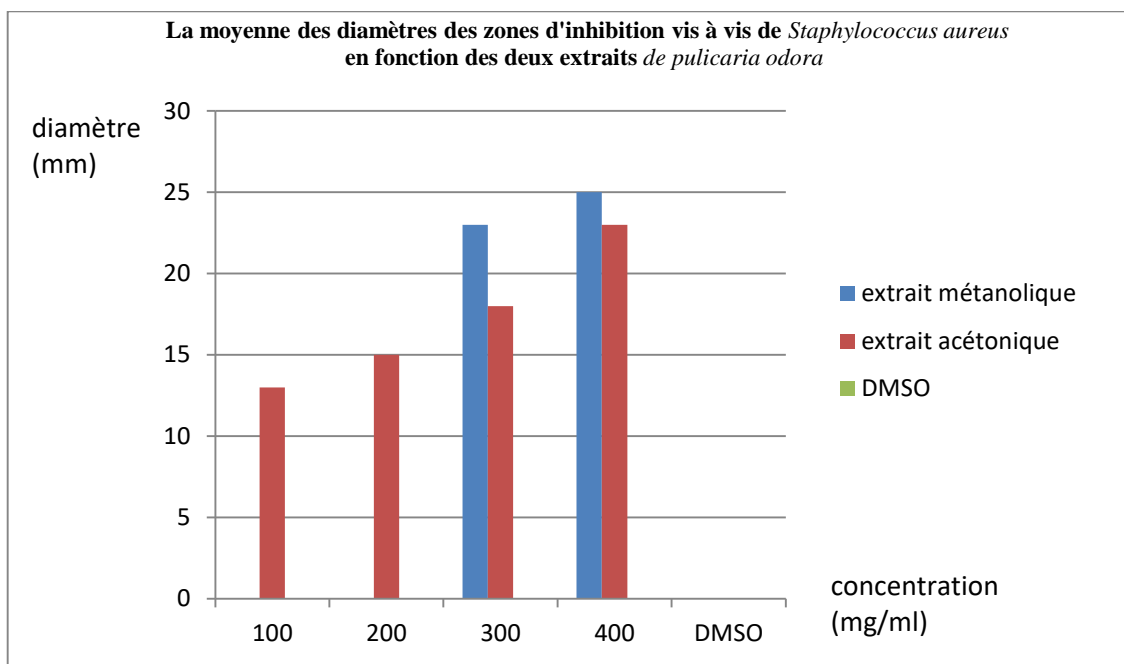


Figure 12 : La moyenne des diamètres des zones d'inhibition vis à vis de *S. aureus* ATCC 25923 en présence des deux extraits de *P. odora*.

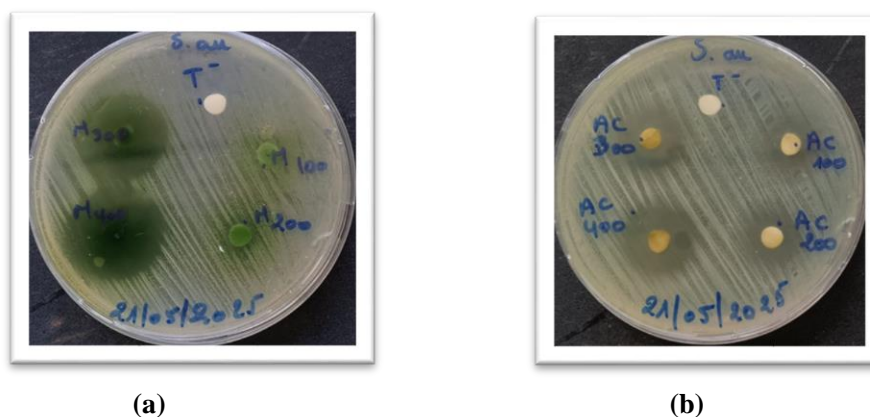


Figure 13 : Résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique (a) et acétonique (b) de *P. odora* vis-à-vis de *S. aureus* ATCC 25923.

➤ ***Bacillus spizizenii* ATCC 6633**

L'activité antibactérienne des extraits de *P. odora* sur *B. spizizenii* ATCC 6633 est également notable. L'extrait méthanolique a montré une forte activité, avec des zones d'inhibition de 22 mm à 300 mg/mL et 27 mm à 400 mg/mL. En revanche, l'extrait acétonique a produit une inhibition plus faible, allant de 6 mm (200 mg/mL) à 13 mm (400 mg/mL). Aucun effet n'a été observé avec le DMSO. Ces résultats montrent que *B. spizizenii* ATCC 6633 est modérément à fortement sensible, particulièrement à l'extrait méthanolique. Les résultats sont illustrés dans les **Figures 14** et **15**.

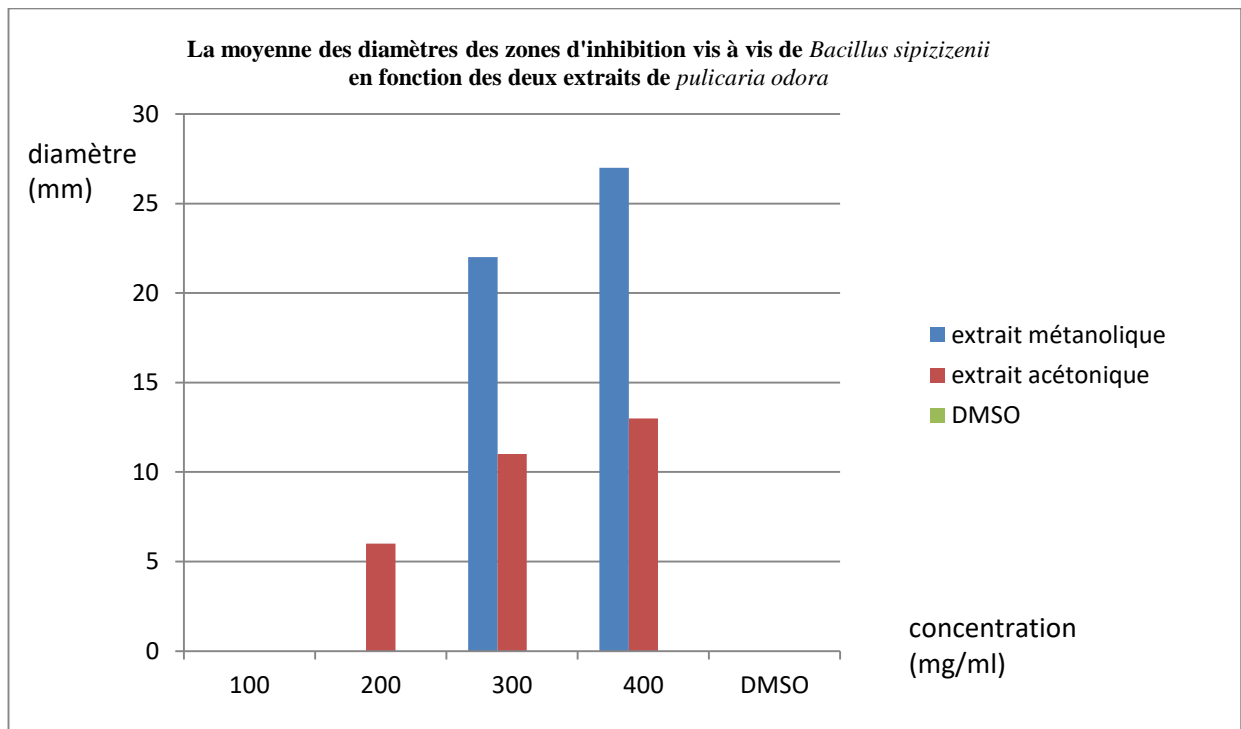


Figure 14 : La moyenne des diamètres des zones d'inhibition vis à vis de *B. spizizenii* ATCC 6633 en présence des deux extraits de *P. odora*



(a)



(b)

Figure 15 : Résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique (a) et acétonique (b) de *P. odora* vis-à-vis de *B. spizizenii*. ATCC 6633

➤ *Escherichia coli* ATCC 25922

L'examen des résultats illustrés dans le **Figure 16** révèle que la souche *E. coli* ATCC 25922 présente une résistance aux deux extraits, méthanolique et acétonique de *P. odora*, quelle que soit la concentration testée. Le DMSO, utilisé comme témoin négatif, n'a montré aucune activité.

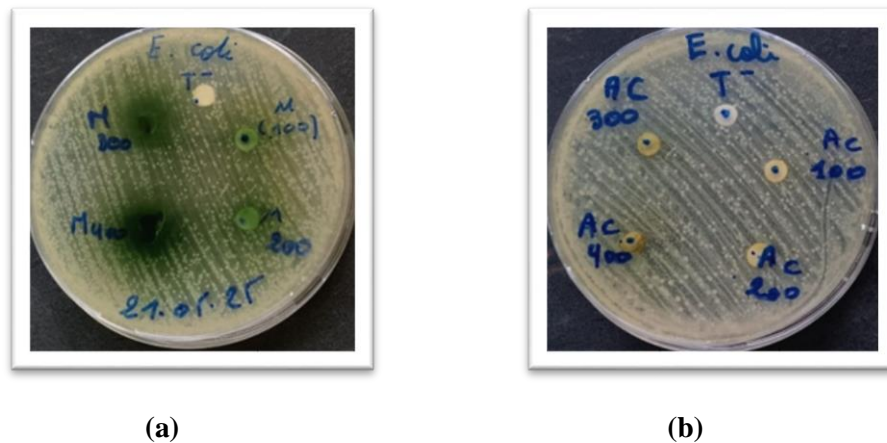


Figure 16 : Résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique (a) et acétonique (b) de *P. odora* vis-à-vis de *E. coli* ATCC 25922.

➤ *Pseudomonas aeruginosa* DSM 1117

Concernant *P. aeruginosa* DSM 1117, l'extrait méthanolique de *P. odora* a montré une activité modérée uniquement à partir de 300 mg/mL, avec des diamètres d'inhibition de 7 mm, 10 mm, et 12 mm à 400 mg/mL. Aucune activité n'a été enregistrée pour l'extrait acétonique, ni pour le DMSO.

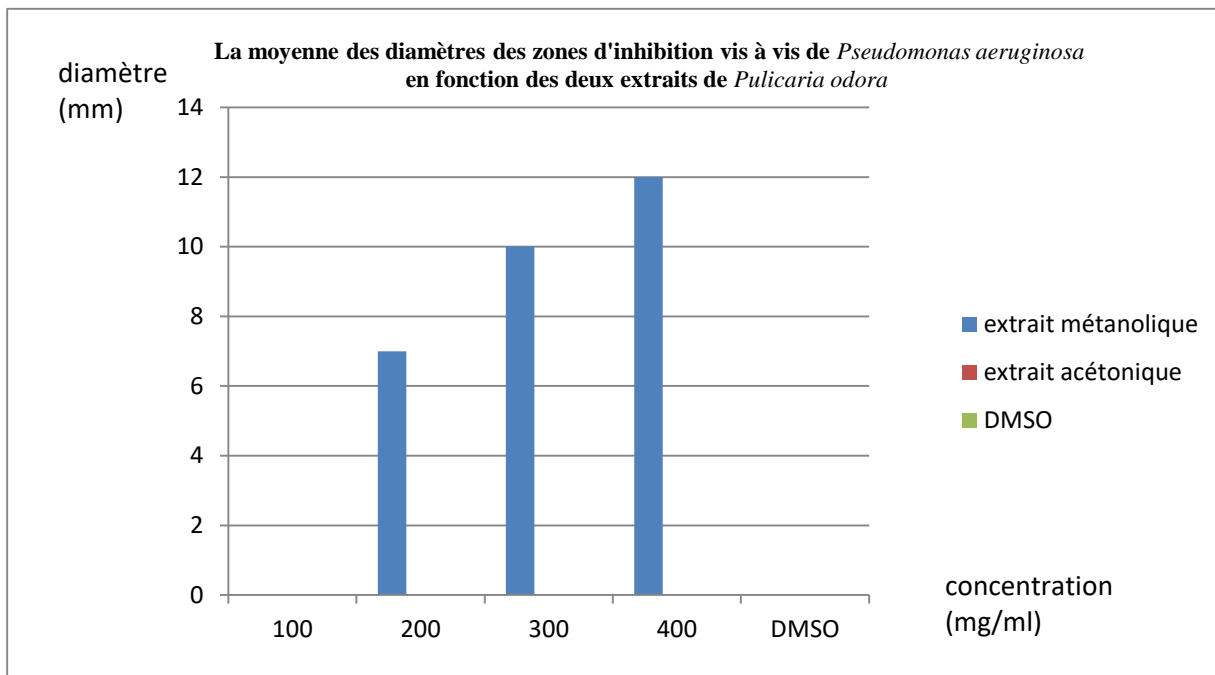


Figure 17 : La moyenne des diamètres des zones d'inhibition vis à vis de *P. aeruginosa* (DSM 1117) en fonction des deux extraits de *P. odora*



Figure 18 : Résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique (a) et acétonique (b) de *P. odora* vis-à-vis de *P. aeruginosa* DSM 1117

➤ *Candida albicans*

L'effet des extraits de *P. odora* sur *C. albicans* est présenté dans le tableau. Une activité antifongique modérée est enregistrée avec l'extrait méthanolique, montrant des zones d'inhibition de 8 mm à 200 mg/mL et 15 mm aux concentrations de 300 et 400 mg/mL. L'extrait acétonique, quant à lui, induit des zones d'inhibition de 9 mm à 300 mg/mL et 14 mm à 400 mg/mL. Le DMSO ne

montre aucune activité. Ces résultats suggèrent un potentiel antifongique intéressant de *P. odora*, surtout avec l'extrait méthanolique.

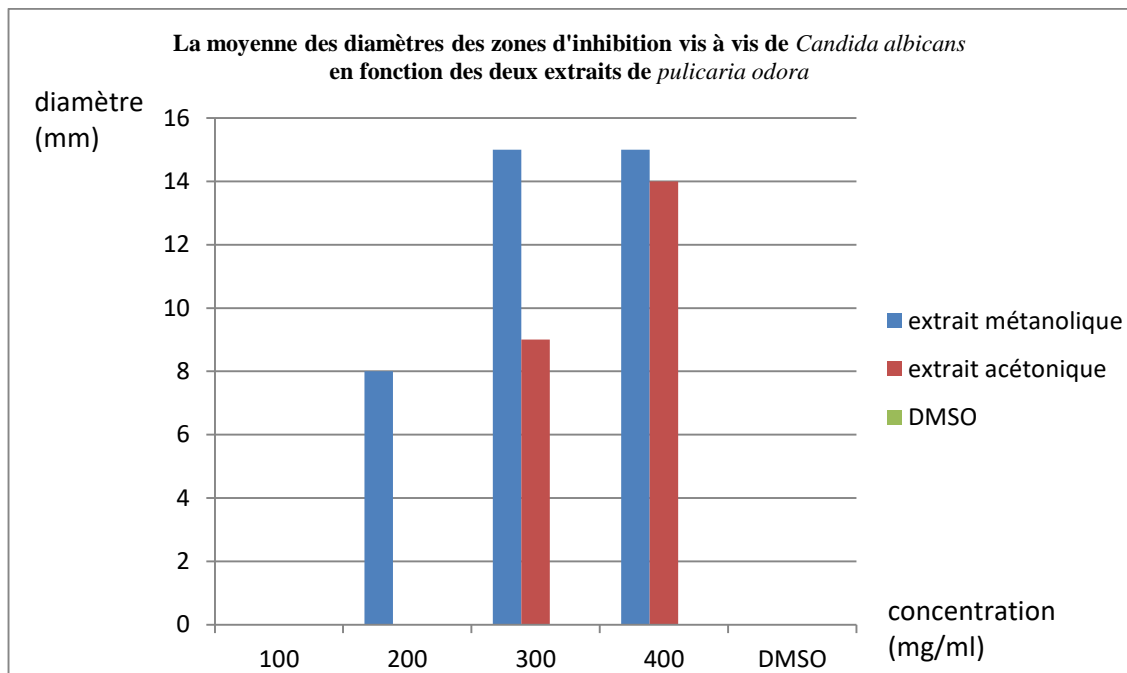


Figure 19 : La moyenne des diamètres des zones d'inhibition vis à vis de *C. albicans* en fonction des deux extraits de *P. odora*



Figure 20 : Résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique (a) et acétonique (b) de *P. odora* vis-à-vis de *C. albicans*.

Les diamètres des zones d'inhibition obtenus sont présentés dans les **tableaux 09 et 10** ci-dessous. Ils varient en fonction de la concentration des extraits et des souches microbiennes testées.

Tableau 09 : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) induites par l'extrait méthanolique de *P. odora* contre différentes souches microbiennes en fonction de concentration.

Souches Bactériennes	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	Les concentrations			
	100 mg/mL	200 mg/mL	300 mg/mL	400 mg/mL
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0±0	0±0	23±0,17	25±0,12
<i>B. spizizenii</i> ATCC 6633	0±0	0±0	23±0,29	27±0,22
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>P. aeruginosa</i> DSM 1117	0±0	07±0	10±0	12±0
<i>Candida albicans</i>	0±0	08±0,58	15±0,52	15±0,22

(0) Absence d'une zone d'inhibition.

Tableau 10 : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) induites par l'extrait acétonique de *P. odora* contre différentes souches microbiennes.

Souches Bactériennes	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	Les concentrations			
	100 mg/mL	200 mg/mL	300 mg/mL	400 mg/mL
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	13±0,06	15±0,17	18±0,20	23±0,22
<i>B. spizizenii</i> ATCC 6633	0±0	06±0,06	11±0	13±0,06
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>P. aeruginosa</i> DSM 1117	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>Candida albicans</i>	0±0	0±0	09±0,06	14±0,06

(0) Absence d'une zone d'inhibition.

1.5. Détermination de la CMI par méthode de microdilution en microplaque

Dans cette étude, la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits méthanolique et acétonique de *P. odora* a été évaluée à l'aide de la méthode de microdilution en microplaque, sur cinq souches microbiennes de référence. La CMI a été définie comme étant la plus faible concentration de l'extrait inhibant visiblement la croissance microbienne dans le puits, traduite par une absence de turbidité dans le milieu.

Les résultats obtenus pour l'extrait méthanolique sont présentés dans la **figure 21** et détaillés dans les **tableaux 11 et 12**. Une activité antimicrobienne notable a été observée à des concentrations variables selon les souches testées :

- *S. aureus* ATCC 25923 a été inhibée à 0,156 mg/mL,
- *B. spizizenii* ATCC 6633 à 1,25 mg/mL,
- *P. aeruginosa* DSM 1117 à 5 mg/mL,
- Et *C. albicans* à 1,25 mg/mL.

En revanche, aucune inhibition n'a été détectée contre *E. coli* ATCC 25922, même à la plus forte concentration testée.

Tableau 11 : Résultats des CMI obtenues par la méthode de microdilution sur microplaque d'extrait méthanolique de *P. odora*.

Puits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Concentration (mg/mL)	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	0.156	0.078	0.039	T+	T-
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	-	-	-	-	-	CMI	+	-
<i>B.spizizenii</i> ATCC 6633	-	-	-	-	CMI	+	+	+	+	+	+	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	CMI	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>P.aeruginosa</i> DSM 1117	-	-	CMI	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-	CMI	+	+	+	+	+	-

Contrôle positif (BN + inoculum)

(-) : Absence de trouble

| Contrôle négatif (BN seul)

| (+) : Présence de trouble

Concernant l'extrait acétonique (**Tableau 12**), une inhibition a été observée à 0,312 mg/mL pour *S. aureus* et à 0,625 mg/mL pour *C. albicans*. *P. aeruginosa* DSM 1117 a été inhibée à une concentration de 5 mg/mL, tandis que *E. coli* ATCC 25922, a montré une inhibition uniquement à la plus forte concentration testée (20 mg/mL). Aucune inhibition significative n'a été relevée chez *B.*

spizizenii ATCC 6633 dans les conditions expérimentales appliquées. Les CMI correspondent aux plus faibles concentrations pour lesquelles l'absence de trouble dans les puits indique une inhibition complète de la croissance microbienne.

Tableau 12 : Résultats des CMI obtenues par la méthode de microdilution sur microplaque d'extrait acétonique de *P. odora*

Puits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Concentration (mg/mL)	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	0.156	0.078	0.039	T+	T-
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	-	-	-	-	CMI	+	+	-
<i>B.spizizenii</i> ATCC 6633	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>E.coli</i> ATCC 25922	CMI	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>P. auruginosa</i> DSM 1117	-	-	CMI	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	CMI	+	+	+	-

Contrôle positif (BN + inoculum)
 (-) : Absence de trouble

Contrôle négatif (BN seul)
 (+) : Présence de trouble

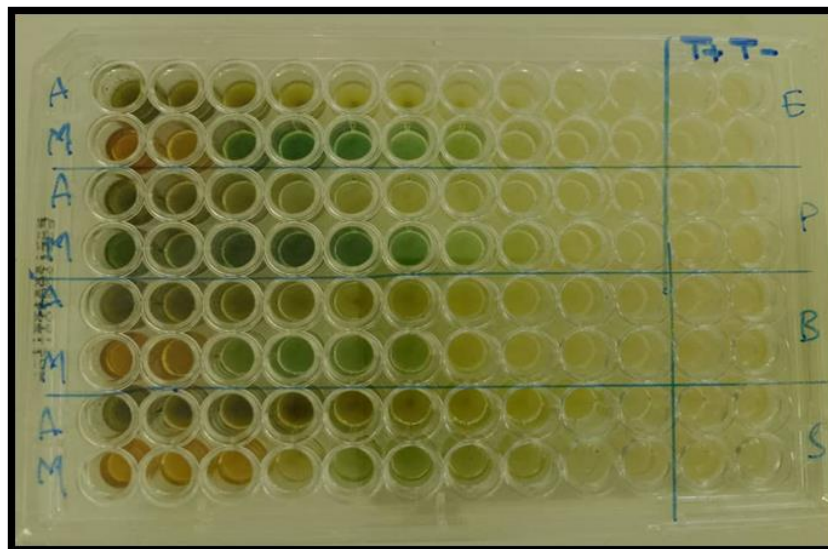


Figure 21 : Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits de *P. odora* par la méthode de microdilution en microplaque.

2. DISCUSSION

Les rendements d'extraction de *P. odora* varient selon le solvant utilisé : 17,5 % pour l'extrait méthanolique (résidu sec vert foncé) contre 10 % pour l'extrait acétonique (gel vert clair). Cette différence s'explique par la polarité plus élevée du méthanol, favorisant l'extraction de composés polaires comme les polyphénols.

Des études antérieures en Algérie et au Maroc (**Hocini et al., 2016 ; Saidani et al., 2023**) ont rapporté des rendements méthanoliques généralement supérieurs, soulignant l'influence de facteurs comme la qualité de la matière végétale, les conditions d'extraction (température, durée) et la nature du solvant (**Lee et al., 2003 ; Smith et al., 2001**).

Un rendement élevé traduit une bonne efficacité d'extraction, tandis qu'un faible rendement, comme observé avec l'acétone, peut résulter d'une faible solubilité des composés ou de pertes lors du séchage. Ce paramètre est essentiel pour l'optimisation des procédés et la valorisation des extraits végétaux.

Les profils observés confirment les comportements attendus selon la littérature. La résistance d'*E. Coli* ATCC 25922, à la vancomycine est cohérent avec la nature de sa paroi de Gram négatif, empêchant l'action de cet antibiotique glycopeptidique. La résistance intermédiaire à l'imipénem peut signaler la présence de carbapénémases, un mécanisme préoccupant chez les entérobactéries (**Nordmann et al., 2011 ; Munoz-Price et al., 2013**).

La sensibilité complète de *S. aureus* et *B. spizizenii* ATCC 6633 aux antibiotiques testés reflète l'absence de mécanismes de résistance majeurs. En particulier, l'absence de résistance à la méticilline et à la vancomycine chez *S. aureus* ATCC 25923 écarte la présence de phénotypes SARM, problématiques en milieu hospitalier (**Turner et al., 2019**).

La résistance multiple de *P. aeruginosa* DSM 1117 illustre sa nature opportuniste et sa capacité intrinsèque à résister à plusieurs classes d'antibiotiques, notamment les bêta-lactamines. Ce profil est bien documenté dans les études antérieures (**Livermore, 2002**), et souligne l'intérêt d'explorer des solutions alternatives comme les extraits végétaux, à l'image de *P. odora*.

Ces résultats confirment que les profils sensibles peuvent servir de référence dans l'évaluation de nouvelles substances antimicrobiennes, tandis que les profils résistants offrent un modèle pertinent pour tester l'efficacité de traitements alternatifs.

L'étude de l'activité antimicrobienne des extraits méthanolique et acétonique de *P. odora* a révélé des profils de sensibilité différenciés selon les souches testées. Les diamètres d'inhibition mesurés confirment une efficacité sélective des extraits, avec une action marquée contre les bactéries à Gram positif.

E. coli ATCC 25922, bactérie à Gram négatif, s'est montrée totalement résistante aux deux extraits, quelle que soit la concentration testée (100 à 400 mg/mL). Aucune zone d'inhibition n'a été observée, même à forte dose. Le témoin négatif (DMSO) n'a également montré aucun effet, validant l'absence d'interférence du solvant. Cette absence d'activité est cohérente avec la barrière structurale des bactéries à Gram négatif, dont la membrane externe riche en lipopolysaccharides (LPS) limite l'entrée de composés hydrophobes (Nikaido, 2003). Par conséquent, les composés bioactifs de *P. odora* pourraient ne pas être capables de franchir cette barrière, ou être inactifs contre cette souche.

À l'inverse, *S. aureus* ATCC 25923 et *B. spizizenii* ATCC 6633, deux bactéries à Gram positif, ont montré une sensibilité marquée, en particulier vis-à-vis de l'extrait méthanolique. Pour *S. aureus*, les diamètres d'inhibition atteignent jusqu'à 25 mm à 400 mg/mL, traduisant une activité significative. Quant à *B. spizizenii* ATCC 6633 une inhibition notable est observée dès 300 mg/mL, culminant à 27 mm. Cette affinité pourrait s'expliquer par la structure de la paroi bactérienne, composée d'une couche épaisse de peptidoglycane, plus accessible aux composés lipophiles dépourvus de membrane externe (Hanbali et al., 2005 ; Cushnie et Lamb, 2005).

Concernant *P. aeruginosa* DSM 1117, une bactérie notoirement résistante, seule une réponse modérée a été observée avec l'extrait acétonique à la plus forte concentration, générant une zone d'inhibition de 12 mm. Cette résistance partielle peut être attribuée à des mécanismes d'efflux actif et à la faible perméabilité de sa membrane externe (Poole, 2011). L'activité résiduelle pourrait néanmoins s'expliquer par la présence de composés semi-polaires extraits par l'acétone, susceptibles de franchir partiellement cette barrière ou d'agir en synergie.

La levure *C. albicans*, d'origine clinique, a également montré une sensibilité modérée à partir de 200 mg/mL, avec des diamètres d'inhibition variant de 14 à 15 mm pour les deux extraits. Cette activité antifongique suggère la présence de métabolites secondaires à large spectre, tels que le thymol ou le camphre, reconnus pour leur effet sur les membranes fongiques en altérant la biosynthèse de l'ergostérol (Zuzarte et al., 2013).

Ces résultats sont cohérents avec ceux de **Hanbali et al. (2005)**, qui ont démontré l'efficacité de l'huile essentielle de *P. odora* contre diverses souches bactériennes, en particulier les Gram positif. L'activité antimicrobienne a été notamment attribuée au thymol, un monoterpène phénolique aux propriétés antibactériennes et antifongiques bien établies. De même, l'étude de **Saidani et al. (2018)** sur des extraits foliaires algériens de *P. odora* a rapporté une forte inhibition de *S. aureus* et une activité plus réduite contre *P. aeruginosa* DSM 1117, en parfaite concordance avec nos observations.

Enfin, **Benmahammed et al. (2024)** ont récemment souligné l'importance de la méthode d'extraction, de la teneur en métabolites secondaires et du type de souche microbienne dans l'efficacité antimicrobienne observée. Les variations inter-études pourraient également être dues à des facteurs comme l'origine géographique des plantes, les conditions pédoclimatiques ou les paramètres techniques des protocoles expérimentaux (temps d'incubation, milieu de culture, etc.).

La méthode de microdilution en microplaque a permis d'évaluer de manière précise l'activité antimicrobienne des extraits méthanolique (70 %) et acétonique (100 %) de *P. odora* contre cinq souches microbiennes de référence. Les concentrations testées s'étendent de 20 à 0,039 mg/mL, permettant d'identifier le seuil d'efficacité pour chaque combinaison souche/extrait.

L'extrait méthanolique a montré une efficacité notable, en particulier contre *S. aureus* ATCC 25923, qui présente une sensibilité élevée avec une CMI estimée à 0,078 mg/mL. Cette faible valeur traduit une forte activité antimicrobienne, cohérente avec les résultats obtenus par la méthode de diffusion en gélose. *B. spizizenii* ATCC 6633 montre une inhibition nette à 2,5 mg/mL, soit une CMI modérée. En revanche, les bactéries à Gram négatif comme *E. coli* ATCC 25922 et *P. aeruginosa* DSM 1117 ont nécessité des concentrations plus élevées pour être inhibées. La croissance d'*E. coli* ATCC 25922, est stoppé à 10 mg/mL, tandis que *P. aeruginosa* DSM 1117 est inhibé uniquement à 5 mg/mL.

La levure *C. albicans* a montré une sensibilité intermédiaire, avec une CMI estimée à 1,25 mg/mL, indiquant une activité antifongique intéressante.

L'extrait acétonique (100 %), de polarité intermédiaire, présente une activité généralement plus modérée que l'extrait méthanolique. *S. aureus* reste sensible avec une CMI à 0,156 mg/mL, mais *B. spizizenii* ATCC 6633 montre une résistance notable avec une CMI > 20 mg/mL. Pour *E. coli* ATCC 25922, l'inhibition n'est observée qu'à la concentration maximale de 20 mg/mL, indiquant une faible efficacité. *P. aeruginosa* DSM 1117 est inhibée à 5 mg/mL, tandis que *C. albicans* est

sensible à 0,625 mg/mL, révélant une meilleure activité antifongique que celle de l'extrait méthanolique.

Ces résultats confirment que le solvant d'extraction influence significativement le profil antimicrobien. Le méthanol à 70 %, solvant polaire, favorise l'extraction de composés hydrophiles tels que les phénols, flavonoïdes et tanins, responsables de diverses activités biologiques : altération de la membrane, inhibition enzymatique, stress oxydatif (**Cushnie et Lamb, 2005**). L'acétone pure (100 %), moins polaire, extrait une autre fraction métabolique, ce qui peut expliquer la différence d'activité selon les souches.

La résistance accrue des souches à Gram négatif, notamment *E. coli* ATCC 25922, et *P. aeruginosa* DSM 1117, s'explique par la barrière de leur membrane externe lipopolysaccharidique, qui limite la pénétration des composés (**Nikaido, 2003 ; Poole, 2011**). Les différences dans la sensibilité de *C. albicans* pourraient être liées à des interactions avec les stérols membranaires fongiques comme l'ergostérol (**Zuzarte et al., 2013**).

En résumé, l'extrait méthanolique (70 %) de *P. odora* démontre une activité plus large et plus intense, notamment contre les souches Gram positif et fongiques, et constitue une base prometteuse pour l'isolement de composés naturels à visée antimicrobienne.



Conclusion et Perspectives

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les plantes médicinales constituent une source fiable et précieuse de principes actifs reconnus pour leurs propriétés thérapeutiques. De nombreuses espèces végétales présentent des propriétés biologiques significatives, leur conférant des applications variées dans des domaines tels que la médecine, la pharmacie ou encore l'agriculture.

L'objectif principal de ce travail était d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits méthanolique et acétonique de la plante *P. odora*, utilisée traditionnellement en médecine populaire, notamment dans la région méditerranéenne. Face à l'augmentation inquiétante de la résistance microbienne aux antibiotiques classiques, l'exploration de solutions naturelles représente une voie prometteuse pour le développement de nouveaux agents antimicrobiens.

Dans cette étude, deux approches complémentaires ont été utilisées : la méthode de diffusion en milieu solide (disques sur gélose Mueller-Hinton) et la méthode de microdilution en milieu liquide pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI). Les résultats ont mis en évidence une activité inhibitrice notable des deux extraits, en particulier celui obtenu avec le méthanol, plus efficace contre les souches bactériennes Gram positives telles que *S. aureus* ATCC 25923 et *B. spizizenii*. ATCC 6633 À l'inverse, les bactéries Gram négatives (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* DSM 1117) se sont montrées plus résistantes, ce qui peut être attribué à leur structure membranaire externe riche en lipopolysaccharides, limitant la diffusion des composés actifs.

L'efficacité supérieure de l'extrait méthanolique s'explique par sa capacité à extraire des composés bioactifs polaires tels que les flavonoïdes, les phénols et les tanins, connus pour leurs mécanismes d'action antimicrobiens variés (perturbation des membranes, inhibition enzymatique, induction de stress oxydatif). De plus, une relation dose-réponse claire a été observée, les zones d'inhibition augmentant proportionnellement à la concentration des extraits testés.

Nos résultats confirment ceux rapportés dans la littérature, notamment par **Belkacem et al. (2019)**, qui ont démontré une activité antimicrobienne significative des extraits méthanoliques de *P. odora*, et par **Bougandoura et Bendimerad (2013)**, qui ont mis en évidence l'effet inhibiteur de cette plante vis-à-vis de souches multirésistantes.

En conclusion, *P. odora* constitue une source végétale prometteuse d'agents antimicrobiens naturels, particulièrement contre les bactéries Gram+. Ces résultats ouvrent la voie à des perspectives intéressantes pour l'exploitation pharmacologique de cette plante.

Afin de valoriser davantage *Pulicaria odora*, quelques pistes de recherche future sont proposées.

- *Isolement et identification des composés actifs : Poursuivre l'étude en isolant les molécules bioactives responsables de l'effet antimicrobien, notamment les flavonoïdes, tanins et phénols.*
- *Élargissement du spectre microbien testé : Tester l'efficacité des extraits contre d'autres souches pathogènes, y compris des bactéries multirésistantes, des levures opportunistes et des champignons filamenteux.*
- *Études in vivo : Évaluer l'activité antimicrobienne et la toxicité des extraits sur des modèles biologiques animaux afin de confirmer leur potentiel thérapeutique.*
- *Formulation pharmaceutique : Développer des formes galéniques (pommades, crèmes ou solutions) à base d'extraits de *P. odora* pour une application topique potentielle.*
- *Études mécanistiques : Approfondir la compréhension des mécanismes d'action des extraits (effets sur la membrane, inhibition enzymatique, etc.)*



Références
Bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Ait Ouakrouch, A., Djeridane, A., et Yousfi, M. (2020). Phytochemical composition and antioxidant activity of *Pulicaria odora*. *Natural Product Research*, 34(13), 1851–1856.
2. Ali, B., Al-Wabel, N. A., Shams, S., Ahamad, A., Khan, S. A., ET Anwar, F. (2015). Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(8), 601–611.
3. Basri, D. F., et Fan, S. H. (2005). The potential of aqueous and acetone extracts of galls of *Quercus infectoria* as antibacterial agents. *Indian Journal of Pharmacology*, 37(1), 26–29.
4. Bekkara, F. A., Benmehdi, H., et Louail, C. (2018). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de quelques espèces de la famille des Astéracées. *Revue des Bioressources*, 8(1), 1–10.
5. Belkacem, N., Derdour, A., et Djeghim, M. (2019). Étude de l'activité antibactérienne des extraits de *Pulicaria odora* sur des souches bactériennes pathogènes. *Revue Nature et Technologie, Série A*, 20, 57–62.
6. Benariba, N., Djaziri, R., Bellakhdar, W., Guenane, N., Yousfi, H., Al-Sheikh, R., et Chibane, M. (2013). Phytochemical screening and free radical scavenging activity of *Pulicaria odora* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3(5), 393–398.
7. Bencheikh, N., Gharzouli, R., et Amroune, S. (2019). Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites de *Pulicaria odora*. *Journal Algérien des Régions Arides*, 16(1), 23–30.
8. Benmahammed, A., Basli, A., et Bouleknafet, F. (2024). Antioxidant and antimicrobial activities of natural polyphenolic *Pulicaria odora* extract on clinical isolates. *African Journal of Biological Sciences*, 6(16), 93–111.
9. Boudjelal, A., Henchiri, C., Sari, M., Sarri, D., Hendel, N., Benkhaled, A., et Ruberto, G. (2013). Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. *Journal of Ethnopharmacology*, 148(2), 395–402.
10. Bougandoura, N., et Bendimerad, N. (2013). Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *Pulicaria odora* (L.) Rchb. sur des souches bactériennes multirésistantes. *Phytothérapie*, 11, 320–326.
11. Bouharb, H., Bnouham, M., et Zellou, A. (2021). Medicinal plants with antibacterial activity: The case of *Pulicaria* genus. *Journal of Ethnopharmacology*, 273, 113960.
12. Bruneton, J. (2016). *Pharmacognosie: Phytochimie, plantes médicinales* (5e éd.). Lavoisier.
13. Cheynier, V. (2012). Phenolic compounds: From plants to foods. *Phytochemistry Reviews*, 11(2–3), 153–177.

14. CLSI. (2023). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (33e éd.). CLSI Supplement M100.
15. Cos, P., Vlietinck, A. J., Berghe, D. V., et Maes, L. (2006). Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'. *Journal of Ethnopharmacology*, 106(3), 290–302.
16. Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582.
17. Croteau, R., Kutchan, T. M., et Lewis, N. G. (2000). Natural products (secondary metabolites). In B. Buchanan, W. Grissem, et R. Jones (Eds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Plants* (pp. 1250–1318). American Society of Plant Physiologists.
18. Cushnie, T. P. T., et Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343–356.
19. Cushnie, T. P. T., et Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99–107.
20. Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174–181.
21. Davies, J., et Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74(3), 417–433.
22. Dixon, R. A. (2001). Natural products and plant disease resistance. *Nature*, 411(6839), 843–847.
23. Dobignard, A., et Chatelain, C. (2011). Index synonymique de la flore d'Afrique du Nord (Vols. 1–5). Conservatoire et Jardin botaniques.
24. Ekor, M. (2014). The growing use of herbal medicines: Issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Frontiers in Pharmacology*, 4, 177.
25. Eloff, J. N. (1998). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Medica*, 64(8), 711–713.
26. Emberger, L., et Chadefaud, M. (1960). *Traité de botanique* (Tome II). Masson et Cie.
27. Fabricant, D. S., et Farnsworth, N. R. (2001). The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives*, 109(Suppl 1), 69–75.
28. Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., et Guo, Z. (1985). Medicinal plants in therapy. *Bulletin of the World Health Organization*, 63(6), 965–981.

29. Feng, M., Wang, Y., Chen, X., Xu, L., Wang, W., Zhang, Y., et Wang, Y. (2020). Antimicrobial peptides as potential new antibiotics for the treatment of multi-drug resistant infections. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1659.
30. Frédéric, É. (2022). Les phénols et les polyphénols.
31. Hanbali, F., Akssira, M., Ezoubeiri, A., Gadhi, C., Mellouki, F., Benherraf, A., Blazquez, A. M., et Boira, H. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Pulicaria odora* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(3), 399–401.
32. Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis* (3e éd.). Springer.
33. Harborne, J. B., et Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481–504.
34. Heinrich, M., Ankli, A., Frei, B., Weimann, C., et Sticher, O. (1998). Medicinal plants in Mexico: Healers' consensus and cultural importance. *Social Science et Medicine*, 47(11), 1859–1871.
35. Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., et Williamson, E. M. (2018). *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy* (3e éd.). Elsevier Health Sciences.
36. Henry, P. (1970). *La gemmothérapie : thérapeutique par les tissus embryonnaires végétaux*. Maloine.
37. Hopkins, W. G., et Hüner, N. P. A. (2009). *Introduction to Plant Physiology* (4e éd.). Wiley.
38. Hassiotis, C. N. (2022). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils and polyphenolic extracts of aromatic plants: A review. *Plants*, 11(6), 791.
39. Khamar, M. H., Boudiaf, K., et Hellal, A. (2016). Composition chimique de l'huile essentielle de *Pulicaria odora* récoltée dans la région de Biskra. *Revue des Bioressources*, 6(1), 44–53.
40. Khalfallah, A., Djebli, N., Chikhi, I., Boudjemaa, A., et Bekkar, A. (2022). Phytochemical composition and antimicrobial activity of *Pulicaria odora* essential oil. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 19(3), 45–54.
41. Livermore, D. M. (2002). Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Our worst nightmare? *Clinical Infectious Diseases*, 34(5), 634–640.
42. Mahmoudi, A., Mouhouche, F., Mouhouche, B., Boutemedjet, S., et Mouffok, F. (2015). Étude phytochimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Pulicaria odora*. *Journal Algérien des Régions Arides*, 15, 60–67.
43. Mahmoudi, R., Bensoltane, A., et Meziane, T. (2013). Étude de l'activité antibactérienne d'extraits de plantes médicinales utilisées dans la médecine traditionnelle algérienne. *Phytothérapie*, 11, 321–326.

44. Morris, C. E., Monnet, V., et Biondi, E. (2020). Intrinsic antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Mechanisms and modulation. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2289.
45. Munoz-Price, L. S., et Quinn, J. P. (2013). The spread of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases: A tale of strains, plasmids, and transposons. *Clinical Infectious Diseases*, 57(4), 539–543.
46. Nikaido, H. (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 593–656.
47. Nordmann, P., Naas, T., et Poirel, L. (2011). Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerging Infectious Diseases*, 17(10), 1791–1798.
48. Nouasri, A., Boumendjel, M., Boucherit-Otmani, Z., et Boucherit, K. (2022). Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *Pulicaria odora* sur des souches multirésistantes. *Revue des Bioressources*, 12(3), 67–76.
49. Panizzi, L., Caponi, C., Catalano, S., Cioni, P. L., et Morelli, I. (2002). In vitro antimicrobial activity of extracts and isolated constituents of *Rubus ulmifolius*. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(2), 165–168.
50. Poole, K. (2011). *Pseudomonas aeruginosa*: Resistance to the max. *Frontiers in Microbiology*, 2, 65.
51. Prindle, R. F., et Wright, E. S. (1977). Phenolic compounds. In A. C. Corcoran et F. J. Merton (Eds.), *Natural Antimicrobial Systems* (pp. 89–109). Marcel Dekker.
52. Rios, J. L., et Recio, M. C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1–2), 80–84.
53. Saidani, N., Boussahel, S., Kadri, A., et Boutefnouchet, N. (2023). Antibacterial and antioxidant activities of Algerian *Pulicaria odora* extracts. *African Journal of Plant Science*, 17(1), 12–22.
54. Schultes, R. E., et Raffauf, R. F. (1990). *The Healing Forest: Medicinal and Toxic Plants of the Northwest Amazonia*. Dioscorides Press.
55. Sofowora, A. (1993). *Medicinal Plants and Traditional Medicine in Africa* (2nd ed.). Spectrum Books.
56. Souad, S., Djazouli, Z., Boudjedjou, R., et Khazri, H. (2022). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *Pulicaria odora*. *Revue Algérienne des Sciences Appliquées*, 8(2), 93–101.
57. Tariq, A., Mussarat, S., Adnan, M., AbdElsalam, N. M., Ullah, R., Khan, A. L., et Ali, N. (2016). Ethnomedicinal study of medicinal plants used by traditional healers in Punjab, Pakistan. *Journal of Ethnopharmacology*, 179, 118–127.

58. Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., et Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction: A review. *International Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98–106.
59. Turner, N. A., Sharma-Kuinkel, B. K., Maskarinec, S. A., Eichenberger, E. M., Shah, P. P., Carugati, M., et Fowler, V. G. (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: An overview of basic and clinical research. *Nature Reviews Microbiology*, 17(4), 203–218.
60. Vlietinck, A. J., Van Hoof, L., Totte, J., Lasure, A., Vanden Berghe, D., Rwangabo, P. C., et De Clercq, E. (1995). Screening of hundred Rwandese medicinal plants for antimicrobial and antiviral properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 46(1), 31–47.
61. WHO. (2013). *Traditional medicine strategy: 2014–2023*. World Health Organization.
62. Zaouali, Y., Bouzaine, T., et Boussaid, M. (2010). Essential oils composition in two *Pulicaria* taxa growing wild in Tunisia: *Pulicaria mauritanica* Coss. and *Pulicaria odora* (L.) Rchb. *Industrial Crops and Products*, 32(3), 621–627.
63. Zuzarte, M., Gonçalves, M. J., Canhoto, J., Cavaleiro, C., Vale-Silva, L., Silva, M. J., et Salgueiro, L. (2013). Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Lavandula viridis* L'Hér. *Journal of Medical Microbiology*, 62(Pt 9), 1471–1478.

WEBOGRAPHIE :

<https://www.tela-botanica.org/> . Consulté le 30 mai 2025.

<https://api.tela-botanica.org/img:002138702o.jpg>

<https://apps.who.int/iris/handle/10665/265180>

<https://www.who.int/publications/i/item/9789241506090>

<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:240577-1> . Consulté le 30 mai 2025.