

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE et SCIENCE DE LA TERRE
DEPARTEMENT DES SCIENCES



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2020

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Biologie
Spécialité: Microbiologie appliquée

Présenté par :

CHATBI Nacima & DRISSI Saliha

Thème

Activité antibactérienne des extraits éthanoliques de Persea americana

Soutenu le : 17/09/2020

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

Mme. BOUTELDJA Razika

MCB

Univ. de Bouira

Présidente

Mlle. AIT MIMOUNE Nouara

MCB

Univ. de Bouira

Promotrice

Mme. BENSMAIL Souhila

MCB

Univ. de Bouira

Examinatrice

Année Universitaire : 2019/2020



Remerciements

*On remercie **Dieu Allah** le tout puissant de nous avoir donné le courage et la patience de réaliser ce modeste travail.*

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans avoir de l'aide. Nos plus grands remerciements vont à :

*Madame **AIT MIMOUNE NOUARA** enseignante aux départements de biologie Université de Bouira pour avoir dirigé ce travail et accepter de l'encadrer. Ses compétences, ses précieux conseils, et ses grandes qualités scientifiques et humaines ont constitué un support permanent à notre réflexion. Sa disponibilité et sa gentillesse à notre égard ont contribué au bon déroulement de ce travail. On a trouvé en elle une promotrice toujours disponible et ouverte.*

*Il est évident qu'on ne peut oublier de remercier les membres de jury Mme **BOUTELDJA Razika** et Mme **BENSMAIL Souhila** qui se sont penchés un tant sur ce travail et ont assisté à la soutenance. Veuillez trouver ici nos messages de profonde sympathie et de gratitude.*

Enfin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail ou qui nous ont encouragé et soutenu à tout moment.



Merci

Nacima & Salha

Dédicace

*Tout d'abord, je remercie mon «**Dieu**» le tout puissant qui m'a donné, la volonté, le courage, la patience et l'endurance et qui a guidé mes pas vers le droit chemin pour réaliser ce travail.*

Je dédie ce mémoire :

*A ceux qui m'ont tout donné sans rien attendre en retour A ceux qui m'ont encouragée et soutenue durant toutes mes années d'études : mes **chers parents** qui sont la lumière de mes yeux, tous les mots sont insuffisants pour exprimer ma gratitude, ma reconnaissance et mon amour. Que le tout puissant les garde et les protégés*

*A notre promotrice Mme **AIT MIMOUNE NOUARA** pour son dévouement exemplaire et ses conseils constructifs, pour sa modestie, sa générosité et son encouragement*

A ma chère sœur : Lamia

A mes chers frères : Fouad & Massinissa

A mon cher binôme Saliha et sa Famille

*Aux membres du jury qui ont bien voulu consacrer une partie de leur temps pour juger ce travail : Mme **BOUTELDJA Razika** pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de notre soutenance. Mme **BENSMAIL Souhila** pour l'honneur qu'elle nous a accordé en acceptant d'examiner notre mémoire.*

Merci Merci Merci



Nacima

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour à ceux qui m'arrosent de tendresse et d'espoirs : mes **chers parents**, pour tous leur sacrifices, leur amour, leur soutien tout au long de mon cursus universitaire.*

À mes chers frères et sœurs pour leurs appuis et leurs encouragements permanents.

*Ma sincère dédicace à Mme **AIT MIMOUNE NOUARA**, pour ces conseils et sa présence à nos côtés jusqu'à la fin de notre travail.*

À mon binôme et ma sœur : Nacima, pour les belles années que nous avons passées ensemble, pour chaque moment heureux et triste ensemble, ta véritable amitié et ton soutien continu pour moi m'ont fait espérer la réussite dans mes études.

À ma chère amie et la lumière de mon chemin : Rania, ma vie à tes côtés est remplie de belles surprises, tes sacrifices, ton soutien normal, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études.

À mon défunt grand père, ceci est ma profonde gratitude pour ton Eternel amour, que ce travail soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir.

Merci Merci Merci



Saliha

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

ADP : Adénosine diphosphate.

AGPI : Acides gras poly-insaturés.

ARN : Acide ribonucléique.

CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

FDA : Food and Drug Administration.

GAS : Streptocoque du groupe A.

GHz : Gigahertz.

H : Humidité.

h : heure.

H⁺ : Ion d'hydrogène

KCN : Cyanure de potassium

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

R : Rendement.

SIDA : Syndrome d'Immuno Déficience Acquise.

V : volume.

Liste des figures

Figure 01 : Arbre de <i>Persea americana</i>	01
Figure 02 : Les variétés de <i>P. americana</i>	03
Figure 03 : Effet de <i>P. americana</i> et de ses composants sur les voies de transduction du signal cellulaire.....	09
Figure 04 : Aspects macroscopique et microscopique de <i>Staphylococcus aureus</i>	13
Figure 05 : Activités composant la virulence de <i>Staphylococcus aureus</i>	14
Figure 06 : Aspects macroscopique et microscopique de <i>Listeria monocytogenes</i>	16
Figure 07: Aspects macroscopique et microscopique d' <i>Escherichia coli</i>	18
Figure 08 : Aspects macroscopique et microscopique de <i>Bacillus cereus</i>	20
Figure 09 : Aspects macroscopique et microscopique de <i>Streptococcus pyogenes</i>	22
Figure 10 : Schéma d'une coupe de <i>Streptococcus pyogenes</i> composant les différents antigènes.....	23
Figure 11 : Aspects macroscopique et microscopique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24
Figure 12 : Feuilles (A), et noyaux (B) de <i>P. americana</i>	29
Figure 13 : Poudres obtenues après broyage des feuilles (A) et des noyaux (B) de <i>P. americana</i>	29
Figure 14 : Schéma illustrant l'extraction hydro-éthanolique de <i>P. americana</i>	31
Figure 15 : Filtration des extraits et récupération des filtrats.....	32
Figure 16 : Les extraits secs des feuilles et noyaux de <i>P. americana</i>	32
Figure 17 : Schéma illustrant la méthode de diffusion sur disque.....	34
Figure 18 : Schéma illustrant la méthode de diffusion en puits.....	35
Figure 19 : Diagramme illustrant les résultats des taux d'humidité des feuilles et noyaux de <i>P. americana</i>	38

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification de <i>Persea americana</i>	05
Tableau 02 : Valeur nutritionnelle de l'avocat.....	07
Tableau 03 : Couleur et rendement de différents extraits secs de <i>P. americana</i>	39
Tableau 04 : Rendement des extraits éthanolique et aqueux de <i>P. americana</i>	40
Tableau 05 : Diamètre (mm) des zones d'inhibition des extraits éthanoliques des feuilles et des noyaux de <i>P. americana</i>	42

Table des matières

Introduction.....	01
-------------------	----

Chapitre 01 : Partie bibliographique

I.1.Généralités sur <i>Persea americana</i>.....	03
I.1.1. Description botanique.....	03
I.1.2. Taxonomie.....	04
I.1.3. Classification.....	05
I.1.3.1. La race Mexicaine.....	05
I.1.3.2. La race Ouest Indien.....	06
I.1.3.3. La race Guatémaltèque.....	06
I.1.4. Composition biochimique.....	07
I.1.5. Activités biologiques.....	08
I.1.5.1. Activité antioxydante.....	08
I.1.5.2. Activité anti-cancéreuse.....	08
I.1.5.3. Activité anti-inflammatoire.....	10
I.1.5.4. Activité antibactérienne.....	10
I.2. Généralités sur les bactéries pathogènes.....	11
I.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	12
I.2.2. <i>Listeria monocytogenes</i>	14
I.2.3. <i>Escherichia coli</i>	16
I.2.4. <i>Bacillus cereus</i>	19
I.2.5. <i>Streptococcus pyogenes</i>	20
I.2.6. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23
I.3. Les techniques d'extraction des polyphénols.....	25
I.3.1. Macération.....	26
I.3.2. Autres techniques d'extraction.....	26

Chapitre 02 : Matériel et méthodes

II.1. Matériel.....	28
II.1.1. Matériel non biologique.....	28
II.1.2. Matériel végétal.....	28
II.2. Méthodes.....	29
II.2.1. Broyage et tamisage.....	29
II.2.2. Calcul du taux d'humidité.....	30

II.2.3. Extraction éthanolique.....	30
II.2.4. Calcul du rendement.....	33
II.3. Évaluation de l'activité antibactérienne.....	33
II.3.1. Méthode de diffusion sur disque.....	33
II.3.2. Méthode de diffusion de puits.....	34
II.3.3. Concentration minimale inhibitrice (CMI).....	35
II.3.4. Concentration minimale bactéricide (CMB).....	35

Chapitre 03 : Résultats et discussion

III.1. Résultats et discussion.....	37
III.1.1. Taux d'humidité.....	37
III.1.2. Rendement d'extraction.....	38
III.2. Activité antibactérienne des extraits éthanolique de <i>P. americana</i>.....	41
Conclusion.....	45

Références bibliographique

Introduction

Introduction

En Algérie comme dans les autres pays en voie de développement, les maladies infectieuses constituent un problème de santé publique à cause de leur fréquence et de leur gravité [1]. Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'Antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. Leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés : les métabolites secondaires [2].

Les substances naturelles connaissent un intérêt croissant dans les domaines cosmétique, pharmaceutique et agroalimentaire. Dans le domaine pharmaceutique, environ 60% à 70% des médicaments antibactériens sont des substances d'origine naturelle, et près de 25% des prescriptions sont à base de plantes [3]. L'OMS estime que, pour se soigner, 80% de la population africaine a recourt à la médecine traditionnelle pour laquelle la majeure partie des thérapies implique l'exploitation des principes actifs des plantes médicinales [1]. En effet, les substances naturelles d'origine végétale sont douées de plusieurs activités biologiques comme l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse, antimicrobienne... etc [3].

La médecine traditionnelle apporte ses propres solutions pour le traitement des infections bactériennes et fongiques, pour le traitement du paludisme, des infections opportunistes, du diabète, de l'hypertension artérielle et de la drépanocytose [4]. Néanmoins, la situation est plus préoccupante à cause de l'apparition des souches bactériennes antibiorésistantes et l'émergence des infections non communes qui compromettent les traitements à l'aide des médicaments existants [1].

Face à ces nombreux obstacles que présente l'utilisation des antibiotiques, la recherche de nouvelles substances antibactériennes efficaces et à large spectre d'action devient indispensable. Une recherche scientifique sur les plantes médicinales s'avère donc nécessaire pour améliorer la production de médicaments traditionnels et à faible coûts qui seront accessibles à un plus grand nombre de la population [4].

Notre travail avait pour objectif l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques des feuilles ainsi que les noyaux de *Persea americana* cultivé en Algérie. Malheureusement suite aux événements qu'a connus notre pays cette année (COVID19), l'université de Bouira a dû fermer ses portes pour faire face à cette pandémie, ce qui nous a mis dans l'incapacité d'achever notre stage pratique au niveau de laboratoire d'analyse de biologie médicale Sayah qui se trouve au centre de la Wilaya de Bouira.

Le coronavirus qui s'est propagé dans le monde entier a été signalé pour la première fois à Wuhan, en Chine, le 31 décembre 2019. COVID19 est un virus respiratoire qui se propage principalement par contact avec une personne infectée par le biais de gouttelettes respiratoires, ou par des gouttelettes de salive ou des sécrétions nasales. Il est important que chacun observe de bonnes règles d'hygiène, ce qui n'est souvent pas facile à respecter surtout pour les étudiants dans les lieux de stage.

Donc ce travail s'articule autour de trois chapitres :

1. Les différentes connaissances bibliographiques seront abordées sur l'origine du *Persea americana*, sa classification, ses différentes variétés, sa composition biochimique, ses propriétés biologiques, des généralités sur les bactéries pathogènes, ainsi les techniques d'extraction
2. Le matériel et les méthodes utilisées pour la préparation des extraits végétaux.
3. Le dernier chapitre se concentre sur les résultats obtenus et l'évaluation de l'activité antibactérienne de *P. americana*.

Chapitre 01

I.1. Généralités sur *Persea americana*

I.1.1. Description botanique

Persea americana Mill, appelé plus communément avocatier, est un arbre de la famille des Lauraceae [5], originaire d'une vaste zone géographique s'étendant des hautes terres orientales et centrales du Mexique en passant par le Guatemala jusqu'à la côte pacifique de l'Amérique centrale [6]. Il se développe dans un climat tropical à sous-tropical. Au naturel, il peut faire jusqu'à 20 mètres de haut. Son fruit est une drupe, il a la peau allant du vert au noir et contient un gros noyau (Figure 01) [5].

Des preuves archéologiques indiquent que l'utilisation et la sélection de cette culture se sont poursuivies au Mexique pendant une période de 10 000 ans [6]. Il existe environ 400 cultivars, qui sont majoritairement cultivés à des fins alimentaires. De plus, de nombreuses propriétés médicinales lui sont reconnues, comme son action **vermifuge** ou contre la fièvre. Aujourd'hui, beaucoup de pays cultivent cet arbre, mais le Mexique reste le leader. Cependant, les pays européens les importent, car leur climat n'est pas favorable à la culture [5].



Figure 01 : Arbre de *Persea americana* [49].

Les feuilles de l'avocatier sont vertes et coriaces. Les fleurs, vertes aussi, elles s'ouvrent au début de la saison humide qui caractérise par des précipitations abondantes sur plusieurs

mois. Les organes mâles et femelles n'arrivent pas à maturité en même temps au sein d'un même arbre, il en faut donc au moins deux proches l'un de l'autre pour avoir des fruits [5]. Les feuilles sont persistantes, brillantes, de forme elliptiques en nombre de 4 à 8 et de 10 à 20 cm de long. L'arbre de *P. americana* est cultivé pour ses fruits délicieux et très nutritifs (riches en vitamines) [9]. L'avocatier est retrouvé sous trois variétés : le mexicain, le guatémalien et l'indien de l'est [5].

I.1.2. Taxonomie

Les recherches sur l'origine de l'avocatier ont été rendues difficiles du fait des incertitudes sur la détermination des *Persea* à l'époque des travaux de POPENOE. En 1934, les grandes différences d'appellations vernaculaires entre les diverses régions où les Espagnols ont découvert l'avocatier cultivé compliquèrent la tentative de taxonomie. Actuellement, les spécialistes de la taxonomie s'accordent sur la classification au niveau de la classe (Dicotylédone), de la famille (Lauracées) et du genre (*Persea*). Au niveau de l'ordre, certains botanistes admettent que le genre *Persea* appartient aux Magnoliales, alors que d'autres le classent dans les Ranales (Tableau 01) [8].

Le nombre total des espèces du genre *Persea* dans l'hémisphère occidental est d'environ 81, comportant 18 variétés divisées en deux groupes (ou sous-genres). Un groupe est le *Eriodaphne* ou groupe redbay contenant la plupart des espèces. Le deuxième groupe est le groupe *Persea* ou avocat qui comprend six espèces ou variétés [7].

P. americana Mill. se compose de plusieurs taxons distincts pouvant être considérés comme des variétés ou sous-espèces botaniques, qui sont comme races «horticoles» dans la littérature populaire. Au sein de ce groupe on retrouve les variétés qui composent les avocats commerciaux, à savoir *P. americana* var. **americana** Mill. l'Ouest Indien ou plaine Avocat, var. **drymifolia**, l'avocat mexicain et var. **guatemalensis**, l'avocat guatémaltèque, tous les trois sont considérés comme des écotypes géographiques. De plus, var. **nubigena**, var. **steyermarkii**, var. **zentmyerii**, et var. **tolimanensis**, sont reconnus comme des variétés distinctes de *Persea americana* Mill et sont considérées comme contribuant à l'ascendance de var. *guatemalensis*. Le membre le plus reconnaissable du genre *Persea* est probablement l'avocat *Persea americana* d'Amérique centrale [7].

Bien que l'ascendance raciale ait été identifiée comme le facteur le plus important influençant la susceptibilité au froid, d'autres facteurs tels que la taille, l'âge et la vigueur des

arbres, la charge des cultures et les pratiques culturelles se sont également avérés responsables des dommages causés par le froid [10].

Tableau 01 : Classification de *Persea americana* [11].

Règne	Plantae
Classe	Mangoliopsida
Ordre	Laurales
Famille	Lauraceae
Genre	<i>Persea</i>
Espèce	<i>Persea americana</i>

I.1.3. Classification

La classification botanique de l'avocat comporte trois races (mexicaine, ouest indienne et guatémalteque) (Figure 02), qui comportent des différences dans la maturité des fruits, et dans leur teneur en huile. Parmi les nombreuses variétés d'avocats, Hass est celle qui est la plus répandue dans le monde. En mûrissant, la pelure de l'avocat Hass change d'une couleur verte à pourpre foncé. Les avocats Hass sont plus ovales que les autres variétés. En moyenne les fruits de cette variété pèsent environ 140 à 340 g, ont une petite graine et contiennent une bonne quantité de chair comestible.

Les avocats Shepard ont la peau verte et sont disponibles en Australie uniquement. Le poids moyen d'un fruit est de 200 à 320 g et sa chair est jaune beurre. La particularité des fruits de la variété Shepard est que la chair ne se décolore pas facilement lorsqu'elle est coupée [12].

I.1.3.1. La race Mexicaine

Originaire des montagnes du Mexique et d'Amérique centrale, elle se caractérise par des fruits relativement petits, allant de 75 à 300 g, avec une peau fine et lisse. Les fruits de la race mexicaine sont principalement à peau verte qui devient noires brillantes à maturité (Mexicola Grande et Hass) [10,13]. La pulpe est de couleur verte avec une teneur très élevée en huile (jusqu'à 30% en poids frais). Les cultivars mexicains sont bien adaptés aux climats frais des régions tropicales et subtropicales et sont les plus tolérants au froid des trois races. Ses arbres matures sont capables de résister à des températures aussi basses que -4°C [10].

I.1.3.2. La race Ouest Indien

Originaires des plaines d'Amérique centrale et du nord d'Amérique du Sud, ils sont mieux adaptés aux conditions tropicales (température et d'humidité élevées). Ils se caractérisent par une taille de fruit intermédiaire, avec une peau lisse, coriace et parfois brillante comme les variétés Russell et Hardee [10, 14]. Les avocatiers des Antilles sont les plus sensibles au froid et sont endommagés par des températures inférieures à $-1,2^{\circ}\text{C}$ [10].

I.1.3.3. La race Guatémaltèque

Ils sont originaires des hauts plateaux d'Amérique centrale. Les cultivars guatémaltèques sont intermédiaires entre les deux autres cultivars en ce qui concerne l'adaptation climatique. Les fruits sont gros, en moyenne de 500 à 600 g, ovoïdes ou en forme de poire (Wurtz et Golden) et deviennent vert noirâtre à maturité. Ils sont caractérisés par une pelure cassante, épaisse et une teneur élevée en huile [10, 13].



Russell (type Ouest Indien) Hardee (type Ouest Indien) Mexicola Grande (type Mexicain)



Hass (type Mexicain) Wurtz (type Guatémaltèque) Golden (type Guatémaltèque)

Figure 02 : Les variétés de *Persea americana* [13, 14].

I.1.4. Composition biochimique

Reconnu pour sa valeur nutritive élevée, le fruit de l'avocatier est utilisé comme aliment à haute valeur énergétique [16]. Les avocats contiennent un certain nombre de composés phytochimiques bioactifs, notamment des caroténoïdes, des terpénoïdes, du D-mannoheptulose, des phénols et du glutathion qui auraient des propriétés anti-cancéreuses [15].

La teneur en lipides dans les fruits d'avocat est plus élevée en comparaison à d'autres fruits [16]. L'avocat est un fruit très riche en acides gras mono-insaturés qui contient une forte teneur en lutéine (70% des caroténoïdes mesurés). Il contient également de fortes concentrations en vitamines A, C, D et E, des protéines, bêta-carotène, lécithine, potassium, ainsi de divers phospholipides et glycolipides (Tableau 02) [17].

Tableau 02 : Valeur nutritionnelle de l'avocat [18].

Avocat cru (valeur nutritive pour 100g)			
Eau : 73,23g	Cendre totales : 1,58g	Fibres : 6,7 g	Valeur énergétique : 160 Kcal
Protéines : 2g	Lipides : 14,66 g	Glucides : 8,53 g	Sucre simple : 0,66 g
Oligo-éléments			
Potassium : 485 mg	Magnésium : 29 mg	Phosphore : 52 mg	Calcium : 12 mg
Sodium : 7 mg	Zinc : 640 µg	Fer : 550 µg	Cuivre : 190
Vitamines			
Vitamine C : 10,0 mg	Vitamine B1 : 67 µg	Vitamine B2 : 130 µg	Vitamine B3 : 1738 µg
Vitamine B5 : 1389 µg	Vitamine B6 : 257 µg	Vitamine B9 : 0 µg	Vitamine B12 : 0 µg
Vitamine A : 146 µl	Rétinol : 0 µg	Vitamine E : 2,07 mg	vitamine K : 21 µg
Acides gras			
Saturé : 2126 mg	Mono-insaturés : 9799 mg	Poly-insaturés : 1816 mg	Cholestérol : 0 mg

L'avocat en lui-même n'est pas riche en protéines : environ 2 g pour 100 g. Cependant, il contient de nombreux éléments précurseurs (pro-protéine) indispensables à la synthèse des protéines comme la vitamine K, le cuivre ou encore la vitamine B6 [18].

Des études réalisées sur des extraits de fruits et de feuilles d'avocat ont montré la présence des catéchines, des procyanidines et des acides hydroxycinnamiques (provenant des graines et de la pulpe), décrits comme des agents antioxydants et antimicrobiens. De plus, des dérivés d'acide abscisique (ABA) et de petits polyphénols tels que le salidroside, ainsi que des dimères et trimères de type A de procyanidines, ont été identifiés comme les principaux produits obtenus à partir des extraits des graines d'avocat [19].

I.1.5. Activités biologiques

I.1.5.1. Activité antioxydante

Le stress oxydatif induit par les radicaux libres cause de graves dommages aux biomacromolécules, ce qui entraîne la mort cellulaire [20]. Le radical hydroxyle est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras poly-insaturés (AGPI) : c'est la phase d'initiation. Le radical lipidique réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxy suffisamment réactif pour arracher un H⁺ à un AGPI voisin pour former des molécules stables [21, 108].

Il existe un nombre important d'antioxydants synthétiques très efficaces, mais de nombreux effets secondaires leur sont associés. Les plantes sont une source inépuisable de substances antioxydantes. Dans le cas du fruit d'avocat, la présence des acides gras insaturés lui confère une haute activité antioxydante via l'inhibition de l'acétyl CoA carboxylase. La fraction lipophile du fruit est riche en tocophérols et caroténoïdes. Les composés polyphénoliques liposolubles des fruits de l'avocat peuvent être responsables de son action de piégeage du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) [20].

I.1.5.2. Activité anti-cancéreuse

Le cancer provoque plus de décès que le syndrome d'immunodéficience acquise, la tuberculose, le paludisme et le diabète combinés. Les effets secondaires et la toxicité associés à la chimiothérapie font également du cancer l'une des maladies les plus difficiles à traiter. Entre 1981 et 2010, les produits naturels et leurs dérivés représentaient plus de 45% des médicaments anticancéreux approuvés par la FDA. Aux États-Unis, plusieurs produits d'origine végétale seuls ou associés aux chimiothérapies et radiothérapies traditionnelles, sont utilisés par environ 50 à 60% des patients atteints de cancer [23].

Les propriétés cytotoxiques *in vitro* de l'avocat contre différents types de lignées cellulaires cancéreuses, notamment le sein, le côlon, le foie, les poumons, le larynx, la leucémie,

l'œsophage, la bouche, l'ovaire et la prostate ont été largement rapportées dans la littérature [23]. Il a été précédemment démontré que les extraits d'avocat et leurs fractions pouvaient induire l'apoptose (médiée par la caspase) et l'arrêt du cycle cellulaire sur des lignées de cellules cancéreuses [22].

À ce jour, un nombre limité d'études se sont penchées sur les effets des graines d'avocat sur le cancer. Le traitement des cellules cancéreuses du sein avec un extrait méthanolique de graines d'avocat induit l'apoptose médiée par la caspase 3, un clivage de la poly (ADP-ribose) polymérase (PARP) et un arrêt du cycle cellulaire, ainsi qu'une réduction de la translocation nucléaire de facteur kappa-B (NF- κ B) (Figure 03) [23].

De même, il a été démontré que les extraits éthanoliques de l'endocarpe, des graines et des feuilles d'avocat activaient le facteur de transcription p53, la caspase-3 et le facteur induisant l'apoptose via la dépolérisation de la membrane mitochondriale dans les cellules de leucémie lymphoblastique de Jurkat [23].

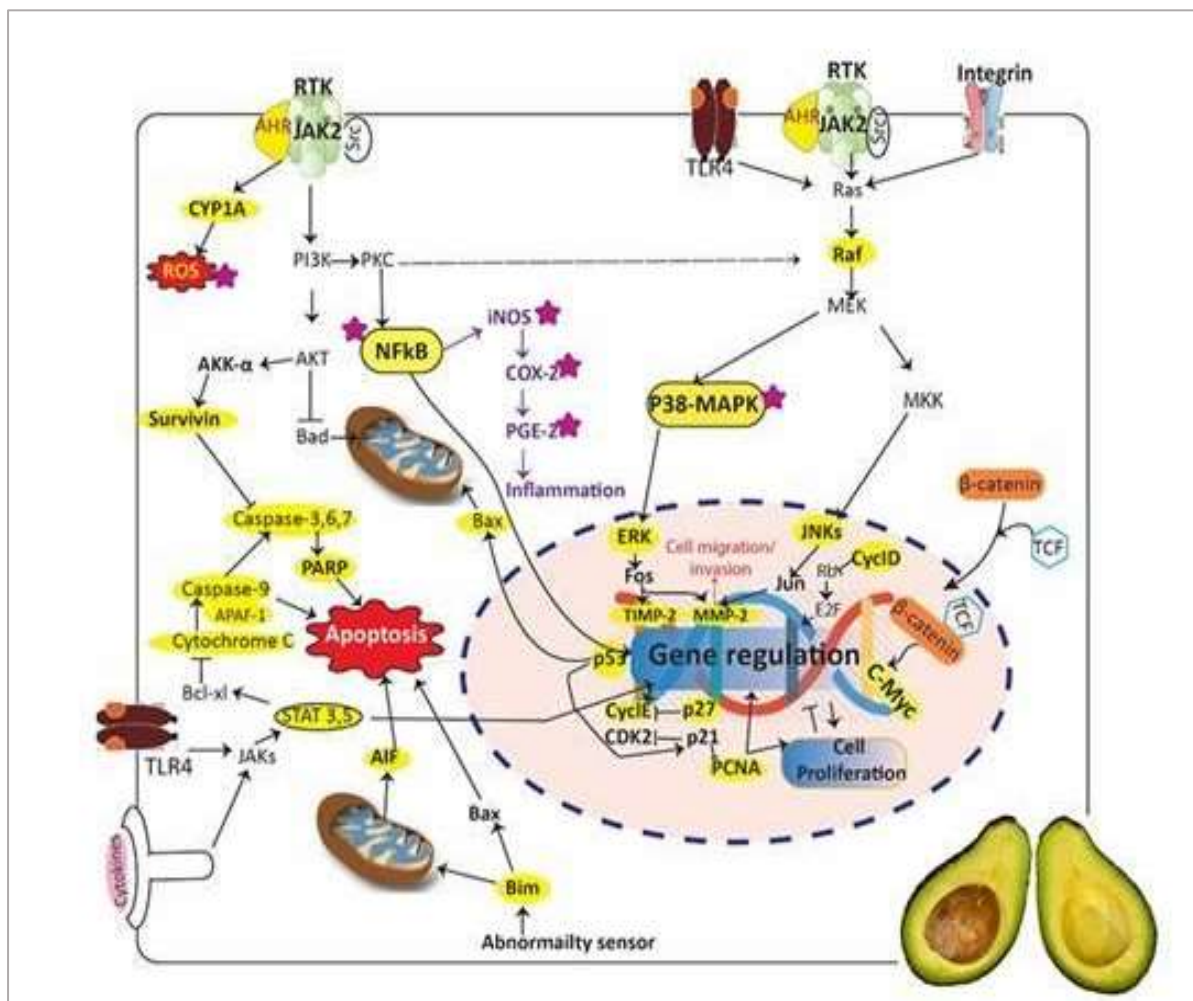


Figure 03 : Effet de *Persea americana* et de ses composants sur les voies de transduction du signal cellulaire [23].

I.1.5.3. Activité anti-inflammatoire

La plante *P. americana* est également connue pour ses propriétés anti-inflammatoires. En effet, les infusions de ses feuilles sont utilisées dans le traitement des états inflammatoires, de la douleur et de la fièvre. Cette activité est due à sa capacité à inhiber la synthèse des prostaglandines dans les plaquettes et à réduire le nombre de contractions [25].

En outre, l'huile d'avocat peut favoriser une synthèse accrue de collagène et une diminution du nombre de cellules inflammatoires au cours du processus de cicatrisation et peut donc être considérée comme une nouvelle option pour le traitement des plaies cutanées [24]. Ce qui confirme ses propriétés analgésiques et anti-inflammatoires qui peuvent expliquer son utilisation en médecine traditionnelle [25].

I.1.5.4. Activité antibactérienne

La contamination bactérienne est l'un des facteurs qui contribue à la détérioration des aliments les rendant parfois non propre à la consommation. Les additifs synthétiques sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire soit pour rehausser l'arôme des aliments, soit pour augmenter la durée de conservation des aliments emballés, ainsi en raison de leurs propriétés antimicrobiennes, aient toujours été utilisées pour contrôler les agents pathogènes microbiens et inhiber la détérioration. Cependant, ces dernières années, une demande croissante d'additifs alimentaires naturels tels que des extraits de plantes est apparue en raison de la toxicité élevée des conservateurs de synthèse [26, 48].

L'activité antimicrobienne des extraits de *Persea americana* réside dans la présence de divers constituants phytochimiques différents, à savoir les terpénoïdes, les huiles essentielles, les alcaloïdes, les lectines, les polypeptides et les substances phénoliques (phénols simples, acides phénoliques, quinones, flavones, flavonols et flavonoïdes, tanins et coumarines). L'activité antibactérienne de ces extraits est le résultat des effets combinés de l'adsorption des polyphénols sur la membrane bactérienne, conduisant à sa rupture et à la fuite subséquente du contenu cellulaire [27].

Les graines d'avocat sont généralement jetées lors de la consommation ou lors de processus industriels générant des résidus qui pourrait être une alternative économique pour le traitement de certaines maladies. La feuille, la tige, le fruit et la peau de l'avocat ont des activités biologiques prouvées scientifiquement. Des études sur les graines ont démontré une activité

antimicrobienne contre *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp.* et *Yarrowia lipolytica* [27].

Les bactéries à Gram positif sont plus sensibles que les bactéries à Gram négatif. Les bactéries Gram négatives ont une membrane externe considérée comme une protection supplémentaire, ce qui les rend beaucoup plus résistantes aux agents antibactériens que leurs homologues à Gram positives. Néanmoins, des résultats contradictoires ont été publiés par certains auteurs où un effet plus intense des extraits de plantes ou fruits d'avocat a été observé contre les bactéries Gram positives [28].

I.2. Généralités sur les bactéries pathogènes

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires, procaryotes qui possèdent des éléments essentiels à la vie cellulaire [85]. Au microscope, ils apparaissent comme des corpuscules sphériques (coques ou cocci) ou cylindriques à pôles hémisphériques, à axe droit (bacilles), incurvé (vibrions), ou hélicoïdal (spirochètes et tréponèmes). Leur forme est stabilisée par une couche rigide (paroi) entourant le corps bactérien, et qui enveloppe la cellule bactérienne, lui donnant sa forme caractéristique et sa rigidité en la protégeant contre les variations de pression osmotique comme l'une de ses rôles [84].

À la fin du dix-neuvième siècle, peu après les découvertes de Louis Pasteur sur les bactéries pathogènes qui fondèrent la microbiologie moderne, la lutte contre les maladies infectieuses et en particulier l'étude des bactéries pathogènes a mobilisé la quasi-totalité des efforts des chercheurs dans le monde [82]. Les agents pathogènes semblent cependant surmonter les systèmes de défense immunitaire innés, ce qui entraîne diverses infections telles que les ulcères cutanés chroniques [83].

I.2.1. *Staphylococcus aureus*

I.2.1.1. Classification

Les staphylocoques appartiennent à la famille des micrococcaceae composée de quatre genres :

- ✚ Le genre *Micrococcus* qui comprend des microcoques qui sont des hôtes normaux de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. Ils sont sans pouvoir pathogène et sont la plupart du temps des contaminants des prélèvements du sang.
- ✚ Le genre *Stomatococcus* qui comprend des bactéries faisant partie de la flore buccale.
- ✚ Le genre *Planococcus* qui comprend des bactéries du milieu marin.
- ✚ Le genre *Staphylococcus* qui regroupe 36 espèces dont les trois principales sont : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus épidermidis* et *Staphylococcus saprophyticus*.

D'autres espèces existent mais avec une fréquence moindre, cependant certaines de ces espèces présentent un pouvoir pathogène non négligeable comme par exemple *Staphylococcus hyicus* retrouvé chez le porc [30].

I.2.1.2. Pouvoir pathogènes

Staphylococcus aureus est un agent pathogène humain qui provoque à la fois des infections nosocomiales et communautaires, pouvant être responsable d'un grand nombre d'affections allant d'infections cutanées modérées à des affections sévères telles que des septicémies, des endocardites pouvant entraîner la mort [86, 30].

Les souches résistantes aux antibiotiques (*S. aureus* résistants à la méthicilline [SARM]), sont très virulentes et peuvent provoquer des infections mortelles telles que la pneumonie nécrosante [86].

I.2.1.3. Caractéristiques physiologiques

Staphylococcus aureus est une coque Gram positif organisée en grappe et qui se caractérise par une pigmentation dorée de ses colonies (Figure 04). Elle possède un métabolisme aérobie facultatif, caractérisé par sa capacité à produire une catalase et à fermenter le glucose ainsi que par l'absence de production d'oxydase. Elle est immobile et ne produit pas de spores [30].

Cette bactérie pousse dans les milieux usuels à une température optimale de 37°C et à un pH optimum de 7,5. Le milieu sélectif utilisé pour l'identification des *Staphylococcus aureus* est le milieu Chapman [38].

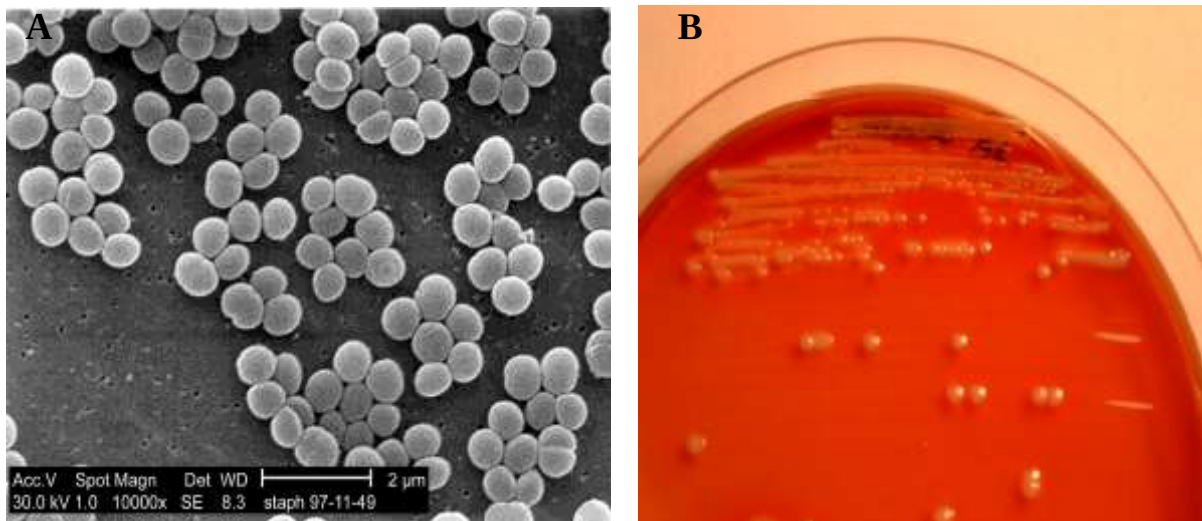


Figure 04 : Aspects microscopique et macroscopique de *Staphylococcus aureus* (**A** : *S. aureus* en microscopie électronique à balayage, **B** : Aspect morphologique de *S. aureus* sur milieu Chapman) [100, 105].

I.2.1.4. Virulence

Staphylococcus aureus est un pathogène humain important qui exprime une variété de facteur de virulence (Figure 05). Parmi ces facteurs, la protéine A (SpA) joue un rôle important en interférant avec les défenses de l'hôte, tandis que les exoprotéines telles que l' α -hémolysine (Hla) et la leucocidine Pantón-Valentine (PVL) sont des toxines porogènes qui possèdent des propriétés cytolytiques. Les facteurs de virulence Hla et SpA, sont exprimées par la plupart des souches de *S. aureus* et ont la capacité d'interagir avec la signalisation immunitaire de l'hôte, contribuant ainsi à la pathogenèse staphylococcique [31].

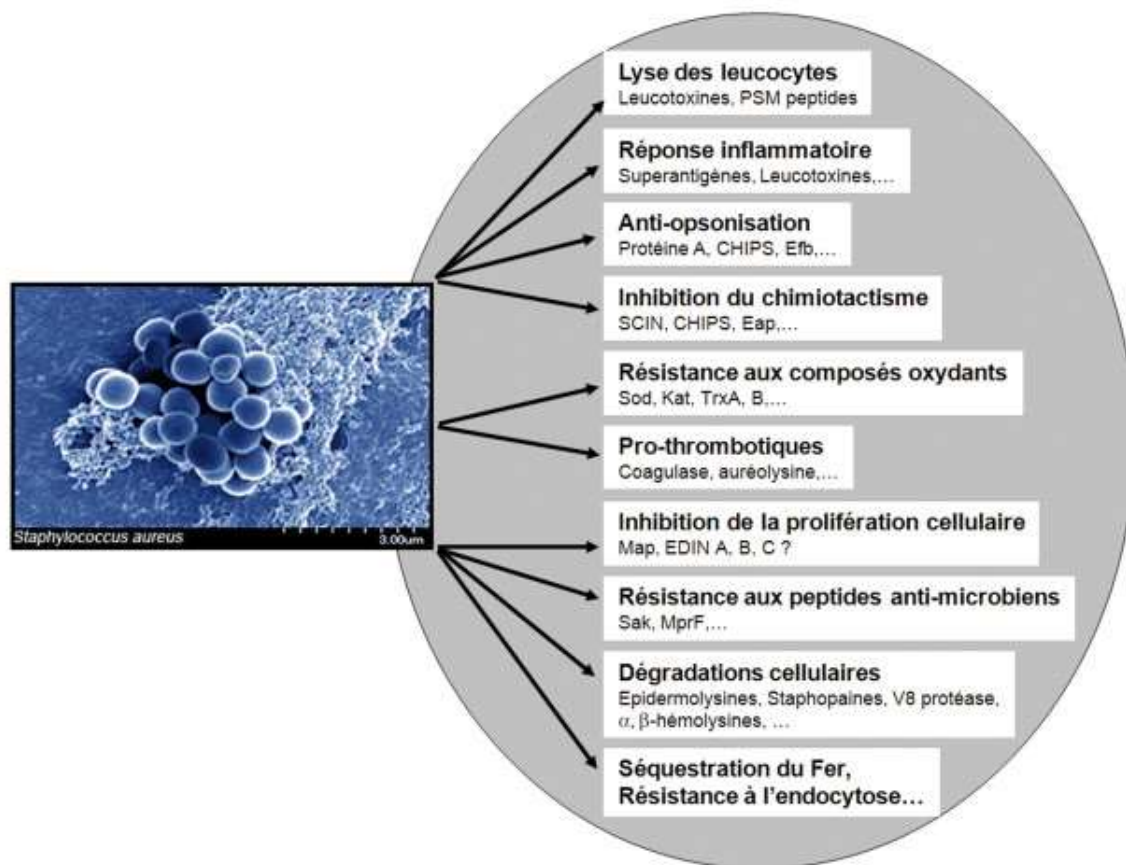


Figure 05 : Activités composant la virulence de *Staphylococcus aureus* [39].

I.2.2. *Listeria monocytogenes*

I.2.2.1. Classification

Le genre *Listeria* appartient à la classe des bacilli et à l'ordre des bacillales. Les *Listeria* sont regroupées avec les Brochotrix dans la famille des Listeriaceae.

Cependant, *Listeria* a longtemps été classée dans la famille des Corynebacteriaceae. Cette position au sein des bactéries à Gram positif est devenue définitive avec les résultats de séquençage de l'ARN 16S [32].

Actuellement, ce genre compte 6 espèces organisées en deux branches génomiques distinctes :

- ✚ *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*. Toutefois, *L. grayi* et *L. murrayi* présentent de fortes similitudes génomiques.
- ✚ *L. grayi* composée de deux sous espèces, *L. grayi* subsp. *grayi* et *L. grayi* subsp. *murrayi*. En 1992, Rocourt propose de réunir ces deux taxons en une espèce unique.

Parmi ces six espèces, seule *L. monocytogenes* est reconnue comme étant l'agent responsable d'infections cliniques bien que *L. ivanovii* soit aussi pathogène, mais plus particulièrement impliquée dans l'avortement des ruminants [32].

I.2.2.2. Pouvoir pathogènes

L. monocytogenes est capable de provoquer des maladies invasives graves comme la listériose, les gastroentérites fébriles et les bactériémies chez l'homme et l'animal [87, 89]. Certains personnes, notamment les personnes âgées, les nouveau-nés, les femmes enceintes, les personnes infectées par le virus de l'immunodéficience humaine et les personnes sous traitement immunosuppresseur, courent un risque accru d'infection [87].

L'infection invasive à *L. monocytogenes* chez l'homme se traduit généralement par l'une des deux formes générales, septicémie et/ou maladie invasive du système nerveux central [88]. En plus de ces signes cliniques classiques, *L. monocytogenes* peut infecter la quasi-totalité des organes et tissus par voie hématogène, dont les valves cardiaques et les articulations. Cette bactérie cause aussi des infections cutanées et des conjonctivites par contact avec des animaux infectés [89].

I.2.2.3. Caractéristiques physiologiques

L. monocytogenes est un bacille à Gram positif se présentant sous forme de bâtonnets réguliers de 0,5 à 2 µm de longueur et 0,4 à 0,5 µm de diamètre, aux extrémités arrondies, associés parallèlement en courtes chaînes ou en paires sous forme de V. Dans les cultures âgées ou carencées, des filaments de plusieurs micromètres peuvent apparaître, avec des colonies convexes à bords réguliers et translucides (Figure 06).

La bactérie n'est ni sporulée ni capsulée. Elle est mobile par des flagelles péritriches lorsqu'elle est cultivée entre 20 et 25°C, et immobile ou très faiblement mobile à 37°C. Elle est capable de se développer en atmosphère aérobie ou anaérobie [32].

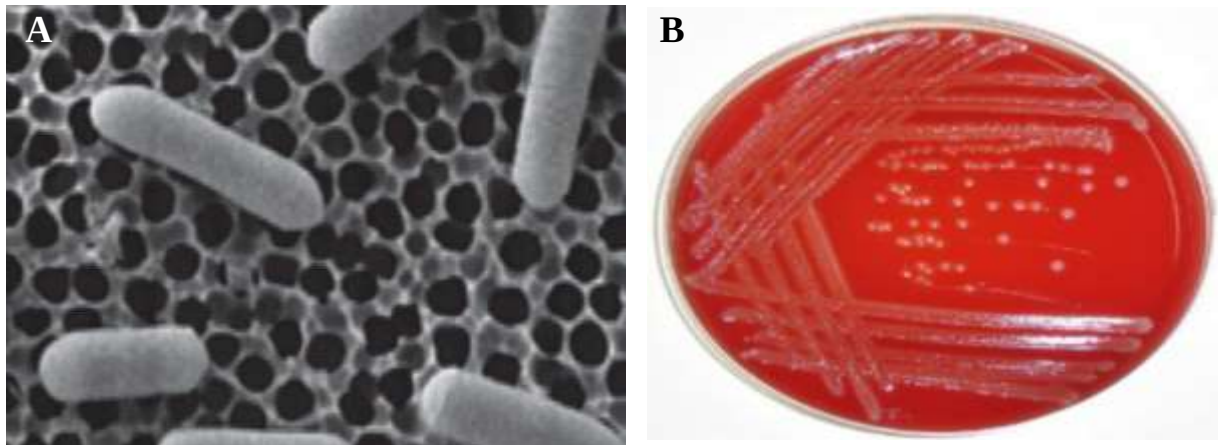


Figure 06 : Aspects microscopique et macroscopique de *Listeria monocytogenes* (**A :** *L. monocytogenes* en microscopie électronique à balayage, **B :** Aspect morphologique de *L. monocytogenes* sur gélose au sang) [101, 106].

I.2.2.4. Virulence

La virulence de *L. monocytogenes* est causée par l'hémolysine listériolysine qui est une protéine extracellulaire appartenant au groupe des cytolysines. Elle est activée par les sulfhydryles et réagit immunologiquement avec la streptolysine O [33]. Cependant, les gènes de l'antigène flagellaire (*flaA*), de la protéine associée à l'invasion (*iap*), sont des gènes associés à la virulence [34].

I.2.3. *Escherichia coli*

I.2.3.1. Classification

Escherichia coli appartient à la famille des Enterobacteriaceae. Le genre *Escherichia* compte 5 espèces : *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermanii*, *E. vulneris* et *E. blattae* [35].

Les souches d'*E. coli* pathogènes, qui ont acquis des facteurs de virulence, ont la capacité de provoquer des maladies diarrhéiques chez l'homme [36]. Ces dernières sont généralement classées en 6 pathovars majeurs selon le type de maladie engendrée et les facteurs de virulence associés : les ETEC (*E. coli* Entérotoxigènes), les EHEC (*E. coli* Entérohémorragiques), les EPEC (*E. coli* Entéropathogènes), les DAEC (*E. coli* à Adhérence Diffuse), les EAEC (*E. coli* Entéroagréatives) et les EIEC (*E. coli* Entéroinvasives) [35].

I.2.3.2. Pouvoir pathogènes

Il existe plusieurs clones d'*E. coli* hautement adaptés qui ont acquis des attributs de virulence spécifiques, ce qui leur confèrent une capacité accrue à s'adapter à de nouvelles niches et leur permet de provoquer un large spectre de maladies.

Les pathovars d'*E. coli* peuvent provoquer des syndromes cliniques généraux comme : maladie gastro-entérique, infections des voies urinaires (IVU), septicémie et méningite. Les infections urinaires représentent les infections extra-intestinales à *E. coli* les plus courantes et sont causées par L'EPEC, l'EHEC et l'ETEC [90].

I.2.3.3. Caractéristiques physiologiques

Ce sont des bacilles à Gram négatif mobiles par cils péritriches ou immobiles. L'optimum de croissance est situé entre 30 et 37°C, caractérisé par des colonies rouge vif (Figure 07). La majorité des souches se multiplient à des températures situées entre 41 et 44°C. Cependant, elles ne peuvent pas se développer à 4°C ou en présence de KCN [37, 107].

L'espèce *E. coli* est considérée comme un hôte normal, c'est-à-dire commensal, de la microflore digestive de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud. La niche écologique de cette bactérie se trouve dans la couche de mucus sécrétée par l'épithélium du côlon. Etant donné qu'elle est hautement compétitive dans cet environnement, *E. coli* reste la bactérie anaérobie facultative la plus abondante dans le côlon humain, dans celui d'autres mammifères et des oiseaux [35].

Ainsi, à partir des années 1950, de nombreuses souches d'*E. coli* appartenant à des sérotypes particuliers ont été répertoriées, chez l'homme et chez l'animal, comme étant des souches pathogènes responsables d'affections variées allant d'une simple diarrhée à des infections systémiques sévères voire mortelles [35].

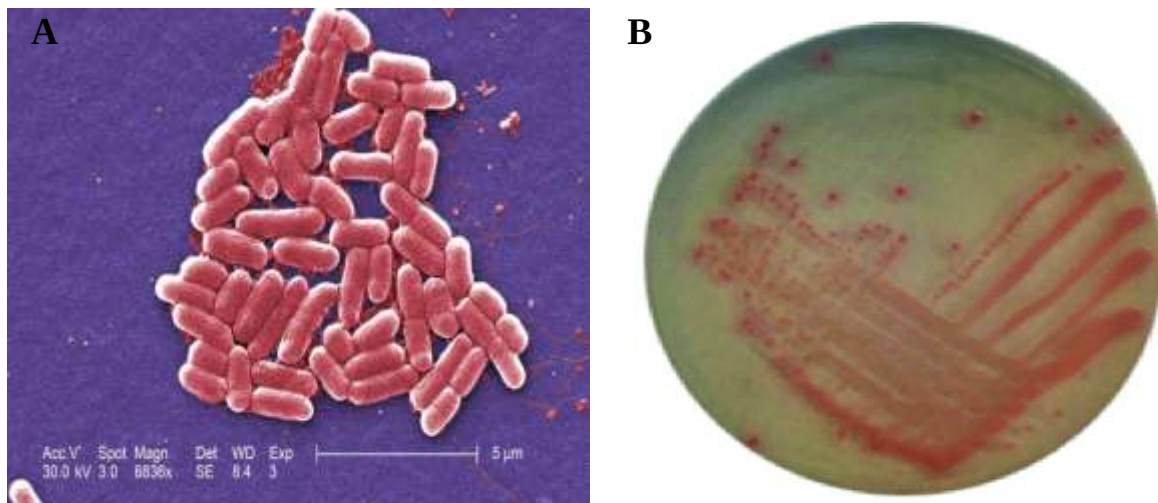


Figure 07: Aspects microscopique et macroscopique d'*Escherichia coli* (**A** : *E. coli* en microscopie électronique à balayage, **B** : Aspect morphologique d'*E. coli* sur milieu chromogène) [104, 107].

I.2.3.4. Virulence

L'identification des antigènes et sérogroupes a permis de différencier des souches pathogènes des souches commensales. En effet, certains sérotypes ne sont jamais, ou rarement, associés à des maladies tandis que d'autres le sont très fréquemment. Néanmoins, L'espèce *E. coli* peut être subdivisée en sérotypes par la combinaison des deux antigènes somatique O et flagellaire H (ex : O157 : H7 ou O111 : H8), ou sérogroupes si l'antigène somatique O seul a été déterminé (ex : O157, O111) [35].

- ✚ L'antigène somatique O, définissant le sérotype, est contenu dans les lipopolysaccharides présents sur la paroi bactérienne des souches à coloration de Gram négative.
- ✚ L'antigène flagellaire H est de nature protéique entrant dans la structure du flagelle permettant la mobilité de la bactérie.
- ✚ L'antigène de surface K est présent de façon inconstante mais bloque l'agglutinabilité de l'antigène O et donc le sérogroupage lorsqu'il est présent [35].

I.2.4. *Bacillus cereus*

I.2.4.1. Classification

Le groupe *Bacillus cereus*, a été créé comme une sous-division du genre *Bacillus* de famille Bacillaceae et ordre Bacillales, sur des critères morphologiques (taille des bacilles, position de la spore) et rassemble des espèces génétiquement très proches, formant une branche taxonomique bien distincte [92, 93].

Le genre *Bacillus* comprend sept espèces étroitement apparentées : *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. anthracis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. weihenstephanensis* et *B. cytotoxicus* [40].

I.2.4.2. Pouvoir pathogène

Bacillus cereus est connu comme agent responsable des toxi-infections alimentaires chez l'homme et sont de deux types bien différents tant au niveau des symptômes que de leur origine [92] :

- Le syndrome émétique qui résulte d'une intoxication. Dans ce cas, c'est une toxine synthétisée par *B. cereus* présente dans la nourriture qui cause rapidement (entre 30 minutes et 6 heures après ingestion) des nausées et des vomissements.
- Le syndrome diarrhéique est causé par des toxines synthétisées directement dans l'intestin par les bactéries végétatives [92].

I.2.4.3. Caractéristiques physiologiques

Bacillus cereus est une bactérie pathogène Gram positive, aéro-anaérobie facultative. Elle a la capacité de produire des spores lorsque les conditions de croissance sont défavorables. C'est un micro-organisme mobile, en forme de bâtonnet, qui a parfois un mode de regroupement en chaînette. Sur milieux gélosés, les colonies de *Bacillus cereus* se caractérisent par un aspect cireux et opaque (Figure 08).

C'est une bactérie ubiquitaire retrouvée principalement sous forme de spores, dans le sol, à la surface des végétaux, ou encore à l'air ambiant [41].

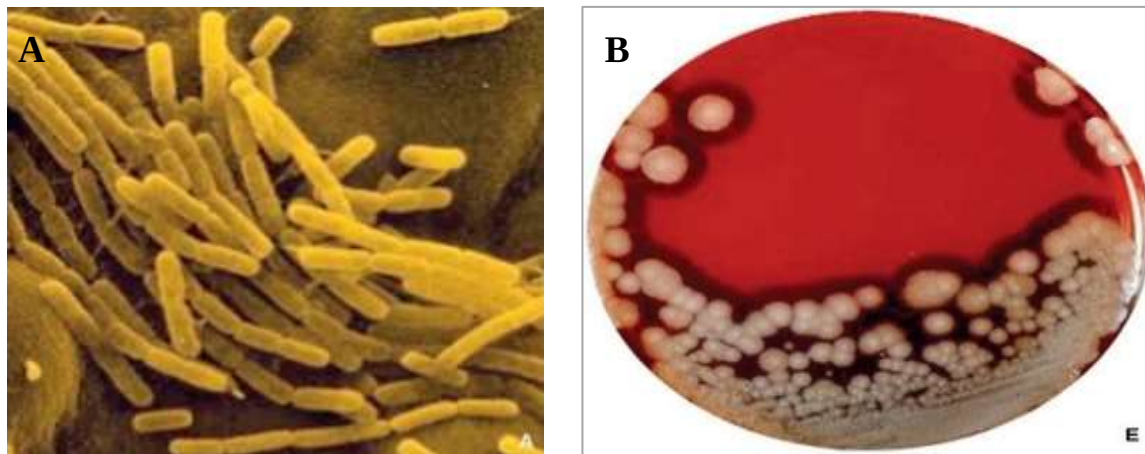


Figure 08 : Aspects microscopique et macroscopique de *Bacillus cereus* (**A :** *B. cereus* en microscopie électronique à balayage, **B :** Aspect morphologique de *B. cereus* sur gélose au sang) [92].

1.2.4.4. Virulence

Les principaux facteurs de virulence dans le groupe *Bacillus cereus*, sont les entérotoxines. Celles-ci se composent de trois classes distinctes, qui comprennent deux toxines homologues, les toxines de l'hémolysine BL (HBL) et les entérotoxines non hémolytiques (NHE) et une troisième classe d'entérotoxines appelée la cytotoxine K, associée à l'entérite nécrotique [42].

Ces trois facteurs sont cytotoxiques et ont la capacité de former des pores. Les toxines HBL sont dermonécrotiques, et sont considérés comme étant des facteurs de virulence importants dans les intoxications alimentaires.

Les agents pathogènes du groupe *B. cereus* sont principalement extracellulaires. Les facteurs de virulence provoquent généralement la lyse des cellules hôtes. Ce sont des facteurs de virulence lytique qui comprennent les toxines (HBL, NHE, Cyt K), les hémolysines et une gamme de phospholipases qui peuvent être utilisées pour attaquer les membranes cellulaires [42].

1.2.5. *Streptococcus pyogenes*

1.2.5.1. Classification

Streptococcus pyogenes appartient au genre *Streptococcus* et à la famille des Streptococcaceae [38]. Selon la classification de Lancefield, fondée sur des critères immunologiques et les caractères antigéniques du polysaccharide présent sur les parois des

bactéries, 18 groupes sérologiques de *Streptococcus* ont été défini, dont les plus importants sont :

- ✚ Le groupe A comportant la grande majorité des streptocoques pathogènes pour l'Homme de même que les groupes C et G, tous bêtas hémolytiques. *Streptococcus pyogenes* c'est un streptocoque du groupe A.
- ✚ Le groupe B comportant des hôtes habituels des voies digestives.
- ✚ Le groupe D qui comprend des entérocoques et le streptocoque sanguin, le streptocoque mutule, le streptocoque mitans que l'on retrouve dans la plaque dentaire et le pneumocoque [43].

I.2.5.2. Pouvoir pathogènes

Streptococcus pyogenes est un pathogène humain important, qui provoque des maladies légères à sévères, y compris l'amygdalite, la pharyngite, la cellulite, la scarlatine, le rhumatisme articulaire aigu, la fasciite nécrosante et le syndrome de choc toxique (STSS).

La manifestation clinique la plus courante de l'infection par *S. pyogenes* est l'infection de la peau et des tissus mous qui est considérée comme l'un des principaux agents pathogènes responsables de la pharyngite bactérienne chez les enfants et des infections invasives telles que la bactériémie [91].

I.2.5.3. Caractéristiques physiologiques

Streptococcus pyogenes est un coccus Gram positif, sphérique disposé en paire et/ou en chaînettes appelé aussi «streptocoques du groupe A», «streptocoque bêta hémolytique du groupe A», ils sont dépourvus de catalase et d'oxydase et sont anaérobies (Figure 09). C'est une espèce responsable d'angine, de suppuration, d'infection localisée ou invasive (cellulites gangreneuses ou fasciites nécrosantes et septicémies).

L'isolement de cette bactérie nécessite l'utilisation d'un milieu à base du sang frais et une atmosphère enrichie en CO₂. Après 24 à 48 heures d'incubation, des colonies de petite taille apparaissent entourées d'un halo clair qui correspond à une hémolyse complète appelée hémolyse bêta [43].

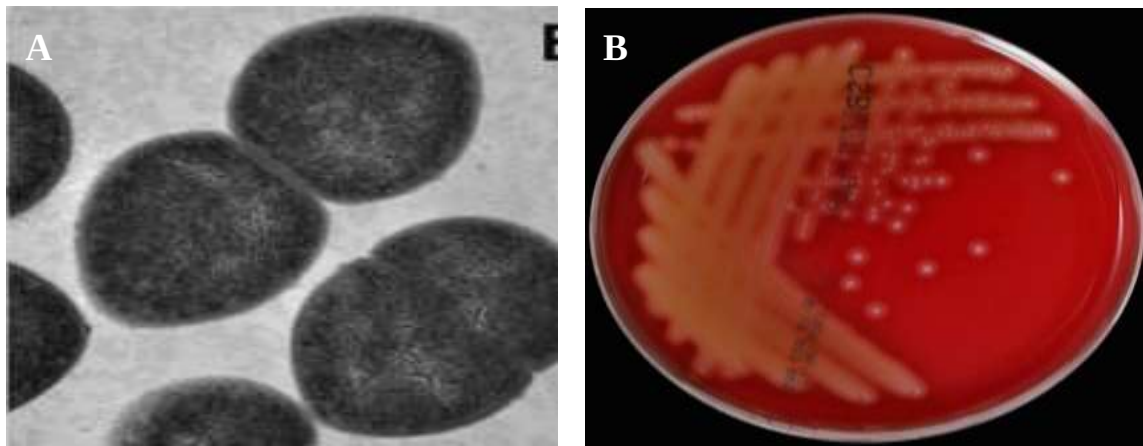


Figure 09 : Aspects microscopique et macroscopique de *Streptococcus pyogenes* (A : *S. pyogenes* en microscopie électronique à transmission, B : Aspect morphologique de *S. pyogenes* sur gélose au sang) [102, 99].

1.2.5.4. Virulence

Les antigènes caractéristiques de chaque groupe de streptocoques et ceux permettant le stéréotypage sont localisés au niveau de la paroi (Figure 10). Ce sont le polysaccharide C, les protéines M, R et T [38].

Un grand nombre de facteurs de virulence du streptocoque du groupe A (GAS) sont impliqués dans les interactions hôte-pathogène et facilitent la colonisation, l'infection, l'évasion immunitaire et la survie à long terme du GAS au sein de l'hôte. Les gènes mégarégulés codent les adhésines et les invasines, telles que la protéine M, la protéine streptococcique de type collagène (scl1 / sclA) et le facteur d'opacité sérique (sof), les facteurs d'évasion immunitaire, tels que la protéine M et les protéines de liaison aux Ig de type M, la peptidase C5a (scpA) et l'inhibiteur sécrété du complément (sic) [44].

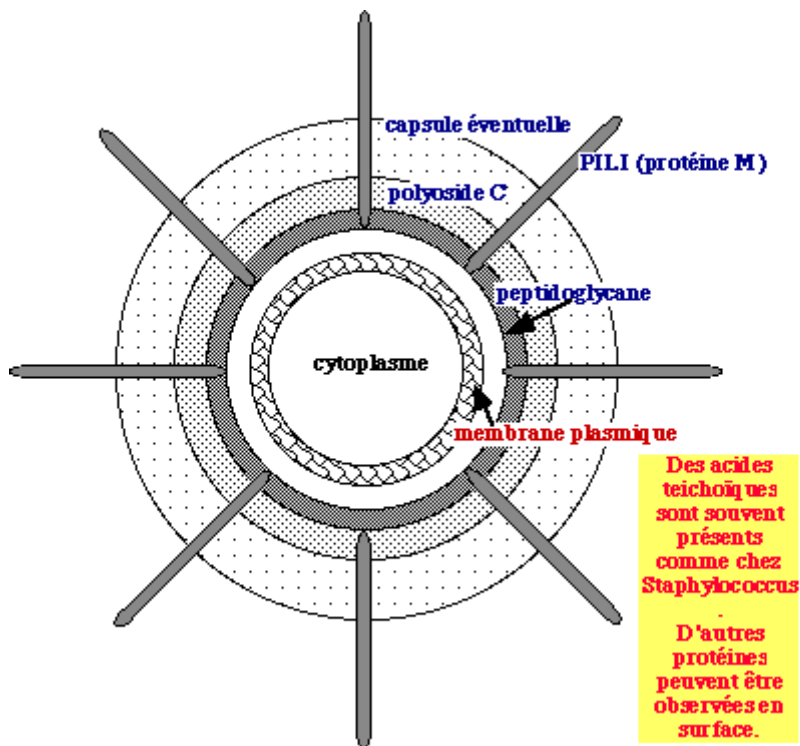


Figure 10 : Schéma d'une coupe de *Streptococcus pyogenes* composant les différents antigènes [43].

Streptococcus pyogenes élabore des enzymes qui participent au pouvoir pathogène, qui sont la streptokinase (fibrinolysine), la streptodornase et la hyaluronidase. Cette bactérie produit également des toxines qui sont :

- ✚ La toxine erythrogène : c'est une exotoxine de nature protéique. Elle n'est synthétisée que par certains streptocoques du groupe A.
- ✚ La streptolysine O : c'est une hémolysine cytotoxique et antigénique.
- ✚ La streptolysine S: elle est responsable de l'hémolyse β [38].

I.2.6. *Pseudomonas aeruginosa*

I.2.6.1. Classification

Pseudomonas aeruginosa est une espèce appartenant à la famille des Pseudomonadaceae et l'ordre de Pseudomonadales [94]. Sa classification repose sur des critères phénotypiques, génotypiques et sur la comparaison des séquences des gènes codant pour les ARN ribosomaux (ARNr). *P. aeruginosa* est l'espèce la mieux caractérisée du genre *Pseudomonas*. Sur le plan

génomique, la séquence totale du génome de *P. aeruginosa* est composée de 6,3 millions de paires de bases [95].

I.2.6.2. Pouvoir pathogènes

Les infections à *P. aeruginosa* sont fréquentes chez les individus immunodéprimés comme chez les patients atteints du SIDA et chez les patients neutropéniques subissant une chimiothérapie.

À cet égard, les maladies humaines les plus informatives causées par *P. aeruginosa* sont: la bactériémie chez les victimes de brûlures graves, l'infection pulmonaire chronique des patients atteints de fibrose kystique et la kératite ulcéreuse aiguë chez les utilisateurs de lentilles de contact souples à port prolongé [97].

I.2.6.3. Caractéristiques physiologiques

P. aeruginosa est un bacille aérobie Gram négatif, ubiquitaire, mobile grâce aux flagelles et à la présence des protéines polaires monotriches à la surface (pili) qui sont responsables de l'adhésion à l'épithélium respiratoire [96]. Elle pousse facilement sur les milieux usuels à des températures comprises entre 10°C et 42°C [38].

P. aeruginosa produit plusieurs pigments. Sur les milieux de culture, un pigment jaune-vert fluorescent ainsi qu'une pyocyanine pigmentée de couleur bleu, confère aux colonies un aspect caractéristique (Figure 11). Ces bactéries sont largement distribuées et peuvent se développer dans presque tous les habitats aqueux et également dans l'appareil digestif humain [96].

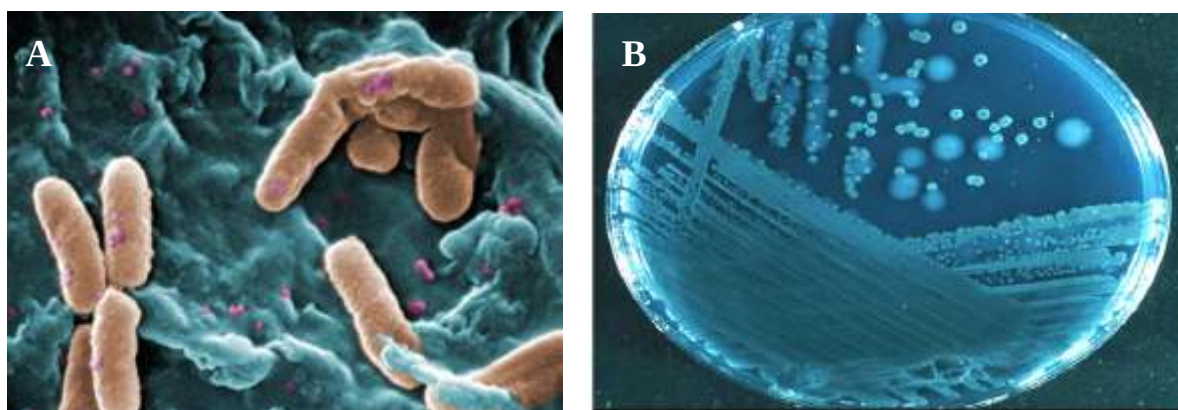


Figure 11 : Aspects microscopique et macroscopique de *Pseudomonas aeruginosa* (A : *P. aeruginosa* en microscopie électronique à balayage, B : Aspect morphologique de *P. aeruginosa* à la gélose cétrimide) [103, 77].

II.1.6.4. Virulence

P. aeruginosa comporte des facteurs de virulence (membranaires et extracellulaires) agissant à différents niveaux au cours de l'infection et joue un rôle important dans la colonisation, la survie de la bactérie et l'invasion des tissus [98].

Parmi ces facteurs on retrouve le lipopolysaccharide (LPS) localisé dans la membrane externe de la bactérie qui peut être divisée en trois parties :

- ✚ Le lipide A, aussi appelé endotoxine, qui est responsable d'une stimulation excessive du système immunitaire pouvant provoquer un choc septique et conduire à la mort.
- ✚ Le cœur oligosaccharidique.
- ✚ L'antigène O qui est une région polysaccharidique variable.

P. aeruginosa élabore des toxines et des enzymes telles que, l'exotoxine A (ETA) qui est le composé protéique le plus toxique produit par cette espèce, les phospholipases C et des exoenzymes S (effet cytotoxique) [98].

I.3. Les techniques d'extraction des polyphénols

L'extraction des principes actifs à partir de la matière végétale, notamment des polyphénols, qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leur pouvoir antioxydant et antibactérien, est une étape très importante aussi bien dans l'isolement que dans l'identification des composés phénoliques. En conséquence, de nombreux auteurs ont étudié l'influence de différentes conditions d'extraction sur les rendements d'extraction des composés phénoliques.

La solubilité des composés phénoliques dans un solvant dépend de leur nature chimique, qui varie de simples composés à fortement polymérisés. Les matières végétales peuvent contenir des quantités variables d'acides phénoliques, phénylpropanoïdes, anthocyanines, et tanins [45].

I.3.1. Préparation pré-extraction des échantillons de plante

La première étape de l'étude des plantes médicinales telle que *Persea americana* est la préparation d'échantillon, ce qui permet de préserver les biomolécules dans les plantes avant l'extraction. La préparation des extraits des différentes parties de la plante telle que les feuilles et les grains, peuvent être effectuée à partir des matières végétales fraîches ou séchées.

Les différents traitements des matières végétales comme le broyage et le séchage ont une influence sur le rendement en composés phytochimiques dans les extraits finaux [66]. Cependant, certains traitements s'avèrent très utiles avant l'extraction. En effet, le broyage par

exemple permet d'avoir des particules plus fines et plus homogènes conduisant à un meilleur contact de surface avec les solvants d'extraction. Cette réduction de la taille des particules augmente le contact de surface entre les échantillons et les solvants d'extraction. Pour une extraction efficace durant le processus de l'extraction, le solvant doit entrer en contact avec les analytes cibles. Une taille de particule inférieure à 0,5 mm est idéale [66].

I.3.2. Macération

La macération est également appelée extraction à froid. Le processus de macération est utilisé pour séparer les différents constituants et ingrédients des plantes sous forme d'extrait brut. Il existe plusieurs modes de macération qui utilisent différents solvants, macération à l'éthanol, macération au chloroforme et macération à l'eau distillée (macération simple) [46].

Néanmoins, dans ce processus, la matière végétale entière ou réduite en poudre grossière est placée dans un récipient bouché avec le solvant et laissé à température ambiante pendant une période d'au moins 3 jours sous agitation fréquente jusqu'à dissolution de la matière soluble. Le mélange est ensuite filtré, le marc (la matière solide humide) est pressé et les liquides combinés sont clarifiés par filtration ou décantation après repos [47].

I.3.2. Autres techniques

De nombreuses substances sont extraites de produits naturels d'origine végétale, animale ou minérale. Il existe de nombreux procédés dont certains sont très anciens et autres sont modernes. Ces techniques sont très utilisées dans différents domaines, en ce qui concerne la matière végétale, il existe plusieurs techniques permet l'extraction des molécules bioactifs à savoir [50].

- ✚ Ultrasons (Sonication) : est un processus qui utilise l'énergie acoustique et des solvants pour extraire les composés cibles de diverses matrices végétales [51].
- ✚ Continue à chaud (Soxhlet) : est la technique de lixiviation la plus utilisée. C'est une technique standard utilisée pendant plus d'un siècle [52].
- ✚ Micro-ondes : sont des radiations électromagnétiques d'une fréquence de 0,3 à 300 GHz [54].
- ✚ Extraction accélérée par solvant (ASE) : est une technique qui utilise une petite quantité de solvant, ce qui fait d'elle une méthode très efficace [66].

De plus, plusieurs recherches ont été menées dans le but d'éviter certains inconvénients des procédés d'extractions conventionnels et ont conduit aux développements de nouvelles méthodes d'extraction [50].

Chapitre 02

❖ Matériel et méthodes

L'objectif de ce travail a été l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique des grains et feuilles de *Persea americana*.

La première partie concernant l'extraction éthanolique de la plante (*P. americana*), s'est déroulée au niveau du laboratoire pédagogique de la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre de l'université Akli Mohand Oulhadj-Bouira

Pour la partie de l'étude de l'activité antibactérienne, malheureusement compte tenu des conditions actuelles pour cette année (COVID19), nous n'avons pas pu poursuivre notre stage pratique au niveau du laboratoire d'analyse médicale Sayah de Bouira.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel non biologique

- ✓ Balance (KERN).
- ✓ Bécher.
- ✓ Entonnoir.
- ✓ Erlenmeyer.
- ✓ Papier Wattman N°4.
- ✓ Ethanol (C₂H₅OH).
- ✓ L'eau distillée.
- ✓ Broyeur électrique (Russell Hobbs).
- ✓ Etuve (VETICELL).

II.1.2. Matériels végétal

La matière végétale a été récoltée le mois de février 2020 dans la région d'Alger (Algérie). La plante a été authentifiée par le Laboratoire de Botanique de l'Ecole Normale Supérieure de Kouba (Alger).

Les noyaux et les feuilles ont été récupérés et nettoyés par l'eau de robinet afin d'éliminer les impuretés puis séchés pendant deux semaines à l'abri des rayons solaires afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules actives (Figure 12).



Figure 12 : Feuilles (A) et noyaux (B) de *P. americana*.

II.2. Méthodes

II.2.1. Broyage et tamisage

La réalisation de cette étape doit être minutieuse et non dénaturante pour permettre l'obtention d'une poudre fine et homogène, afin de réaliser un meilleur broyage et une meilleure extraction. La matière sèche obtenue a été broyée à l'aide d'un broyeur électrique jusqu' à l'obtention d'une poudre homogène, les broyats obtenus des feuilles et noyaux ont été tamisés afin d'avoir une poudre fine, d'aspect verdâtre et orangeâtre respectivement (Figure 13). Les poudres obtenues ont été conservées dans des flacons en verre et à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation.

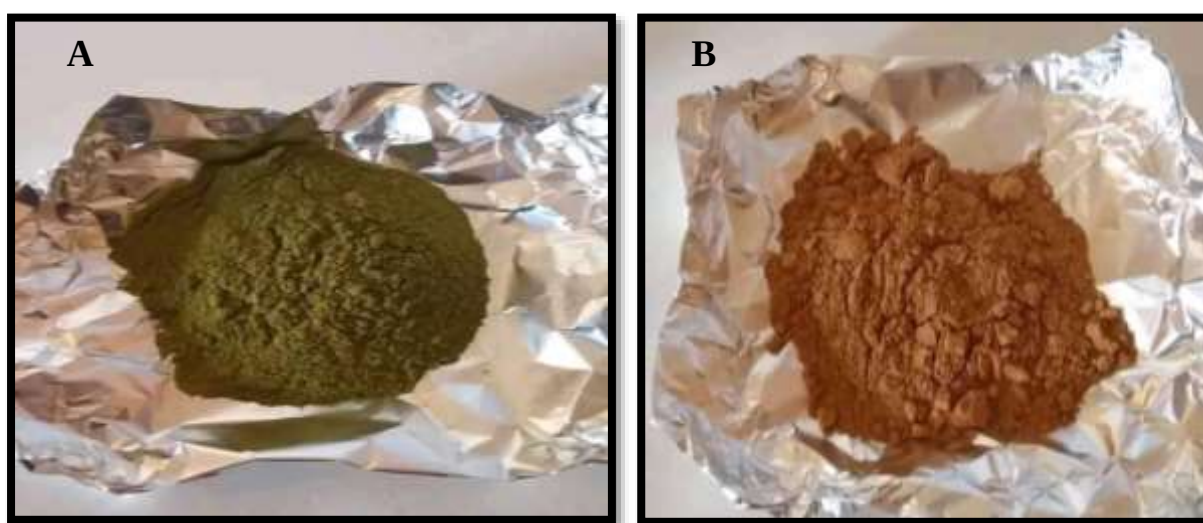


Figure 13 : Poudres obtenues après broyage des feuilles (A) et des noyaux (B) de *P. americana*.

II.2.2. Calcul du taux d'humidité

Pour chaque partie de la plante (feuilles et noyaux), le taux d'humidité a été déterminé par la formule suivante [53].

$$H\% = [(P_0 - P) / P_0] \times 100$$

H% : Taux d'humidité en pourcentage.

P₀ : Représente le poids initial de l'échantillon (avant séchage).

P : Représente le poids sec de l'échantillon (après séchage).

II.2.3. Extraction éthanolique

L'extraction végétale est un procédé visant à extraire certains constituants présents dans les plantes (principes actifs). C'est une opération de séparation solide/liquide (macération) en utilisant un solvant organique. Les composés végétaux d'intérêts sont alors solubilisés et contenus dans le solvant. La solution ainsi obtenue est l'extrait recherché. Le solvant sera ensuite éventuellement éliminé afin d'isoler l'extrait végétal.

Pour réaliser cette partie, on a choisi de réaliser l'extraction de la poudre végétale par une méthode simple qui est la macération à froid (Figure 14). Le système solvant choisi est composé d'un mélange éthanol et eau. Une quantité de 10g de poudre végétale (feuilles et noyaux) est mélangé avec 100 ml d'éthanol à 80% (v/v) [59]. Après une période de la macération de 24h à l'abri de la lumière, les différents extraits obtenus ont été filtrés (Figure 15), à l'aide d'un papier Wattman N°4 puis séchés et conservés à 4 °C pour les analyses ultérieures (Figure 16).

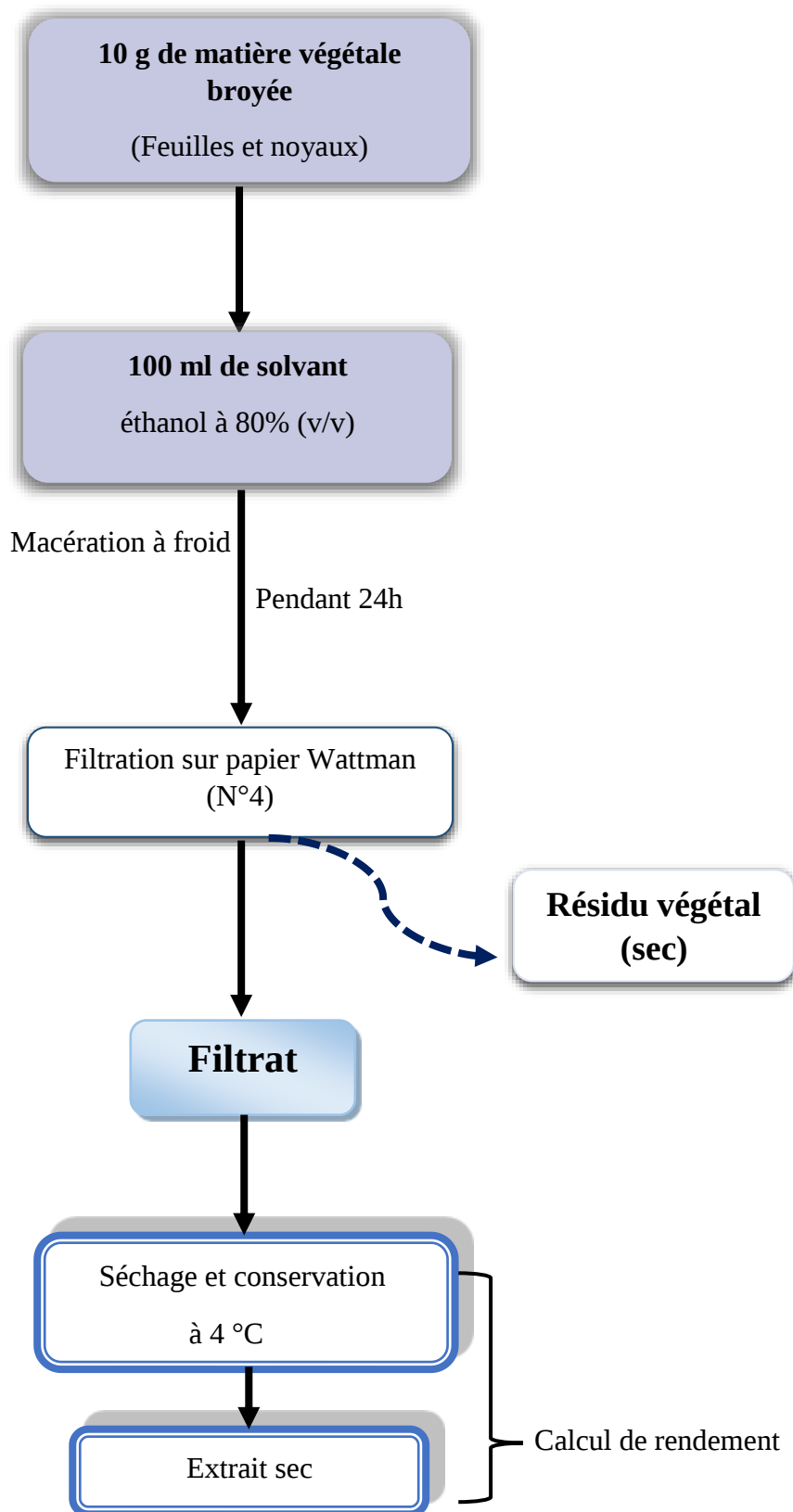


Figure 14 : Schéma illustrant l'extraction hydro-éthanolique des feuilles et graines de *P. americana*



Feuilles



Noyaux

Figure 15 : Filtration des extraits et récupération des filtrats



Feuilles



Noyaux

Figure 16 : Les extraits secs des feuilles et noyaux de *P. americana*

II.2.4. Calcul du rendement

Le rendement se détermine par apport au poids de l'extrait végétal sec (en g) par la différence entre le poids du flacon (après évaporation) et le poids du flacon vide, et les résultats s'expriment en pourcentage, selon la formule suivante [57].

$$\text{Rendement (\%)} = [P1 - P2 / P3] \times 100$$

Où :

- ✚ P1 : Poids du flacon après séchage
- ✚ P2 : Poids du flacon avant séchage (flacon vide)
- ✚ P3 : Poids de la matière végétale sèche de départ

II.3. Évaluation de l'activité antibactérienne

L'utilisation excessive et inappropriée d'antibiotiques conventionnels dans le traitement clinique des infections humaines et animales a accru la résistance des agents pathogènes contre ces composés, les transformant en agents moins efficaces. En conséquence, il y a eu une augmentation de la génération de pathogènes multi-résistants, principalement des bactéries et champignons qui résistent aux effets de la plupart des antibiotiques et antifongiques. Ainsi, d'autres méthodes de contrôle des agents pathogènes sont nécessaires [71].

Les plantes sont une alternative intéressante car elles possèdent une grande variété de composés à activité antimicrobienne. L'avocat (*P. americana* Mill.) est une importante culture agricole mondiale qui contient divers métabolites ayant une activité antimicrobienne, comme les tanins, les flavones catéchines et les composés polyphénoliques qui se trouvent souvent dans les tissus et les graines du fruit de l'avocat [71, 26].

II.3.1. Méthode de diffusion sur disque

Le test de diffusion sur disque développé en 1940, est la méthode officielle utilisée dans de nombreux laboratoires de microbiologie clinique pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens de routine [72].

Dans cette procédure bien connue, le test est effectué en ensemençant un inoculum bactérien sur milieu Mueller-Hinton [73]. Ensuite, des disques de papier filtre (d'environ 6 mm de diamètre), contenant le composé à tester à la concentration souhaitée, sont placés sur la surface de la gélose (Figure 17). Les boîtes de Pétri sont incubées dans des conditions

appropriées. Généralement, l'agent antibactérien diffuse dans la gélose et inhibe la germination et la croissance du micro-organisme d'essai puis les diamètres des zones de croissance d'inhibition sont mesurés [72].

Les diamètres de zone d'inhibition de chaque composé à tester sont interprétés en utilisant les critères publiés par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, anciennement le National Committee for Clinical Laboratory Standards ou NCCLS) ou ceux inclus dans la US Food and Drug Administration (FDA) [73].

Les résultats du test de diffusion sur disque sont «qualitatifs» [73]. Néanmoins, ce test offre de nombreux avantages par rapport à d'autres méthodes: simplicité, faible coût, capacité à tester un nombre énorme de micro-organismes et d'agents antimicrobiens et facilité d'interprétation des résultats [72].

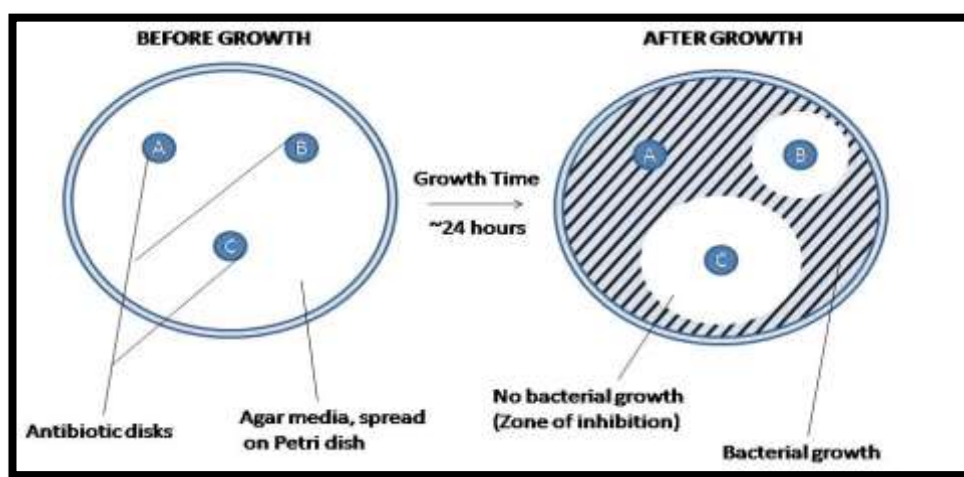


Figure 17 : Schéma illustrant la méthode de diffusion sur disque [58].

II.3.2. Méthode de diffusion de puits

La méthode de diffusion de puits a été décrite pour la première fois par Nathan et *al.* en 1978. C'est un modèle couramment utilisé pour tester l'activité antimicrobienne [74].

La méthode de diffusion en gélose est souvent utilisée pour mettre en évidence l'antagonisme entre les micro-organismes. La procédure est similaire à celle utilisée dans la méthode de diffusion sur disque. Il s'agit de réaliser un ensemencement de la souche d'intérêt sur un milieu de culture approprié par des stries serrées en surface [72]. Sur les boîtes de Pétri inoculées par les germes cibles préparées préalablement, des puits (diamètre de 4,5 mm) sont réalisés puis remplis par la suite de l'extrait à tester (Figure 18). L'activité antibactérienne est

déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des puits après 24h d'incubation à la température adéquat pour le développement de germe en question [75].

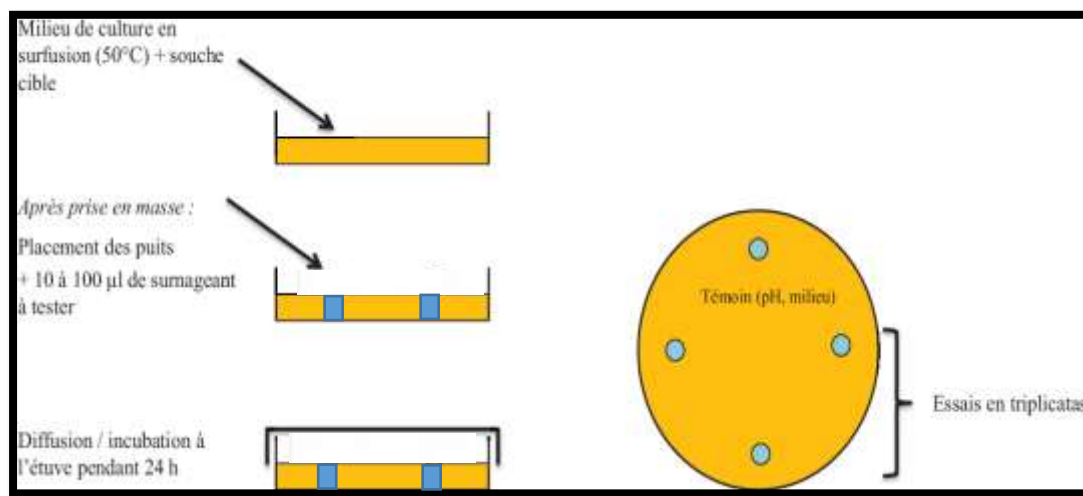


Figure 18 : Schéma illustrant la méthode de diffusion en puits [63].

II.3.3. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les deux paramètres qui sont à la base de toutes les techniques d'étude de l'activité des antibiotiques sont, la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) [76].

La CMI est le test le plus utilisé pour évaluer l'activité antibactérienne d'un antibiotique *in vitro*. Par définition, la CMI est la plus faible concentration d'antibiotique capable d'inhiber toute croissance visible de la souche bactérienne étudiée (bactériostase) exprimée en mg/l ou µg/ml [78].

Le principe de CMI en milieu solide (méthode de dilution en gélose), consiste à incorporer des quantités croissantes de l'antibiotique dans la gélose coulée en boîte de Pétri, réalisant une gamme de concentrations connue. Les souches bactériennes sontensemencées en strie ou en spot (en « tache ») et la lecture se fait après 18 à 24 heures d'incubation [78].

II.3.4. Concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMB est la plus faible concentration d'antibiotique capable après 18 à 24 heures de contact avec une population bactérienne, de laisser un pourcentage de bactéries survivantes inférieur ou égal à 0,01 % en France ou 0,1 % dans les pays anglo-saxons. Elle s'effectue

conjointement à la mesure de la CMI et peut, comme elle, être déterminée en milieu solide ou en milieu liquide [78].

Après détermination de la CMI, le pourcentage de bactéries survivantes est apprécié après repiquage des milieux où aucune culture n'est visible. Beaucoup plus que la CMI, la CMB est sujette à des variations qui dépendent de nombreux facteurs. Il s'agit du milieu de culture, de l'inoculum, de la phase de croissance des bactéries, des conditions d'incubation (agitation, atmosphère d'incubation), de l'adhésion des bactéries à certains supports (plastique) qui diminuent l'effet bactéricide, ou du transport d'antibiotique [78].

La CMB permet de classer un antibiotique comme bactéricide ou bactériostatique en fonction du rapport CMI/CMB. Elle permet aussi d'apprécier le phénomène de tolérance d'une souche lorsque le rapport CMI/CMB est supérieur ou égal à 32 [78].

Chapitre 03

III.1. Résultats et discussion

III.1.1. Taux d'humidité

Le calcul du taux d'humidité est réalisé dans le but d'estimer la teneur en eau de la plante étudiée et de connaître la durée de séchage pour chaque plante. Ceci diffère d'une espèce à une autre et d'une région à une autre. Le poids des feuilles et des noyaux obtenus après séchage est de 13,45g et 22g respectivement. Ces valeurs correspondent à des taux d'humidité de 54,04% pour les feuilles et de 51,31% pour les noyaux (Figure 19).

Cela signifie que la plante absorbe et stocke de l'eau, des substances liquide où huileuse dans ces parties d'origine épidermique ou parenchymateuse, ainsi que des poils épidermiques, des canaux ou des poches [55]. La biosynthèse des principes actifs comme les huiles essentielles continue et s'accélère après la récolte du matériel végétal en réponse au stress hydrique. Sa diminution après des jours de séchage solaire et à l'ombre serait due à la réduction ou l'arrêt de l'activité enzymatique causant la mort des cellules suite à une forte déshydratation [56].

En outre une légère différence est notée entre les taux d'humidité des feuilles et des noyaux de *P. americana*. Cependant, plusieurs facteurs pourraient influencer la teneur en eau et en matière sèche des plantes comme l'espèce végétale, la partie de la plante, l'âge des plantes, la nature du sol et la durée de conservation du végétal après récolte [55].

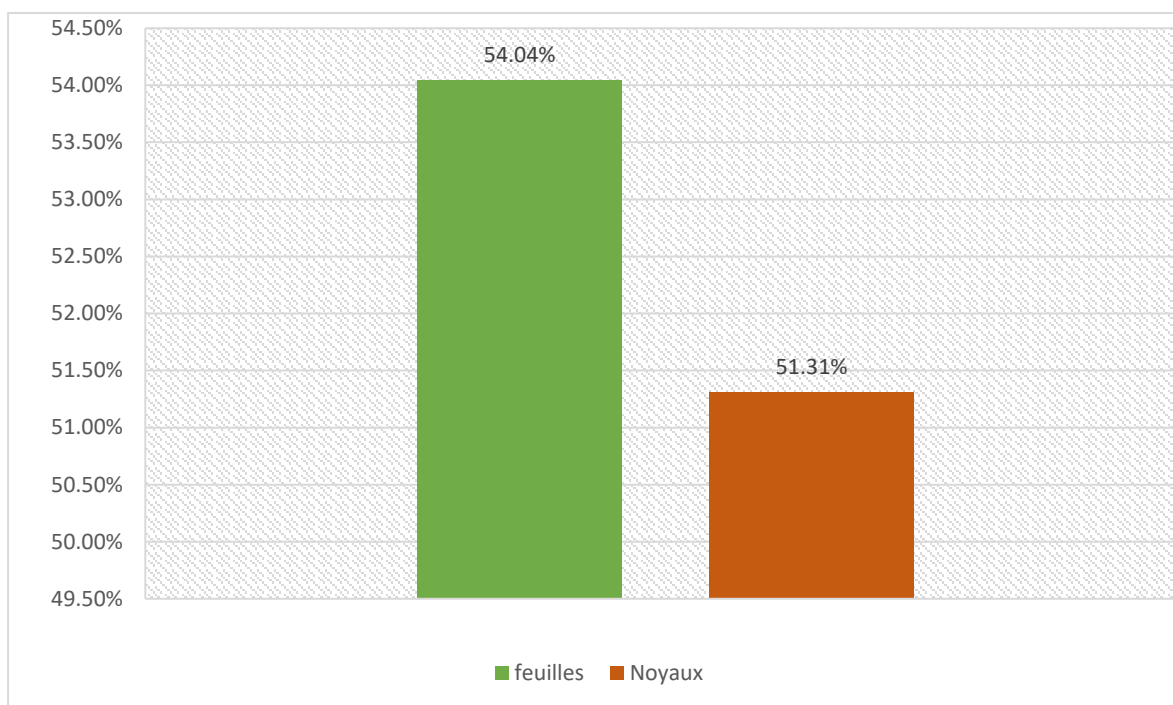


Figure 19 : Diagramme illustrant les résultats des taux d'humidité des feuilles et noyaux de *P. americana*.

III.1.2. Rendement d'extraction

Dans notre travail, l'extraction de la poudre des feuilles et des noyaux de *P. americana* par un solvant polaire (éthanol : eau), a permis d'obtenir un extrait sec d'un aspect pâteux de couleur verte pour les feuilles et marron pour les noyaux après séchage.

Le rendement de l'extrait a été déterminé par rapport au matériel végétal sec. Les résultats du calcul des rendements massiques et les pourcentages obtenus sont reportés dans le tableau 03. Les rendements obtenus dans notre travail sont de 12,4% pour les feuilles et de 24,8% pour les noyaux.

D'après nos résultats, on remarque que le rendement de l'extrait éthanolique des grains est plus élevé par rapport à celui des feuilles. Ce qui nous laisse supposer une forte teneur pour les grains en molécules bioactif (métabolites secondaires) par rapport aux feuilles.

Tableau 03 : Couleur et rendement de différents extraits secs de *P. americana*

Partie de la plante	Extraits	Aspect	Couleur	Rendement %
Feuilles	Ethanolique	Pâteux	Vert foncée	12,4
Noyaux	Ethanolique	Pâteux	Marron foncée	24,8

Nos résultats sont proches de ceux de Mesina [69], où le taux de rendement des extraits éthanoliques des grains de *P. americana* séchés à température ambiante et dans des conditions d'obscurité suite à un broyage, par la méthode d'extraction à l'aide d'éthanol (96%) pendant 2 heures à une température comprise entre 10 et 15°C, était de 20%.

En revanche, un rendement plus faible de 13,09% a été obtenu par Abubakar et *al.* [68], après une extraction éthanolique des grains de *Persea americana* séchés, broyés et macérés dans de l'éthanol à température ambiante, et suivie d'une filtration et élimination du solvant sous vide.

D'autre part, Kamagate et *al.* [70], montre des résultats similaires aux notre. Après une extraction éthanolique des feuilles de *P. americana* séchées à l'ombre suite d'un broyage, par moyen de processus de macération pendant 48h et suivie d'une filtration pour l'élimination du solvant, le rendement obtenu était de 16,8%.

Dans le cas des feuilles, Wientarsih et *al.* [61], a indiqué des taux de rendement de l'ordre de 34% en utilisant l'éthanol à 70% comme solvant. L'extraction dans leur cas était réalisée à partir des feuilles de *P. americana* séchées à température ambiante et dans des conditions d'obscurité suite à un broyage. Le mode d'extraction suivie était la macération pendant 48h suivi d'une concentration à l'aide d'un évaporateur rotatif pour obtenir un extrait semi-solide. Il a été constaté également que l'extrait de feuilles d'avocat contient des alcaloïdes, des tanins, de la saponine, des trithénoïdes et des flavonoïdes.

Tableau 04 : Rendement des extraits éthanoliques et aqueux de *P. americana*

Auteurs	Extraits	Partie de la plante	Rendement %
Mesina (2014)	Éthanolique	Grains	20
Abubakar et al. (2017)	Éthanolique	Grains	13,09
Wientarsih et al. (2012)	Éthanolique	Feuilles	34
Kamagate et al. (2016)	Éthanolique	Feuilles	16,8
Ojewole et al. (2007)	Aqueux	Feuilles	20
Ozolua et al. (2010)	Aqueux	Grains	10,6

Conformément à d'autres travaux, le changement du système solvant et l'utilisation de l'eau uniquement comme solvant d'extraction peut varier les rendements. Selon Ojewole et al. [64], le rendement des extraits aqueux des feuilles de *P. americana* obtenu par macération pendant 48h est de l'ordre de 20%.

En outre, d'autres facteurs comme la partie de la plante sont impliqués dans la variation de ces taux de rendement même en ayant recours à l'utilisation du même solvant. En effet, d'après Ozolua et al. [67], les résultats de taux de rendement d'un extrait aqueux des grains de *P. americana* étaient de 10,6%. Dans leur cas, les grains de *P. americana* ont été séchés au soleil pendant 5 jours et l'extraction a été effectuée par macération dans de l'eau distillée pendant 24 heures.

Donc, à la lumière de nos résultats et ceux des autres auteurs précédemment mentionnée dans notre travail, il est clair que plusieurs facteurs peuvent influencer le rendement d'extraction comme : la durée de séchage, selon les variétés de l'espèce végétal qui se différencie d'une espèce à une autre, selon les métabolites secondaires, le pourcentage en éthanol du solvant hydro-éthanolique, le temps de macération et la vitesse d'agitation, ainsi que la méthode d'extraction [64].

Le choix du solvant est une étape très importante lors de la préparation des extraits de plantes qui a un effet primordial sur les taux de rendement mais aussi sur la nature des molécules extraites [65].

Le processus d'extraction à l'aide de l'éthanol entrepris dans notre étude, est généralement utilisé pour solubiliser les composés actifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes, et considéré comme le solvant le plus adéquat [62]. En effet, Lapornik et *al.* [62] ont montré que les valeurs de polyphénols totaux, sont plus élevées dans les extraits d'éthanol et de méthanol par rapport aux extraits aqueux du fait de la différence de polarité (le méthanol et l'éthanol sont des solvants moins polaires que l'eau).

La polarité de l'éthanol est inférieure à celle de l'eau, donc la dégradation des parois cellulaires de *P. americana* qui ont un caractère non polaire sera efficace [61]. De plus, l'éthanol a un caractère non polaire et c'est ce qui provoque la libération des flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes et d'autres polyphénols des cellules [62].

III.1.2. Activité antibactérienne des extraits éthanolique de *P. americana*

La plupart des auteurs, attribuent l'activité antimicrobienne au contenu phénolique des extraits [80]. Les résultats des études précédentes sur les extraits éthanoliques des grains de *P. americana*, montrent une activité antibactérienne contre toutes les bactéries à Gram positif (*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. pyogenes*), ainsi qu'à Gram négatif *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* [60, 80, 28,79].

Les résultats rapportés par Nwaoguikpe et *al.* [79]. sur l'étude de l'effet antibactérien de l'extrait éthanolique des grains de *P. americana*, sur les souches : *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, qui a été réalisé par la méthode de diffusion sur disque, démontre que cet extrait a une activité antibactérienne contre les Gram négatif *E. coli*, *P. aeruginosa*, et les bactéries à Gram positif *S. aureus* avec des zones d'inhibition de 10 mm, 15 mm, 13 mm respectivement.

L'expérience d'Ildris et *al.* [60]. sur des extraits éthanoliques des graines d'avocat (*P. americana* Mill.) par la méthode de diffusion sur disque, a montré une activité antibactérienne contre *S. pyogenes* avec une zone d'inhibition de 35 mm.

Selon Amado et *al.* [80]. l'étude de l'activité antibactérienne des extraits des grains de *P. americana*, a indiqué une activité antibactérienne contre la bactérie Gram positif *B. cereus*. Chez la souche Gram positif *L. monocytogenes*, l'étude de l'activité antibactérienne des extraits des grains de *P. americana*, par la méthode de diffusion sur disque d'agar, a démontré la présence d'une zone d'inhibition de 9,27mm [28].

Dans le cas des expériences de Biyik et *al.* [81]. qui ont porté sur l'étude de l'effet antibactérien des extraits éthanoliques des feuilles d'avocat (*P. americana* Mill.) sur plusieurs souches bactériennes, une résistance des *E. coli* a été noté. Par contre chez les autres bactéries testées, des faibles zones d'inhibition ont été observées chez *P. aeruginosa* (10 mm), *S. aureus* (11 mm), *L. monocytogenes* (14 mm) et *B. cereus* (13 mm).

Tableau 05 : Diamètre (mm) des zones d'inhibition des extraits éthanoliques des feuilles et des noyaux de *P. americana*

Zone d'inhibition Souches bactérienne	Noyaux	Feuilles
	(100 mg/ml)	(100 mg/ml)
<i>Escherichia coli</i>	10	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	11
<i>Listeria monocytogenes</i>	9,27	14
<i>Bacillus cereus</i>	ND	13
<i>Streptococcus pyogenes</i>	35	ND

- : Absence de zone d'inhibition, ND : non déterminé

Selon Ouattara et *al.* [29]. un extrait est considéré actif lorsqu'il induit une zone d'inhibition supérieure ou égale à 10 mm. Cela indique clairement l'efficacité des différents extraits des feuilles et/ou noyaux contre toutes les bactéries pathogènes à savoir : *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. pyogenes* et *E. coli* (Tableau 5).

D'après le tableau 05, les résultats de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques des feuilles et noyaux de *P. americana* testés à une concentration de 100 mg/ml, montrent la présence d'une zone inhibitrice importante chez la bactérie *S. pyogenes* avec un diamètre de 35 mm. On remarque aussi la présence des zones inhibitrices plus faibles vis-à-vis des bactéries : *P. aeruginosa* et *S. aureus*, avec des diamètres de 15 mm et 13 mm respectivement. Cette

activité antibactérienne est due à la richesse des grains de *P. americana* en molécules bioactives telles que les polyphénols [60, 79].

Par contre, selon Amado et *al.* [80], une activité très faible des extraits éthanoliques des grains contre *L. monocytogenes* avec un diamètre de 9,27 mm a été observée. Ces résultats sont contradictoires par rapport à ceux des travaux de Biyik et *al.* [81] qui ont remarqué un pouvoir antibactérien important de l'extrait éthanolique des feuilles de *P. americana* contre *L. monocytogenes* avec un d'un diamètre de 14 mm. En outre, une présence des zones d'inhibition variable a été observée chez *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *B. cereus* avec des diamètres des zones d'inhibition de 10 mm, 11 mm, 13 mm respectivement [81].

Ces différences entre les résultats des études précédemment rapportées dans la littérature pourraient également être liées à de nombreux paramètres à savoir :

- ✚ Le milieu de culture.
- ✚ La taille de l'inoculum.
- ✚ La technique d'ensemencement.
- ✚ Le procédé et les conditions d'extraction.
- ✚ La nature du matériel d'extraction (risque d'oxydation).
- ✚ Les conditions de conservation, de stockage et de transport.
- ✚ La concentration en extraits utilisée.
- ✚ La diffusion des extraits à travers la gélose.
- ✚ L'état physiologique de la bactérie au sein du foyer infectieux.
- ✚ Influence des facteurs physiologiques ou pathologiques sur la pharmacocinétique des extraits.
- ✚ Émergence d'une résistance au cours du traitement [109].

De plus, les bactéries à Gram négatif sont dotées d'une structure à plusieurs couches et ont une membrane externe composée de lipopolysaccharides avec une teneur en graisses plus élevée dans la paroi cellulaire, ce qui permet moins d'interaction avec les extraits [80]. Cela nous a permis de justifier la résistance et l'absence de zone d'inhibition chez *E. coli* testé par les extraits éthanoliques des feuilles de l'avocat, trouvés dans la littérature notamment l'étude de Biyik et *al.* [81], qui retrouvait cette résistance.

Nwaoguikpe et *al.* [79] ont remarqué une sensibilité de la bactérie d'*E. coli* testée aux extraits éthanoliques des grains de *P. americana* avec une zone inhibitrice égale à 10 mm, ce qui nous laisse confirmer que les grains sont plus riche en métabolites secondaire dont les flavonoides, par rapport aux feuilles.

Les flavonoïdes sont connus pour être synthétisé par les plantes en réponse à une attaque microbienne. Il ne devrait pas être surprenant que ceux-ci ont été trouvés comme substances antibactérienne efficaces contre un large éventail de microorganismes pathogènes lorsqu'ils sont testés *in vitro*. Leur potentiel antimicrobien est probablement dû à leur capacité à réagir de manière extracellulaire avec des protéines solubles, formant un complexe avec les parois cellulaires bactériennes, entraînant la lyse bactérienne et la mort [79].

Conclusion

Conclusion

L'exploitation du potentiel biologique des espèces végétales revêt un intérêt important. Les nouvelles démarches consistent à s'intéresser à la recherche des principes actifs dans les produits naturels d'origine végétale.

Le présent travail a porté sur l'étude de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques des feuilles et des noyaux de *Persea americana* (Avocatier). Cette plante est largement utilisée en médecine traditionnelle à travers le monde.

Au cours de notre travail, nous avons montré que le taux d'humidité des feuilles de *P. americana* est un peu plus élevé que celui des noyaux (54,04% pour les feuilles et de 51,31% pour les noyaux). Comme il est important de choisir un bon solvant d'extraction afin d'obtenir des meilleurs rendements. Les rendements obtenus dans notre cas sont de 12,4 % dans les feuilles et de 24,8% dans les noyaux en utilisant l'éthanol.

Le but de notre étude était de contribuer à apporter des informations sur la composition en principes actifs de *P. americana* et ses effets antibactériens sur les souches Gram positif (ex : *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes*) et à Gram négatif (ex : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*).

Chez *P. americana* les composés phénoliques sont présents en quantité appréciable surtout dans les noyaux, ce qui contribue à son effet dans la prévention contre les maladies bactériennes. Cela soutient donc l'utilisation de *P. americana* en médecine traditionnelle et suggère que d'autres études soient menées pour isoler et identifier les substances actives responsables de son activité antibactérienne et antimicrobienne.

Une autre préoccupation majeure actuellement demeure le manque de collaboration entre la médecine moderne et les tradipraticiens. Une recommandation particulière s'adresse à ces derniers afin de se concentrer sur l'éducation et la formation en vue de s'assurer que les connaissances et qualifications soient adéquates, ce qui aiderait à un usage rationnel en vue d'une complémentarité des types de soins de santé proposés en utilisant correctement les produits de qualité.

Au terme de cette étude, nous suggérons aux chercheurs de:

- Entreprendre une étude de l'activité antibactérienne *in vitro*.
- Prévoir une étude toxicologique du macéré afin d'améliorer l'usage en thérapie humaine.
- Approfondir l'étude chimique des extraits de la plante.

Références bibliographiques

Références bibliographique

1. Basli, A., Chibane, M., Madani, K., & Oukil, N. (2012). *Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: Origanum glandulosum Desf.* *Phytothérapie*, 10(1), 2–9. Doi:10.1007/s10298-012-0683-9
2. Boudjouref, M. (2011). *Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L.* **[en ligne]** Magister en Biochimie appliquée. Sétif : Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biochimie. Disponible sur : <<https://www.univsetif.dz/MMAGISTER/images/facultes/SNV/2011/Boudjouref%20Mourad.pdf> >
3. Kada, S. (2018). *Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques.* **[en ligne]** Thèse de doctorat en Biochimie appliquée. Sétif : Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biochimie. Disponible sur : <<http://dspace.univsetif.dz:8888/jspui/bitstream/123456789/3008/1/th%C3%A8se%20finale%201.pdf>>
4. Amégninou A, Koffi Apeti G, Eyana Kpemissi A, Kokou T, Komlan B, Kossi Honoré K, Koffi A. (2013). *Evaluation des activités antimicrobiennes de Tridax procumbens (Asteraceae), Jatropha multifida (Euphorbiaceae) et de Chromolaena odorata (ASTERACEAE).* vol.9, No.36 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431
5. Chloé, M. (2017). *Contribution à l'étude phytochimiques des espèces Leea guinensis, Litchi chinensis et Persea americana en vue de valorisations cosmétiques.* Gembloux : Agro-Bio Tech (GxABT). Disponible sur : <<https://matheo.uliege.be/bitstream/2268.2/3095/4/TFE-CHLOEMAES.pdf>>
6. Whiley, A.W., Schaffer, B. Wolstenholme, B.N. (2002). **In:** *The avocado: botany, production, and uses.* British Library, London, UK. ISBN 0 85199 357 5. Disponible sur : <[file:///C:/Users/mss/Downloads/A%20%20W%20Whiley_%20B%20Schaffer_%20B%20%20N%20Wolstenholme%20%20The%20avocado%20_%20botany,%20production,%20and%20uses-CABI%20Pub%20\(2002\).pdf](file:///C:/Users/mss/Downloads/A%20%20W%20Whiley_%20B%20Schaffer_%20B%20%20N%20Wolstenholme%20%20The%20avocado%20_%20botany,%20production,%20and%20uses-CABI%20Pub%20(2002).pdf)>
7. Kim, D. (2007). *Taxonomy & Identification: Redbay (Persea borbonia).* University of Georgia, Warnell School of Forestry & Natural Resources. Publication SFNR07-2
8. Maisonneuve et Larose, (1994). *L'avocatier.* L'académie d'agriculture de France.

9. Yasir, M., Das, S., & Kharya, M. (2010). *The phytochemical and pharmacological profile of Persea americana* Mill. *Pharmacognosy Reviews*, 4(7), 77. Doi:10.4103/0973-7847.65332
10. Yahia, E. M., & Woolf, A. B. (2011). *Avocado (Persea americana Mill.)*. *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits*, 125–186e. Doi:10.1533/9780857092762.125
11. Benoît Bock & al. (2019). *Référentiel des trachéophytes de France métropolitaine et régions avoisinantes*. [en ligne]. Disponible sur : <file:///C:/Users/mss/Downloads/Persea_americana%20(1).pdf>
12. Kosińska, A., Karamać, M., Estrella, I., Hernández, T., Bartolomé, B., & Dykes, G. A. (2012). *Phenolic Compound Profiles and Antioxidant Capacity of Persea americana Mill. Peels and Seeds of Two Varieties*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(18), 4613–4619. Doi: 10.1021/jf300090p
13. Chanderbali, A. S., Albert, V. A., Ashworth, V. E. T. M., Clegg, M. T., Litz, R. E., Soltis, D. E., & Soltis, P. S. (2008). *Persea americana (avocado): bringing ancient flowers to fruit in the genomics era*. *BioEssays*, 30(4), 386–396. Doi:10.1002/bies.20721
14. Top tropical. In *Top Tropicals guide to very cold hardy avocado varieties*. Top Tropicals Garden Center 13890 Orange River Blvd, Ft Myers, FL 33905. Disponible sur : <https://toptropicals.com/html/toptropicals/articles/fruit/varieties_avocado.htm>
15. Dreher, M. L., & Davenport, A. J. (2013). *Hass Avocado Composition and Potential Health Effects*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(7), 738–750. Doi:10.1080/10408398.2011.556759
16. Takenaga, F., Matsuyama, K., Abe, S., Torii, Y., & Itoh, S. (2008). *Lipid and Fatty Acid Composition of Mesocarp and Seed of Avocado Fruits Harvested at Northern Range in Japan*. *Journal of Oleo Science*, 57(11), 591–597. Doi:10.5650/jos.57.591
17. Nayak, B. S., Raju, S. S., & Chalapathi Rao, A. V. (2008). *Wound healing activity of Persea americana (avocado) fruit: a preclinical study on rats*. *Journal of Wound Care*, 17(3), 123–125. Doi:10.12968/jowc.2008.17.3.28670
18. Bernard E. (2016). *L'avocat : il est temps de se mettre au vert*. [en ligne]. Disponible sur : <https://www.nutri-bay.com/blogs/blog-nutri-bay-com/lavocat-il-est-temps-de-se-mettre-au-vert>

19. Ramos-Jerz, M. Del R., Villanueva, S., Jerz, G., Winterhalter, P., & Deters, A. M. (2013). *Persea americana* Mill. Seed: Fractionation, Characterization, and Effects on Human Keratinocytes and Fibroblasts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1–12. Doi:10.1155/2013/391247
20. Nabavi, S. F., Nabavi, S. M., N. Setzer, W., Nabavi, S. A., Nabavi, S. A., & Ebrahimzadeh, M. A. (2013). *Antioxidant and antihemolytic activity of lipid-soluble bioactive substances in avocado fruits*. *Fruits*, 68(3), 185–193. Doi:10.1051/fruits/2013066
21. Bondet, V., Brand-Williams, W., & Berset, C. (1997). *Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH. Free Radical Method*. *LWT - Food Science and Technology*, 30(6), 609–615. Doi:10.1006/fstl.1997.0240
22. Dabas, D., Elias, R. J., Ziegler, G. R., & Lambert, J. D. (2019). *In Vitro Antioxidant and Cancer Inhibitory Activity of a Colored Avocado Seed Extract*. *International Journal of Food Science*, 2019, 1–7. doi:10.1155/2019/6509421
23. Bhuyan, D.J., Alsherbiny, M.A., Perera, S., Low, M., Basu, A., Devi, O.A., Papoutsis. K. (2019). *The Odyssey of Bioactive Compounds in Avocado (Persea americana) and their Health Benefits*. *Antioxidants*, 8(10), 426. Doi:10.3390/antiox8100426
24. De Oliveira, A. P., Franco, E. de S., Rodrigues Barreto, R., Cordeiro, D. P., de Melo, R. G., de Aquino, C. M. F., Maia, M. B. de S. (2013). *Effect of Semisolid Formulation of Persea Americana Mill (Avocado) Oil on Wound Healing in Rats*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1–8. doi:10.1155/2013/472382
25. Adeyemi, O., Okpo, S., & Ogunti, O. (2002). *Analgesic and anti-inflammatory effects of the aqueous extract of leaves of Persea americana Mill (Lauraceae)*. *Fitoterapia*, 73(5), 375–380. Doi: 10.1016/s0367-326x (02)00118-1
26. Raymond Chia, T. W., & Dykes, G. A. (2010). *Antimicrobial activity of crude epicarp and seed extracts from mature avocado fruit (Persea americana) of three cultivars*. *Pharmaceutical Biology*, 48(7), 753–756. Doi: 10.3109/13880200903273922
27. Cardoso, P. F., Scarpassa, J. A., Pretto-Giordano, L.G., Otaguiri, E. S., Yamada-Ogatta, S.F., Nakazato, G., Perugini, M.R.E., Moreira, I.C., Vilas-Boas, G.T. (2016). *Antibacterial activity of avocado extracts (Persea americana Mill.) against streptococcus agalactiae*. *Phyton* 2016, 85, 218–224

28. Rodríguez-Carpena, J. G., Morcuende, D., Andrade, M. J., Kylli, P., & Estévez, M. (2011). *Avocado (Persea americana Mill.) Phenolics, In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Inhibition of Lipid and Protein Oxidation in Porcine Patties*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(10), 5625–5635. Doi: 10.1021/jf1048832
29. Ouattara, K., Doumbia, I., Touré, A., Djaman, A. J., & Coulibaly, A. (2013). *Activité antibactérienne des extraits des feuilles de Morinda morindoides (Morinda, Rubiaceae) sur Staphylococcus aureus et Pseudomonas aeruginosa*. Phytothérapie, 11(3), 172–177. Doi:10.1007/s10298-013-0780-z
30. Collomb, A. (2011). *Caractérisation de la différence de sensibilité à l'infection par Staphylococcus aureus de deux lignées de souris*. [en ligne] Thèse de doctorat en Docteur vétérinaire. Toulouse : Université Paul-Sabatier. Disponible sur : <https://oatao.univ-toulouse.fr/5218/1/collomb_5218.pdf>
31. Otto, M. P., Martin, E., Badiou, C., Lebrun, S., Bes, M., Vandenesch, F., Dumitrescu, O. (2013). *Effects of subinhibitory concentrations of antibiotics on virulence factor expression by community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 68(7), 1524–1532. Doi:10.1093/jac/dkt073
32. Emilie D. (2007). *Listeriamonocytogenes : Caractérisation fonctionnelle d'un mutant ferritine. Etude de la biodiversité par une approche protéomique*. [en ligne] Thèse de doctorat en Sciences des Aliments. Auvergne : Université Blaise Pascal Institut National de la Recherche Agronomique. Disponible sur: <<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00718111/document>>
33. Kathariou, S., Metz, P., Hof, H., & Goebel, W. (1987). *Tn916-induced mutations in the hemolysin determinant affecting virulence of Listeria monocytogenes*. Journal of Bacteriology, 169(3), 1291–1297. doi:10.1128/jb.169.3.1291-1297.1987
34. Jinneman, K. C., & Hill, W. E. (2001). *Listeria monocytogenes Lineage Group Classification by MAMA-PCR of the Listeriolysin Gene*. Current Microbiology, 43(2), 129–133. Doi:10.1007/s002840010274
35. Diallo, A. (2013). *Escherichia coli pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire*. [en ligne] Thèse de doctorat en microbiologie. Toulouse : université Paul Sabatier. Disponible sur : <<http://thesesups.ups-tlse.fr/2112/1/2013TOU30162.pdf>>

36. Lee, G. Y., Jang, H. I., Hwang, I. G., & Rhee, M. S. (2009). *Prevalence and classification of pathogenic Escherichia coli isolated from fresh beef, poultry, and pork in Korea*. International Journal of Food Microbiology, 134(3), 196–200. Doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.06.013
37. Gavini, F., Izard, D., Trinel, P. A., Lefebvre, B., & Leclerc, H. (1981). *Etude taxonomique d'entérobactéries appartenant ou apparentées à l'espèce Escherichia coli*. Canadian Journal of Microbiology, 27(1), 98–106. Doi: 10.1139/m81-016
38. Sinon, L. (2001). *Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles de Dichrostachys cinerea (L.) Wight et Arn (Mimosaceae)*. [en ligne] Thèse de doctorat en Pharmacie. Burkina Faso : université d'Ouagadougou. Disponible sur : <<http://www.beep.ird.fr/collect/uouaga/index/assoc/M08465.dir/M08465.pdf>>
39. Vincenot, F., Saleh, M., & Prévost, G. (2008). *Les facteurs de virulence de Staphylococcus aureus*. Revue Francophone Des Laboratoires, 2008(407), 61–69. Doi:10.1016/s1773-035x(08)74868-8
40. Jiménez, G., Urdiain, M., Cifuentes, A., López-López, A., Blanch, A. R., Tamames, J., Rosselló-Móra, R. (2013). *Description of Bacillus toyonensis sp. nov., a novel species of the Bacillus cereus group, and pairwise genome comparisons of the species of the group by means of ANI calculations*. Systematic and Applied Microbiology, 36(6), 383–391. doi:10.1016/j.syapm.2013.04.008
41. Julien L. (2014). *Compréhension des mécanismes impliqués dans l'activité réductrice et dans les adaptations métaboliques à pH acide de Bacillus cereus : implication des thiols exofaciaux*. [en ligne] Thèse de doctorat en microbiologie. France : Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. Disponible sur: <[file:///C:/Users/mss/Downloads/pdf2star1429795812Theseversionelectroniquelelay%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/mss/Downloads/pdf2star1429795812Theseversionelectroniquelelay%20(1).pdf)>
42. Raymond, B., Bonsall, M. B. (2013). *Cooperation and the evolutionary ecology of bacterial virulence: The Bacillus cereus group as a novel study system*. Bio Essays, 35(8), 706–716. doi:10.1002/bies.201300028
43. Diallo, T. (2010). *Typage et prévalence du gène emm codant pour la protéine M de Streptococcus pyogenes : étude BGAS2000 Bamako au Mali*. [en ligne] Thèse de doctorat en

Pharmacie. Mali : université de Bamako. Disponible sur: <file:///C:/Users/mss/Downloads/[43]-10P64.pdf>.

44. Kreikemeyer, B., McIver, K. S., & Podbielski, A. (2003). *Virulence factor regulation and regulatory networks in Streptococcus pyogenes and their impact on pathogen–host interactions*. Trends in Microbiology, 11(5), 224–232. Doi: 10.1016/s0966-842x(03)00098-2

45. Souhila, M., Mustapha, K., et Nacérab, M. (2013). *Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (Cynara scolymus L.)*. Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques, P 35 à 40

46. Irshad, S., Mahmood, M., and Perveen, F. (2012). *In Vitro Anti-Bacterial Activities of Three Medicinal Plants Using Agar Well Diffusion Method*. Research Journal of Biology, Vol. 02, Issue 01, pp. 1-8

47. Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., Rakesh, D. D. (2008). *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology

48. Conte, A., Speranza, B., Sinigaglia, M., Del Nobile, M. A. (2007). *Effect of Lemon Extract on Foodborne Microorganisms*. Journal of Food Protection, 70(8), 1896–1900. Doi:10.4315/0362-028x-70.8.1896

49. Blogger. (2016). **In Avocado**. Horticulture plant ID. Disponible sur : < <http://sleeshorticultureplantid.blogspot.com/2016/03/avocado.html>>

50. Neïla, B., R. (2012). *Extraction, identification et caractérisation des molécules bioactives de la graine et de l'huile de Silybum marianum. Étude de leurs activités antioxydante et antitumorale*. [en ligne] thèse de doctorat en science biologique. France : université de Lorraine. Disponible sur : < <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01749373/document>>

51. Ebringerová, A., & Hromádková, Z. (2010). *An overview on the application of ultrasound in extraction, separation and purification of plant polysaccharides*. Open Chemistry, 8(2). Doi: 10.2478/s11532-010-0006-2

52. Luque de Castro, M. ., & García-Ayuso, L. (1998). *Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future*. Analytica Chimica Acta, 369(1-2), 1–10. Doi: 10.1016/s0003-2670(98)00233-5

53. Aubry, M. (2013). *Détermination de la teneur en humidité dans des aliments pour animaux et les pains*. Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, laboratoire de Liège. Disponible sur : http://www.favv.be/laboratoria/methoden/favv/_documents/20130204_MET-LFSAL-007-008-Humidite.pdf >
54. Kaufmann, B., & Christen, P. (2002). *Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction*. *Phytochemical Analysis*, 13(2), 105–113. Doi:10.1002/pca.631
55. Bouchet, P., Mestre, J. C. (2020). *SÉCRÉTIONS VÉGÉTALES*. Encyclopædia Universalis [en ligne]. Disponible sur : <<http://www.universalis.fr/encyclopedia/secrections-vegetales>>
56. Bourkhiss, M., Hnach, M., Bourkhiss, B., OuhssinE, M. (2009). *Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de Tetraclinis articulata (Vahl) Masters*. Agrosolutions production végétale.
57. Mohammedi Z. (2005). *Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen*. Thèse de Magistère. Université Abou Bakr Belkaïd, Tlemcen.
58. Sommer36. (2016). *In Agar diffusion method*. Wikipedia : Disk diffusion test. Disponible sur : <https://en.wikipedia.org/wiki/File:Agar_Diffusion_Method_1.jpg>
59. Gourguillon, L., Destandau, É., Lobstein, A., & Lesellier, É. (2016). *Comparaison de différentes méthodes d'extraction d'acides dicaféoylquiniques à partir d'une plante halophile*. *Comptes Rendus Chimie*, 19 (9), 1133–1141. Doi:10.1016/j.crci.2016.03.009
60. Idris, S., Ndukwe, G., & Gimba, C. (2010). *Preliminary phytochemical screening and antimicrobial activity of seed extracts of Persea americana (avocado pear)*. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 2(1). Doi: 10.4314/bajopas.v2i1.58538
61. Wientarsih, I., Madyastuti, R., Prasetyo, B. F., & Aldobrata, A. (2012). *Anti Lithiasis Activity of Avocado (Persea americana Mill) Leaves Extract in White Male Rats*. *Hayati Journal of Biosciences*, 19(1), 49–52. Doi: 10.4308/hjb.19.1.49

62. Lapornik, B., Prošek, M., & Golc Wondra, A. (2005). *Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time*. Journal of Food Engineering, 71(2), 214–222. Doi:10.1016/j.jfoodeng.2004.10.036
63. Fatoumata, T. (2014). *Étude de la production de peptides non-ribosomiques chez des souches de Paenibacillus*. [En ligne] Thèse de doctorat en sciences agricoles. France : Université de La Rochelle Disponible sur <<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01205725/document>>
64. Abaide, E. R., Zabot, G. L., Tres, M. V., Martins, R. F., Fagundez, J. L., Nunes, L. F., Mazutti, M. A. (2017). *Yield, composition, and antioxidant activity of avocado pulp oil extracted by pressurized fluids*. Food and Bio products processing, 102, 289–298. Doi:10.1016/j.fbp.2017.01.008
65. Soldera-Silva, A., Seyfried, M., Campestrini, L. H., Zawadzki-Baggio, S. F., Minho, A. P., Molento, M. B., & Maurer, J. B. B. (2018). *Assessment of anthelmintic activity and bio-guided chemical analysis of Persea americana seed extracts*. Veterinary Parasitology, 251, 34–43. Doi:10.1016/j.vetpar.2017.12.019
66. Azwanida NN. (2015). *A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation*. Medicinal & Aromatic Plants, 04(03). Doi: 10.4172/2167-0412.1000196
67. Ozolua, R., Anaka, O., Okpo, S., & Idogun, S. (2010). *Acute and sub-acute toxicological assessment of the aqueous seed extract of Persea americana Mill (Lauraceae) in rats*. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 6(4). Doi: 10.4314/ajtcam.v6i4.57214
68. Abubakar, A. N. F., Achmadi, S. S., & Suparto, I. H. (2017). *Triterpenoid of avocado (Persea americana) seed and its cytotoxic activity toward breast MCF-7 and liver HepG2 cancer cells*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 7(5), 397–400. Doi: 10.1016/j.apjtb.2017.01.010
69. Mesina, R. V. (2014). *Method for the extraction of furandervative compounds from seed of Hass avocado (Persea americana Mill) at low temperature and their use as repellents and mitcides against tetranychusurticae, tetranychus cinnabarinus, oligonychus yothersi, panonychus citri, and brevipalpus chilensis*. Instituto d'Investigaciones Agropecuarias (INLA), Santiago (CL), 14/310,297

70. Kamagate, M., Kouame, N. M., Koffi, E., Kadja, A. B., Camille, K., Yao, N. A. R., Balayssac, E., Potey, T. D., N'zoue, K. S., and Die-Kacou, H. M. (2016). *Acute toxicity and hypoglycaemic activity of the leaf extracts of Persea americana Mill. (Lauraceae) in Wistar rats*. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. Doi: 10.5897/AJPP2016.4617
71. Guzmán-Rodríguez, J. J., López-Gómez, R., Suárez-Rodríguez, L. M., Salgado-Garciglia, R., Rodríguez-Zapata, L. C., Ochoa-Zarzosa, A., & López-Meza, J. E. (2013). *Antibacterial Activity of Defensin PaDef from Avocado Fruit (Persea Americana var. drymifolia) Expressed in Endothelial Cells against Escherichia coli and Staphylococcus aureus*. BioMed Research International, 2013, 1–9. Doi:10.1155/2013/986273
72. Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). *Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review*. Journal of Pharmaceutical Analysis, 6(2), 71–79. Doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005
73. Jorgensen, J. H., & Ferraro, M. J. (2009). *Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices*. Clinical Infectious Diseases, 49(11), 1749–1755. Doi: 10.1086/647952
74. Holder, I. A., & Boyce, S. T. (1994). *Agar well diffusion assay testing of bacterial susceptibility to various antimicrobials in concentrations non-toxic for human cells in culture*. Burns, 20(5), 426–429. Doi: 10.1016/0305-4179(94)90035-3
75. Bouhdid, S., Idaomar, M., Zhiri, A., Baudoux, D., Skali, N. S., and Abrini, J. (2006). *Thymus essential oils: Chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities*. Biochimie, Substances Naturelles et Environnement
76. Archambaud, M. (2000). *Méthodes d'évaluation de l'activité des antibiotiques*. Laboratoire de Bactériologie
77. Høiby, N., Bjarnsholt, T., Moser, C., Jensen, P. Ø., Kolpen, M., Qvist, T., Ciofu, O. (2017). *Diagnosis of biofilm infections in cystic fibrosis patients*. Apmis, 125(4), 339–343. Doi:10.1111/apm.12689
78. Huet, C. (2007). *Principes de mesure de la sensibilité aux antibiotiques*. CMI/CMB. EMC - Biologie Médicale, 2(3), 1–3. Doi: 10.1016/s2211-9698(07)71385-7

79. Nwaoguikpe R. N., Braide W. and Ujowundu C. O. (2011). *Biochemical composition and antimicrobial activities of seed extracts of avocado (Persea americana)*. Journal of Microbiology and Antimicrobials Vol. 3(7), pp. 184-190
80. Amado, D. A. V., Helmann, G. A. B., Detoni, A. M., Carvalho, S. L. C. de, Aguiar, C. M. de, Martin, C. A., Cottica, S. M. (2019). *Antioxidant and antibacterial activity and preliminary toxicity analysis of four varieties of avocado (Persea americana Mill.)*. Brazilian Journal of Food Technology, 22(0). Doi:10.1590/1981-6723.04418
81. Biyik, H. H., Onur M., Torun, B., Çoban, E. P. (2019). *Antibacterial and anticandidal effects of the leaf extracts of Persea americana Mill.* Allen institute for al.
82. Freitas, M., Tavan, E., Cayuela, C., Diop, L., Sapin, C., & Trugnan, G. (2003). *Host-pathogens cross-talk. Indigenous bacteria and probiotics also play the game.* Biology of the Cell, 95(8), 503–506. Doi:10.1016/j.biolcel.2003.08.004
83. Schmidtchen, A., Frick, I.-M., Andersson, E., Tapper, H., & Björck, L. (2002). *Proteinases of common pathogenic bacteria degrade and inactivate the antibacterial peptide LL-37.* Molecular Microbiology, 46(1), 157–168. Doi:10.1046/j.1365-2958.2002.03146.x
84. Jean-Michel, A., Jacques, B., Patrick, F. (2020). *Bactéries Encyclopædia Universalis [en ligne]*. Disponible sur : <<http://www.universalis.fr/encyclopedie/bacteries>>
85. Service de Bactériologie (2003). *Bactériologie*. Université Pierre et Marie Curie
86. Baba, T., Bae, T., Schneewind, O., Takeuchi, F., & Hiramatsu, K. (2007). *Genome Sequence of Staphylococcus aureus Strain Newman and Comparative Analysis of Staphylococcal Genomes: Polymorphism and Evolution of Two Major Pathogenicity Islands.* Journal of Bacteriology, 190(1), 300–310. Doi:10.1128/jb.01000-07
87. Kathariou, S. (2002). *Listeria monocytogenes Virulence and Pathogenicity, a Food Safety Perspective.* Journal of Food Protection, 65(11), 1811–1829. Doi:10.4315/0362-028x-65.11.1811
88. Drevets, D. A., Sawyer, R. T., Potter, T. A., & Campbell, P. A. (1995). *Listeria monocytogenes Infects Human Endothelial Cells by Two Distinct Mechanisms.* Infection and Immunity, p. 4268–4276.
89. Pasquier, L., Chuard, C. (2017). *Infections à Listeria monocytogenes.* Revue médicale Suisse, 13 : 1737-40.

90. Kaper, J. B., Nataro, J. P., Mobley, H. L. T. (2004). *Pathogenic Escherichia coli*. Nature Reviews Microbiology , p 123–140
91. Chiang-Ni, C., & Wu, J.-J. (2008). *Effects of Streptococcal Pyrogenic Exotoxin B on Pathogenesis of Streptococcus pyogenes*. Journal of the Formosan Medical Association, 107(9), 677–685. Doi: 10.1016/s0929-6646(08)60112-6
92. Ramarao, N. (2012). *Bacillus cereus : caractéristiques et pathogénie*. EMC - Biologie Médicale, 7(4), 1–10. Doi:10.1016/s2211-9698(12)57791-5
93. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail(2011). *Bacillus cereus*. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments
94. Veron, M. (1983). *Biologie de Pseudomonas aeruginosa*. Médecine et Maladies Infectieuses, 13(6), 352–356. Doi:10.1016/s0399-077x(83)80117-6
95. Meghdas, I., Hamze, M., Dabboussi, F., Baida, N., et Izard, D. (2004). *Taxonomie du genre Pseudomonas : rétrospective et actualité*. Lebanese Science Journal.
96. Sadikot, R. T., Blackwell, T. S., Christman, J. W., & Prince, A. S. (2005). *Pathogen–Host Interactions in Pseudomonas aeruginosa Pneumonia*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 171(11), 1209–1223. Doi:10.1164/rccm.200408-1044so
97. Lyczak, J. B., Cannon, C. L., & Pier, G. B. (2000). *Establishment of Pseudomonas aeruginosa infection: lessons from a versatile opportunist*¹. Address for correspondence: Channing Laboratory, 181 Longwood Avenue, Boston, MA 02115, USA. Microbes and Infection, 2(9), 1051–1060. Doi:10.1016/s1286-4579(00)01259-4
98. Khalifa, A. B. H., Moissenet, D., Thien, H. V., Khedher, M. (2011). *Les facteurs de virulence de Pseudomonas aeruginosa : mécanismes et modes de régulations*. Annales de biologie clinique, 69 (4) : 393-403. Doi:10.1684/abc.2011.0589
99. Medically important (2015). *Pure culture of Streptococcus pyogenes bacteria*. Disponible sur :<<https://www.microbiologyinpictures.com/bacteria%20photos/streptococcus%20pyogenes%20photos/streptococcus%20pyogenes%2001.html>>
100. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, (2011). *Staphylococcus aureus and staphylococcal enterotoxins*. Data sheet on foodborne biological hazards

101. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (2011). *Listeria monocytogenes*. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments
102. Rüegg, C., Tarnutzer, A., Kuster, S. P., Weber, R., Berger, C., Zinkernagel, A. S. (2018). *Streptococcus pyogenes – colonisation versus virulence*. Swiss medical forum, 18(33):647–653
103. Janice, H., C. (2006). *Pseudomonas aeruginosa bacteria*. Centers of Disease Control and Prevention. U.S. Department of Health & Human Services. Disponible sur: <<https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=10043>>
104. Janice, H., C. (2006). *Escherichia coli bacteria, of the strain O157:H7*. Centers of Disease Control and Prevention. U.S. Department of Health & Human Services. Disponible sur: <<https://phil.cdc.gov/details.aspx?pid=10068>>
105. Analyse de biologie médicale. *Staphylococcus aureus*. Disponible sur: <<http://anabiocours.e-monsite.com/pages/micriobiologie/les-gram/staphylococcus-aureus.html>>
106. Wang, N., Strugnell, R., Wijburg, O., & Brodnicki, T. (2011). *Measuring Bacterial Load and Immune Responses in Mice Infected with Listeria monocytogenes*. Journal of Visualized Experiments, (54). Doi: 10.3791/3076
107. Wei, C., & Zhao, X. (2018). *Induction of Viable but Nonculturable Escherichia coli O157:H7 by Low Temperature and Its Resuscitation*. Frontiers in Microbiology, 9. Doi:10.3389/fmicb.2018.027
108. Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P. (2007). *Le stress oxydant*. Service de Biologie clinique. CHU Sart Tilman, 4000 Liège, Belgique. 62 : 10 : 628-638
109. Cour microbiologie clinique. *Antibiogramme*. Chapitre l'antibiogramme. Disponible sur : <<https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/microbio/2017/Cours%20microbiologie%20clinique%20chapitre%20l'antibiogramme.pdf>>

Résumé

Le but de ce travail était l'étude de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques des noyaux et des feuilles de *Persea americana*. Le calcul des taux d'humidité (exprimé par le pourcentage) a montré des valeurs élevées de 54,04 % pour les feuilles et de 51,31 % pour les noyaux. L'extraction hydro-éthanolique par macération a permis d'obtenir des rendements importants de 24,8% pour les noyaux et de 12,4% pour les feuilles. Les résultats retrouvés dans la littérature, lors des études précédentes sur les extraits éthanolique de *Persea americana*, ont montré plusieurs activités biologiques intéressantes à savoir des activités anti-oxydantes, anticancéreuses, anti-inflammatoires et antibactériennes contre les bactéries à Gram positif telle que : *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes* et à Gram négatif : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, dont la zone d'inhibition la plus importante est de 35 mm observée chez *Streptococcus pyogenes*, due à la présence de plusieurs principes actifs à intérêt thérapeutique. La richesse de cette plante en composés phénoliques pourrait justifier son usage dans le traitement de certaines infections d'origine bactérienne et de l'exploiter à des fins thérapeutiques, notamment antibactériennes.

Mots clés : *Persea americana*, humidité, rendement, activité antibactérienne, activité biologique.

Abstract

The aim of this work was the study of the antibacterial activity of ethanolic extracts of seeds and leaves obtained from *Persea americana*. The moisture content (expressed as the percentage), showed high values of 54.04% for the leaves and 51.31% for the seeds. The hydro-ethanolic extraction by maceration showed important yields of 24.8% for the seeds and 12.4% for the leaves. The results previously reported in the literature on ethanolic extracts of *P. americana* showed many interesting biological activities, such as, antioxidant, anticancer, anti-inflammatory and antibacterial against Gram positive such as: *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes* and Gram negative *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* bacteria, whose greatest inhibition zone is 35 mm observed in *Streptococcus pyogenes*, due to the presence of many active principle of therapeutic value. The richness of this plant in phenolic compounds could justify the use of *P. americana* in the treatment of some bacterial infections and exploited for therapeutic purposes, in particular antibacterial.

Keywords: *Persea americana*, humidity, yield, antibacterial activity, biological activity.

ملخص

كان الهدف من هذا العمل هو دراسة النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصات الإيثانول من نواة وأوراق بيرسا أمريكانا. أظهر حساب معدلات الرطوبة (معبّر عنها كنسبة مئوية) قيمًا عالية بلغت 54.04% للأوراق و 51.31% للنوى. نتج عن الاستخلاص الإيثانولي بالنقع إنتاجية كبيرة بلغت 24.8% للنوى و 12.4% للأوراق. أظهرت النتائج التي تم العثور عليها في الدراسات الأدبية السابقة على مستخلصات الإيثانول من بيرسا أمريكانا، العديد من الأنشطة البيولوجية المثيرة للاهتمام ، وهي مضادات الأكسدة ومضادات السرطان ومضادات الالتهابات ومضادات البكتيريا ضد البكتيريا إيجابية الغرام مثل : ستافيلوكوكوس اوغيوس ، لستيريا مونوسييتوجناس ، بسيلوس سغيوس ، ستغيتوكوس بيوجوناس ، و غرام سلبي : ايشريشيا كولي و بسودوموناس ايغوجينوزا ، التي تبلغ أكبر منطقة تثبيط لها 35 ملم في ستغيتوكوس بيوجوناس ، بسبب وجود العديد من المكونات النشطة ذات الأهمية العلاجية. إن ثراء هذا النبات من المركبات الفينولية يمكن أن يبرر استخدامه في علاج بعض أنواع العدوى البكتيرية واستغلاله لأغراض علاجية ، خاصة المضادات للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية: بيرسا أمريكانا ، الرطوبة ، المحصول ، النشاط المضاد للبكتيريا ، النشاط البيولوجي.