

Université MUSTAPHA Stambouli
Mascara



جامعة مصطفى اسطمبولي
معسكر

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Laboratoire de Bioconversion, Génie Microbiologique et Sécurité Sanitaire

THESE de DOCTORAT
Spécialité : Valorisation des Substances Naturelles

Intitulée

**Interactions des exopolysaccharides microbiens dans la
dynamique complexe intestinale, suite à des maladies
métaboliques**

Présenté par : BOURROUBEY Bachir
Le Dimanche 03 mars 2024 à 12H00

Devant le jury :

Président	MEDDAH Boumediene	Pr	Université de Mascara
Examinatrice	SID LARBI Khadîdja	MCA	Université de Mascara
Examineur	HAMADOUCHE Mohamed	Pr	Université Oran1
Examinatrice	BENMECHERNENE ZINEB	Pr	Université Oran1
Directrice de thèse	TIR TOUIL Aicha	Pr	Université de Mascara
Co-directrice de thèse	CHELLI Nadia	MCA	Université de Mascara

Année Universitaire : 2023-2024

Remerciements

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.

Je tiens à rendre hommage à ma famille pour leurs soutiens qu'ils m'ont apportés durant la période de réalisation de ce travail.

*Ainsi, je tiens aussi à remercier mes promotrices, **Mme. TIR TOUIL A. et Mme. CHELLI N.** de m'avoir dirigé tout au long de la réalisation de ce travail.*

Un grand merci aux membres de Laboratoire de Bioconversion, Génie Microbiologique et Sécurité Sanitaire ; de l'Hôpital d'Ain Tadles à Mostaganem ; de Laboratoire de Biochimie Microbienne à Université de Mostaganem ; ainsi que tous mes amis et mes collègues, pour leur aide, leur amitié, leur gentillesse et leur soutien moral.

Je remercie également toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Mes remerciements s'adressent également aux :

Les membres de jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Bachir





DEDICACES

Je dédie le fruit de ce travail et de cet effort,

À tous les membres de ma famille, chacun en son nom et en sa personne.

À tous ceux qui sont restés éveillés et ont travaillé dur pour terminer ce travail.

À tous ceux qui lisent, discutent ou citent ce travail.

A tous ceux qui me connaissent.

Bachir BOURROUBEY



Résumé

Avec le développement de la recherche, le microbiote intestinal est devenu le « second cerveau », de la plupart des réactions métaboliques et défensives. Cette étude vise à étudier le potentiel de l'extrait méthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus L.*, plante médicinale récoltée dans la région ouest algérienne pour moduler la flore dominante chez les patients diabétiques de type 2 (par rapport aux sujets sains). L'étude ethnobotanique a été entreprise dans la région d'étude, suivie d'une étude chimique de l'extrait méthanolique de deux écotypes récoltés (Mohammadia, wilaya de mascara et Mesra, wilaya de Mostaganem) suivie de l'étude de la toxicité de l'extrait sélectionné *in vitro* et *in vivo*. La seconde partie s'intéresse à une évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait de *Pistacia lentiscus*, et de la toxicité et de l'effet anti-inflammatoire *in vitro* et *in vivo*. Une troisième et dernière partie vise à l'étude antimicrobienne et antibiofilm de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* sur des germes isolés et identifiés du microbiote intestinal de sujets diabétiques (DT2) comparativement à ceux de sujets normaux (TS), en contrôlant l'action biologique de l'extrait sur les variations de production de EPS. Les premiers résultats indiquent que la plante est largement utilisée par toutes les catégories de thérapeutes en médecine alternative, où sa partie aérienne est particulièrement plus utilisée. 7 % des thérapeutes l'utilisent pour traiter les symptômes du diabète de type 2. Le screening phytochimique de l'extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus* a confirmé la présence de concentrations élevées de métabolites secondaires dans les feuilles de *P. lentiscus* récoltées à Mesra (Mostaganem) par rapport à Mohammedia (Mascara). Cet extrait était un puissant antioxydant avec une IC_{50} intéressante pour Mesra et Mohammadia, successivement. D'autre part, les activités hémolytiques et anti-inflammatoires sont doses dépendantes. Microbiologiquement, l'étude a trouvé une diminution de la quantité de lactobacilles et de streptocoques dans DT2, et une relation inverse entre entérobactéries et streptocoques dans tous les microbiotes. Sur le plan moléculaire, la production d'exopolysaccharides (EPS) a augmenté chez les bactéries à Gram-positives bénéfiques et chez les TS par rapport à DT2. Une augmentation significative de l'hydrophobicité a été enregistrée chez *Escherichia coli* pour DT2 et *Clostridium* pour TS. L'extrait de la plante contrôle la production des EPS et l'hydrophobicité sur *Escherichia coli* et *Clostridium* à une CMI de 2mg/mL. L'extrait stimule la croissance de *Streptococcus* et *Lactobacillus* avec des taux des EPS significatifs. L'extrait s'est également avéré être un puissant inhibiteur de l'activité moléculaire de la surface externe des micro-organismes isolés. Chez les DT2, l'extrait méthanolique a montré un effet anti-adhésion et antibiofilm significatif pour *Escherichia coli* ($83 \% \pm 0,54$ et $80,58 \% \pm 0,83$ respectivement), alors qu'un niveau inférieur a été enregistré chez *Streptococcus alactolyticus* ($68,94 \% \pm 0,56$ et $62,67 \% \pm 1,21$ respectivement) et *Lactobacillus brevis* ($68,97 \% \pm 0,69$ et $69,49 \% \pm 0,52$ respectivement) à 2 mg/mL pour TS. Globalement, l'étude suggère que *Pistacia lentiscus L.* a le potentiel de moduler la flore dominante chez les patients diabétiques de type 2 et les sujets sains, avec un effet anti-adhésion et antibiofilm significatif chez *Escherichia coli* pour DT2 et un niveau plus faible chez *Streptococcus alactolyticus* et *Lactobacillus brevis* pour TS.

Mots clés : anti-adhésion, antibiofilm, anti-inflammatoire, antioxydant, diabète type 2, Exopolysaccharides, microbiote intestinal, *Pistacia lentiscus L.*, toxicité.

ABSTRACT

With the development of research, the intestinal microbiota has become known as the "second brain," a complementary organ for most metabolic and defensive reactions. The study aims to investigate the potential of the methanolic extract of *Pistacia lentiscus L.* leaves to modulate the dominant flora in type 2 diabetic patients compared to healthy subjects. The study ensured the positive efficacy of the plant in all its biological dimensions (ethnobotany, phytochemical yield, toxicity, anti-inflammatory, hemolytic and antioxidant) before addressing its adaptation to the intestinal microbiota. The researchers conducted a comparative study between the dominant flora of stools of DT2 and HS, analyzing the microbiological, molecular, and biological activity of the extract. From the ethnobotanical side, the plant is widely used by all categories of therapists in alternative medicine, where its aerial part is particularly more used. 7% of therapists use it to treat the symptoms of type 2 diabetes. Phytochemical screening of the methanolic extract of *P. lentiscus* leaves confirmed the presence of high concentrations of secondary metabolites in *P. lentiscus* leaves harvested at Mesra (Mostaganem) compared to Mohammedia (Mascara), polyphenols, flavonoids and tannins. This extract was a powerful antioxidant with an interesting IC₅₀ (for Mesra and Mohammedia, successively). On the other hand, this indicates that the higher the dose of the methanolic extract of the leaves of *P. lentiscus*, the greater the hemolytic activity. The *in vitro* evaluation of the anti-inflammatory activity also showed an activity dose-dependent. The results of its two activities are confirmed *in vivo*. The results obtained demonstrated significant anti-inflammatory activity, as well as an absence of toxicity at the doses administered to rats. Microbiologically, the study found a decrease in the quantity of lactobacilli and streptococci in DT2, and an inverse relationship between enterobacteria and streptococci in all microbiota. On the molecular side, the production of exopolysaccharides (EPS) increased in beneficial Gram-positive bacteria and in HS compared to DT2, but not in Gram-negative bacteria. A significant increase in hydrophobicity was recorded in *Escherichia coli* for DT2 and *Clostridium sp.* for HS. The study also found that the methanolic extract of *Pistacia lentiscus L.* controls the production of EPS and hydrophobicity, with a minimum inhibitory concentration (MIC) on *Escherichia coli* and *Clostridium* of 2mg/mL. The extract allowed the growth of beneficial bacteria such as *Streptococcus* and *Lactobacillus*, which continued to produce EPS with variable and significant rates that helped them fix and establish a biofilm. The extract was also found to be a powerful inhibitor of the molecular activity of the outer surface of isolated microorganisms. For DT2, the methanolic extract showed a significant anti-adhesion and antibiofilm effect for *Escherichia coli* (83% ± 0.54 and 80.58% ± 0.83 respectively), while a lower level was recorded in *Streptococcus alactolyticus* (68.94% ± 0.56 and 62.67% ± 1.21 respectively) and *Lactobacillus brevis* (68.97% ± 0.69 and 69.49% ± 0.52 respectively) at 2 mg/mL for HS. Overall, the study suggests that *Pistacia lentiscus L.* has the potential to modulate the dominant flora in type 2 diabetic patients and healthy subjects, with a significant anti-adhesion and antibiofilm effect in *Escherichia coli* for DT2 and a lower level in *Streptococcus alactolyticus* and *Lactobacillus brevis* for HS.

Keywords : anti-adhesion, anti-biofilm, anti-inflammatory, antioxidant, Exopolysaccharides, hydrophobicity, intestinal microbiota, *Pistacia lentiscus L.*, toxicity, type 2 diabetes.

الملخص

مع تطور البحث، أصبحت الجراثيم المعوية تُعرف باسم "الدماغ الثاني"، وهو عضو مكمل لمعظم التفاعلات لأىضية والدفاعية. تهدف الدراسة إلى التحقق من قدرة المستخلص الميثانولي لأوراق البيستاشيا لونتيسكيس على تعديل الفلورا السائدة عند مرضى السكري من النوع 2 مقارنة بالأشخاص الأصحاء. ضمنت الدراسة الفعالية الإيجابية للنبته المدروسة بجميع أبعادها البيولوجية (علم النبات العرقي، المردود الكيميائي النباتي، السمية، مضادات الالتهاب، الانحلال الدموي ومضادات الأكسدة) قبل التطرق إلى تكيفه مع الجراثيم المعوية. أجرى البحث دراسة مقارنة بين الفلورا السائدة في براز مرضى السكري من النوع 2 والمتطوعين الأصحاء وتحليل النشاط الميكروبي والجزئي والبيولوجي للمستخلص الميثانولي لأوراق النبتة. من الجانب العرقي النباتي، يتم استخدام النبات على نطاق واسع من قبل جميع فئات المعالجين في الطب البديل، حيث يتم استخدام الجزء الهوائي منها بشكل خاص. يستخدمه 7% من المعالجين لعلاج أعراض مرض السكري من النوع 2. أكد الفحص الكيميائي النباتي للمستخلص الميثانولي لأوراق *P. lentiscus* وجود تراكيز عالية من المستقبلات الثانوية في أوراق *P. lentiscus* المحصودة من ماسرى (مستغافم) مقارنة بالمحمدية (معسكر)، والبوليفينول (2.74 ± 90.12 ملغ المكافى لغرام من حمض الغاليك و 80.31 ± 1.42 ملغ المكافى لغرام من حمض الغاليك) والفلافونويدات (1.52 ± 41.86 ملغ المكافى لغرام من الكرتسين و 33.92 ± 1.71 ملغ المكافى لغرام من الكرتسين) والتانينات (0.56 ± 27.45 ملغ المكافى لغرام من الكاتيشين و 27.61 ± 1.53 ملغ المكافى لغرام من الكاتيشين). كان هذا المستخلص أحد مضادات الأكسدة القوية مع IC_{50} المثير للاهتمام (0.06 ملغ / مل و 0.1 ملغ / مل ماسرى والمحمدية على التوالي). من ناحية أخرى، يشير هذا إلى أنه كلما زادت جرعة المستخلص الميثانولي لأوراق *P. lentiscus*، زاد النشاط الانحلالي، كما أظهر التقييم المختبري للنشاط المضاد للالتهابات اعتماداً على جرعة النشاط. تم تأكيد نتائج نشاطها في الجسم الحي. وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها نشاطاً كبيراً مضاداً للالتهابات، فضلاً عن عدم وجود سمية عند الجرعات المعطاة للفئران (200 ، 500 و 800 ملغ / كغ). من الناحية الميكروبيولوجية، سجلت الدراسة انخفاضاً في كمية العصيات البنية والمكورات العقدية عند مرضى السكري، وعلاقة عكسية بين البكتيريا المعوية والمكورات العقدية في جميع الكائنات الحية الدقيقة. على الجانب الجزئي، زاد إنتاج عديدات السكر الخارجية (EPS) في البكتيريا المفيدة إيجابية الجرام وفي الأصحاء مقارنة بمرضى السكري، لكن هذا لم يسجل عند البكتيريا سالبة الجرام. تم تسجيل زيادة معنوية في كره الماء عند الإشريشيا القولونية لمرضى السكري من النوع الثاني والكلوستريديا للأشخاص الأصحاء. ووجدت الدراسة أيضاً أن المستخلص الميثانولي لأوراق البيستاشيا لونتيسكيس يتحكم في إنتاج متعددات السكر الخارجي والكره للماء، مع تركيز مثبت أدنى (IMC) على الإشريشي القولونية والكلوستريديا بمقدار 2 ملغ / مل. سمح المستخلص بنمو البكتيريا المفيدة مثل الستراتوتوكوك واللاكتوباسيليس، والتي استمرت في إنتاج EPS بمعدلات متغيرة ومعنوية ساعدتها على تثبيت وتكوين غشاء حيوي. كما وجد أن المستخلص مثبت قوي للنشاط الجزئي للسطح الخارجي للكائنات الدقيقة المعزولة. بالنسبة لمرضى السكري من النوع الثاني، أظهر المستخلص الميثانولي تأثيراً معنوياً مضاداً للالتصاق ومضاد حيوي للغشاء عند الإشريشيا القولونية ($83\% \pm 0.54$ و $80.58\% \pm 0.83$ على التوالي)، بينما سجل مستوى أقل في ستراتوتوكوكيس الأكتوليتيكيس ($68.94\% \pm 0.56$ و $62.67\% \pm 1.21$ على التوالي) واللاكتوباسيليس بوفيس ($68.97\% \pm 0.69$ و $69.49\% \pm 0.52$ على التوالي) عند 2 ملغ / مل للأصحاء. بشكل عام، تشير الدراسة إلى أن البيستاشيا لونتيسكيس لديها القدرة على تعديل الفلورا السائدة عند مرضى السكري من النوع 2 والأشخاص

الأصحاء، مع تأثير مضاد للالتصاق ومضاد حيوي في الإشريشيا القولونية لمرضى السكري ومستوى أقل في ستراتوكوكيس الأكتوليتيكيس ولاكتوباسيليس بروفيس للأصحاء.

الكلمات المفتاحية: مضاد للالتصاق، مضاد للأغشية الحيوية، مضاد للالتهابات، مضاد للأكسدة، عديدات السكريات الخارجية، مضاد للماء، الميكروبيوت المعوي، بيستاشيا لوتتيسكيس، السكري من النوع 2، درجة السمية.

Liste des abréviations

% : pourcentage.

%Bio-f : Taux de production de biofilm.

%H : Taux d'hydrophobicité.

A : Absorbance.

ALM : Acide lentisque (Composé actif présent dans le mastic).

Anti-Ad : Anti-adherence.

Anti-bf : Anti-biofilm.

API : Pistachier (nom commun du lentisque).

COX : Cyclooxygénase.

COX-2 : Cyclooxygenase-2.

DAMPs : Damage-associated Molecular Patterns (Motifs moléculaires associés aux dommages).

DO : Densité optique.

DT2 : Diabète de type 2 ou Diabétique de type 2.

EPS : Exopolysaccharides.

ETM : Extrait total de mastic (Extrait contenant les composés actifs du lentisque).

ICAM-1 : Intercellulaire Adhésion Molecule-1 (Molécule d'adhésion intercellulaire-1).

IFN- : Interféron-gamma.

IL : Interleukine.

IL-10 : Interleukin-10.

IL-1 β : Interleukin-1 beta.

IL-6 : Interleukin-6.

iNOS : Inducible Nitric Oxide Synthase (Synthase d'oxyde nitrique inductible).

MCP-1 : Monocyte Chemoattractant Protein-1 (Protéine chimiokine monocyttaire-1).

min : minute.

NF-kB : Nuclear Factor kappa B.

nm : manomètre.

NO : Nitric Oxide (Monoxyde d'azote).

OLE : Oleuropéine (Composé phénolique présent dans le lentisque).

P. : *Pistacia* (nom scientifique du genre de lentisque).

P.1 : *Pistacia lentiscus*.

PAMPs : Pathogen-associated Molecular Patterns (Motifs moléculaires associés aux pathogènes).

PGE2 : Prostaglandin E2.

ROS : Reactive Oxygen Species (Espèces réactives de l'oxygène).

ST : Sujet sain témoin.

TGF-beta : Transforming Growth Factor-beta (Facteur de croissance transformant beta).

TLR : Toll-like receptor (Récepteur de type Toll).

TNF-alpha : Tumor Necrosis Factor-alpha (Facteur de nécrose tumorale alpha).

VCAM-1 : Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (Molécule d'adhésion cellulaire vasculaire-1).

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 01	Epithélium intestinal (Abreu, 2010)	12
Figure 02	Répartition de la quantité des bactéries le long du tractus digestif (Barbut et Joly., 2010)	13
Figure 03	Schéma illustrant la répartition topographique du microbiote intestinal (Le Lay, 2015)	15
Figure 04	Principales étapes de la réaction inflammatoire (Gaubert, 2018)	28
Figure 05	Mécanisme d'action des AINS (Nicolas, 2001)	39
Figure 06	Structure chimique du diclofénac sodium (Arumugam et al., 2013).....	40
Figure 07	Mécanisme d'action des glucocorticoïdes (Barnes, 1998)	42
Figure 08	Fruits et résine de <i>Pistacia lentiscus L.</i> (Ben Douissa, 2004)	54
Figure 09	Feuilles de <i>Pistacia lentiscus L.</i> (Ben Douissa, 2004)	55
Figure 10	<i>Pistacia lentiscus L.</i> (Darw) collected in Mesra. Mostaganem (Algeria)	65
Figure 11	Localisation géographique de <i>Pistacia lentiscus L.</i> (d-maps.com, 2022)	66
Figure 12	Courbe d'étalonnage d'absorbance déterminant la dose équivalente des polyphénols par acide gallique	71
Figure 13	Courbe d'étalonnage d'absorbance déterminant la dose équivalente des flavonoïdes par quercétine	72
Figure 14	Courbe d'étalonnage d'absorbance déterminant la dose équivalente des tanins condensés par catéchine	73
Figure 15	Activité antioxydante d'acide ascorbique (Vit C)	75
Figure 16	Préparation de la suspension érythrocytaire (Guo-Xiang Li et Zai-Qun lui, 2007)	76
Figure 17	Protocole récapitulatif du test hémolytique (James et alewo, 2014)	77
Figure 18	Gavages de rats	79
Figure 19	Conservations des organes pour l'examen histopathologique	81
Figure 20	Protocole d'induction et inhibition de l'œdème inflammatoire aigu de la patte de rat Wistar (induction au Formol)	83
Figure 21	Courbe d'étalonnage de glucose à DO de 490nm	88
Figure 22	Utilisation populaire de <i>Pistacia lentiscus</i> selon les variétés thérapeutiques	93
Figure 23	Collecte d'informations selon le questionnaire établi et la wilaya ...	94

Figure 24	Sexe et âge des thérapeutes enquêtés	94
Figure 25	Pharmacopée traditionnelle de <i>Pistacia lentiscus</i>	95
Figure 26	Saisons de récolte et état utilisable de <i>P. lentiscus</i> selon les thérapeutes enquêtés	96
Figure 27	Modes d'emploi et d'administration et habitudes d'application de <i>P. lentiscus</i> chez les thérapeutes enquêtés	97
Figure 28	Maladies traitées après différentes administrations de <i>Pistacia lentiscus</i>	99
Figure 29	Utilisations cosmétiques de <i>Pistacia lentiscus L</i>	100
Figure 30	Comparaison de la teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins (<i>Pistacia lentiscus L. Mesra</i> vs <i>Mohammedia</i>)	103
Figure 31	Pourcentage d'inhibition des radicaux libres DPPH de l'extrait méthanolique des deux extraits de <i>Pistacia lentiscus L. (Mesra</i> vs <i>Mohammedia)</i>	104
Figure 32	Activité antioxydante de l'extrait méthanolique de <i>P. lentiscus L.</i> des deux régions comparativement à celle de l'acide ascorbique ...	105
Figure 33	Evolution de taux d'hémolyse (par absorbance) dans les tubes contenant une suspension érythrocytaire en présence des différentes concentrations d'extrait méthanolique des feuilles de <i>Pistacia lentiscus L</i>	107
Figure 34	Taux d'hémolyse (%) des différentes concentrations de l'extrait ..	107
Figure 35	Evolution de pourcentage d'inhibition d'hémolyse (%) des différentes concentrations d'extrait méthanolique	108
Figure 36	Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine par différentes concentrations d'extrait méthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i>	110
Figure 37	Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine par l'aspirine	110
Figure 38	Histologie des organes des rats traités par l'EMeOH de <i>Pistacia lentiscus L.</i> à la dose 200 mg/kg (GX40 ; GX100)	117
Figure 39	Histologie des organes des rats traités par l'EMeOH de <i>Pistacia lentiscus L.</i> à la dose 500 mg/Kg (GX40 ; GX100)	118
Figure 40	Histologie des organes des rats traités par l'EMeOH <i>Pistacia lentiscus L.</i> à la dose 800 mg/Kg (GX40 ; GX100)	118
Figure 41	Pourcentage d'augmentation (AUG%) du volume de la patte des rats	120
Figure 42	Pourcentage d'inhibition (INH%) du volume de la patte des rats ..	121
Figure 43	Nombre moyen d'isolats divers pour chaque flore fécale	123
Figure 44	Diversité qualitative moyenne des familles microbiennes isolées du microbiote fécal chez les deux groupes étudiés (DT2 vs ST)	124
Figure 45	Évaluation quantitative microbienne des familles microbiennes (exprimé en Log UFC/g) chez les groupes étudiés (DT2 vs ST)	126
Figure 46	Différentes graduations de production des EPS et de biofilm chez les souches	129

Figure 47	Capacités de production de biofilm chez les espèces microbiennes isolées et identifiées du microbiote fécal d'individus diabétiques et sains (par la méthode de Stepanovic)	131
Figure 48	Sélection des souches hyperproductrices de biofilm pour chaque espèce isolée chez les diabétiques (DT2) et les individus sains (ST).	133
Figure 49	Quantification des exopolysaccharides (mg/mL) dans les souches hyperproducteurs de biofilm (diabétiques de type 2 vs individus sains)	135
Figure 50	Hydrophobicité membranaire des isolats les plus producteurs de biofilm (DT2 vs ST)	137
Figure 51	La supériorité en production des EPS et en Hydrophobicité des souches (DT2 vs ST)	138
Figure 52	Evolution de la croissance de souches sélectionnées du microbiote fécal des sujets (DT2 vs ST) en fonction du temps d'incubation après traitement par l'extrait méthanolique de <i>Pistacia lentiscus L</i>	140
Figure 53	Production d'EPS par les souches sélectionnées du microbiote fécal des deux groupes étudiés (DT2 vs ST) sans et avec traitement par l'extrait méthanolique de <i>Pistacia lentiscus L</i>	143
Figure 54	Activité anti-adhésion de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Pistacia lentiscus L</i> sur les souches les plus productrices de biofilm isolées et sélectionnées du microbiote fécal étudié chez les deux groupes (DT2 vs ST)	147
Figure 55	Activité antibiofilm de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Pistacia lentiscus L</i> sur les souches les plus productrices de biofilm isolées et sélectionnées du microbiote fécal étudié chez les deux groupes (DT2 vs ST)	150

..

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 01	Composition des exopolysaccharides (Flemming et Wingender, 2010)	22
Tableau 02	Méthodes d'extraction des EPS (Sheng <i>et al.</i> , 2010 ; Lembre <i>et al.</i> , 2012)	23
Tableau 03	Classification de <i>Pistacia lentiscus L.</i> (Kermezli <i>et al.</i> , 2020) ...	56
Tableau 04	Noms nationaux de <i>P. lentiscus</i> (Fernandes <i>et al.</i> , 2020 ; Li <i>et al.</i> , 2021)	57
Tableau 05	Paramètres hématologiques et biochimiques étudiés	79
Tableau 06	Caractéristiques physiques de l'extrait méthanolique de <i>Pistacia lentiscus L.</i> récolté dans deux régions du Nord-Ouest algérien	101
Tableau 07	Composition chimique de l'extrait méthanolique de feuilles de <i>Pistacia lentiscus L.</i> récoltées dans deux régions du Nord-Ouest de l'Algérie	102
Tableau 08	Résultats de la toxicité aiguë de l'extrait méthanolique de <i>P. lentiscus L.</i>	112
Tableau 09	Le poids des différents organes des rats traités par l'extrait méthanolique de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	112
Tableau 10	Paramètres biochimiques des rats traités et non traités par l'extrait méthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i>	113
Tableau 11	Paramètres hématologiques des rats traités et non traités par l'extrait méthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i>	114
Tableau 12	Nombre de répétition de chaque espèce en fonction de nombre total des patients (n = 10)	127
Tableau 13	Comparaison des isolats producteurs de biofilm parmi le microbiote fécal de sujets diabétiques et sains	130
Tableau 14	Souches identifiées ayant démontré une supériorité significative en termes d'hydrophobicité et de productivité des exopolysaccharides (EPS) entre les deux types de microbiote (DT2 et HS)	139
Tableau 15	Valeurs CMI et CMB de l'extrait méthanolique de feuilles de <i>Pistacia lentiscus L.</i> des bactéries sélectionnées	141

Table de matières

Titre	Page
Liste des abréviations	
Tableau des figures	
Liste des tableaux	
Table de matières	
Introduction générale	02
<i>Première partie : Recherche bibliographique</i>	
Chapitre I : Diabète et microbiote intestinal	
I.1. Généralités	07
I.2. Diabète de type 2	07
I.2.1. Définition	07
I.2.2. Epidémiologie	08
I.2.3. Causes principales de diabète de type 2	08
I.2.4. Critères diagnostiques	09
I.2.5. Evolution de la pathologie	10
I.3. Microbiote	10
I.3.1. Définition	10
I.3.2. Types de microbiote	10
I.3.2.1. Microbiote autochtone	11
I.4. Microbiote intestinal	11
I.4.1. Définition du microbiote intestinal	11
I.4.2. L'épithélium intestinal	11
I.4.3. Analyse du microbiote intestinal	12
I.4.4. Composition du microbiote intestinal	13
I.4.5. Différents micro-organismes	13
I.4.5.1. Composante bactérienne	14
I.4.5.2. Composante fongique	14
I.4.5.3. Composante virale	14
I.4.5.4. Archées	14
I.5. Répartition des micro-organismes.	15
I.6. Facteurs majeurs influençant le microbiote intestinal	16
I.6.1. Facteurs internes	16
I.6.1.1. Exposition prénatale	16
I.6.2. Facteurs externes	16
I.6.2.1. Influence du mode d'accouchement	16
I.6.2.2. Influence du terme de naissance	17
I.6.2.3. Influence de l'alimentation	17
I.6.2.4. Influence de l'antibiothérapie	17
I.6.2.5. Influence de l'environnement et des conditions d'hygiène	18
I.7. Fonctions du microbiote intestinal.	18
I.7.1. Rôle de barrière	18
I.7.2. Biotransformation	19
I.7.2.1. Métabolisme des glucides	19

I.7.2.2. Métabolisme des protéines	19
I.7.2.3. Métabolisme des lipides	19
I.7.2.4. Métabolisme des gaz	20
I.7.2.4. Synthèse des vitamines	20
I.7.3. Développement anatomique	20
I.7.4. Fonction de structuration et de développement immunitaire	20
I.8. Exopolysaccharides (EPS)	21
I.8.1. Production des exopolysaccharides (EPS)	21
I.8.2. Nature des exopolysaccharides	22
I.8.3. Rôles des Exopolysaccharides	22
I.8.4. Méthodes d'extraction des exopolysaccharides	23
I.8.5. Facteurs influençant la production des EPS	24
I.9. Antibiorésistance du microbiote intestinal chez les DT2	24

Chapitre II : Inflammation et Diabète de type 2

II.1. Physiologie de l'inflammation	27
II.2. Cellules responsables de l'inflammation	27
II.2.1. Polynucléaires neutrophiles (PNN)	28
II.2.2. Monocytes et macrophages	28
II.2.3. Cellules endothéliales	28
II.2.4. Plaquettes	28
II.2.5. Fibroblastes	29
II.2.6. Polynucléaires éosinophiles	29
II.2.7. Basophiles et les mastocytes	29
II.2.8. Lymphocytes	30
II.2.8.1. Lymphocytes T auxiliaires T-helper 1 et T-helper 2	30
II.2.8.2. Lymphocytes T auxiliaires T-helper 17	31
II.2.8.3. T-helper 17 dans le diabète de type 2	31
II.2.8.4. Lymphocytes T régulateurs	31
II.2.8.5. T régulateur dans le diabète de type 2	31
II.3. Médiateurs de la réaction inflammatoire	31
II.3.1. Médiateurs solubles de l'inflammation	32
II.3.2. Médiateurs cellulaires de l'inflammation	32
II.4. Types d'inflammation	33
II.4.1. Inflammation aiguë	33
II.4.2. Inflammation chronique	33
II.4.3. Inflammation systémique	33
II.4.4. Inflammation auto-immune	33
II.4.5. Inflammation de la réponse immunitaire adaptative	33
II.5. Inflammation en cas de diabète	34
II.5.1. Voies intracellulaires de l'inflammation impliquées dans l'insulinorésistance du diabète de type 2	34
II.5.2. Implication des cytokines pro inflammatoires dans l'insulinorésistance du diabète de type 2	34
II.5.2.1. TNF- α	35
II.5.2.2. Interleukine-6	35
II.5.2.3. Interleukine-1 β	36
II.5.3. Inflammation des îlots de Langerhans dans le diabète de type 2	36
II.5.4. Implication des cytokines pro inflammatoires dans l'altération de l'insulinosécrétion	36

II.6. Méthodes d'évaluation des agents anti-inflammatoires	37
II.7. Anti-inflammatoires	37
II.7.1. Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens (AINS)	38
II.7.1.1. Identification pharmacologique	38
II.7.1.2. Diclofénac	39
II.7.1.2.1. Utilisation et mécanisme d'action	39
II.7.1.2.2. Effets secondaires du diclofénac	39
II.7.1.2.3. Précautions à prendre lors de l'utilisation du diclofénac	39
II.7.1.2.1. Interactions médicamenteuses du diclofénac	40
II.7.2. Anti-Inflammatoires Stéroïdiens (AIS) ou glucocorticoïdes	40
II.7.3. Effets indésirables communs des anti-inflammatoires	41
II.7.4. Anti-inflammatoires d'origine végétale	41

Chapitre III : Alternative par traitement phytothérapique

III.1. Phytothérapie	44
III.1.1. Définition	44
III.1.2. Différents types de la Phytothérapie.	44
III.1.2.1. Phytothérapie traditionnelle	44
III.1.2.2. Phytothérapie occidentale	44
III.1.2.3. Phytothérapie chinoise.	44
III.1.2.4. Aromathérapie	44
III.1.2.5. Gemmothérapie	45
III.1.3. Phytothérapie des plantes médicinales.	45
III.1.3.1. Antiquité	45
III.1.3.2. Moyen Âge	45
III.1.3.3. Renaissance	45
III.1.3.4. 19e et 20e siècles	45
III.1.4. Phytothérapie en Algérie	45
III.1.5. Avantages de la phytothérapie	46
III.1.5.1. Efficacité	46
III.1.5.2. Effets secondaires	47
III.1.5.3. Accessibilité	47
III.1.5.4. Polyvalence	47
III.1.5.5. Approche holistique	47
III.1.5.1. Autres avantages	47
III.1.6. Inconvénients de la phytothérapie	48
III.1.6.1. Hépatotoxicité	48
III.1.6.2. Interaction avec d'autres médicaments	48
III.1.6.3. Contamination et adultération	48
III.1.6.4. Effets secondaires	48
III.1.6.5. Risques pour la santé	49
III.2. Plantes médicinales	49
III.2.1. Définition	49
III.2.2. Principes actifs des plantes médicinales	49
III.2.2.1. Alcaloïdes	49
III.2.2.2. Flavonoïdes	49
III.2.2.3. Terpènes	49
III.2.2.4. Stéroïdes	50
III.2.3. Activités biologiques des plantes médicinales	50
III.2.3.1. Activité antimicrobienne et antifongique	50

III.2.3.2. Activité antioxydante	51
III.2.3.3. Activité anti-inflammatoire	51
III.2.3.4. Activité antiulcéreuse	51
III.2.3.5. Activité cytoprotective	51
III.2.3.6. Activité anticancéreuse	51
III.2.3.7. Activité hypocholestérolémiante	51
III.2.3.8. Activité antidiabétique	52
III.2.4. Toxicité des plantes médicinales	52
III.3. Présentation de <i>Pistacia lentiscus L.</i> étudiée	53
III.3.1. <i>Pistacia lentiscus L.</i>	53
III.3.2. Etude botanique	54
III.3.2.1. Description botanique	54
III.3.2.2. Taxonomie	55
III.3.2.3. Noms vernaculaires et systématique de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	55
III.3.2.4. Composition chimique de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	56
III.3.4. Activités biologiques de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	57

Deuxième partie : Recherche expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Lieu et objectifs de l'étude	62
I.1.1. Lieu de l'étude	62
I.1.2. Objectifs de l'étude	62
I. 2. Matériel	63
I.2.1. Patients	63
I.2.2. Matériel animal	64
I.2.2.1. Élevage des rats	64
I.2.3. Matériel végétal	64
I.2.2.1. Récolte de la plante	65
I.2.3. Matière fécale	66
I.3. Méthodes d'étude expérimentale	66
I.3.1. Etude ethnobotanique de <i>P lentiscus L.</i>	66
I.3.2. Etude phytochimique de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	67
I.3.2.1. Préparation de l'extrait méthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i>	67
I.3.2.1.1. Détermination du rendement.	67
I.3.2.2. Analyse phytochimique qualitative (Screening phytochimique)	68
I.3.2.2.1. Révélation des tanins	68
I.3.2.2.2. Révélation des flavonoïdes	68
I.3.2.2.3. Révélation des anthraquinones libres.	68
I.3.2.2.4. Révélation des anthocyanes	69
I.3.2.2.5. Révélation des saponines	69
I.3.2.2.6. Révélation des stérols et triterpènes	69
I.3.2.2.7. Révélation de terpénoïdes	69
I.3.2.2.8. Révélation des stéroïdes	69
I.3.2.2.9. Révélation des composés réducteurs	69
I.3.2.2.10. Révélation des alcaloïdes	70
I.3.2.3. Analyses phytochimiques quantitatives	70
I.3.2.3.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux	70
I.3.2.3.2. Détermination des flavonoïdes totaux	71
I.3.2.3.3. Dosage des tanins condensés	72
I.3.3. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de	

<i>Pistacia lentiscus L.</i>	73
I.3.3.1. Test de réduction du DPPH	74
I.3.3.2. Détermination de la concentration inhibitrice à 50% des radicaux (IC50).....	74
I.3.4. Etude de la toxicité et l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de <i>P. lentiscus</i>	76
I.3.4.1. Toxicité de l'extrait méthanolique de <i>Pistacia lentiscus L. in vitro</i>	76
I.3.4.2. Effet Hémolitique de l'extrait méthanolique de <i>P. lentiscus</i>	76
I.3.4.2.1. Préparation de la suspension érythrocytaire	76
I.3.4.2.2. Préparation des concentrations de l'extrait	77
I.3.4.2.3. Test d'hémolyse	77
I.3.4.3. Evaluation <i>in vivo</i> de la toxicité aiguë de l'extrait étudié	78
I.3.4.3.1. Pré-administration	78
I.3.4.3.2. Administration	78
I.3.4.3.3. Sacrifice des rats.	79
I.3.4.3.4. Mesure des paramètres hématologiques et biochimiques	79
I.3.4.3.5. Examen histopathologique des organes	80
I.3.4.4. Etude de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	81
I.3.4.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> de l'extrait méthanolique de <i>P. lentiscus</i>	82
I.3.5. Caractérisation du microbiote intestinal chez des sujets diabétiques diabétiques de type 2.....	84
I.3.5.1. Objectif partiel	84
I.3.5.2. Répartition des groupes.....	84
I.3.5.2.1. Groupes des patients	84
I.3.5.2.2. Prélèvement de matière fécale	84
I.3.5.3. Analyses microbiologiques	85
I.3.5.3.1. Isolement	85
I.3.5.3.2. Identification	85
I.3.5.4. Evaluation microbiologique de la surface membranaire des isolats sélectionnés	85
I.3.5.4.1. Détection du pouvoir de production de biofilm	85
I.3.5.4.2. Quantification de la production de biofilm	86
I.3.5.4.3. Test d'hydrophobicité membranaire	86
I.3.5.5. Quantification des exopolysaccharides (EPS)	87
I.3.5.5.1. Extraction et purification d'EPS	87
I.3.5.5.2. Dosage des exopolysaccharides (EPS)	87
I.3.6. Evaluation de l'activité antimicrobienne <i>in vitro</i> de l'extrait méthanolique de <i>Pistacia lentiscus L.</i> de Mesra	88
I.3.6.1. Etude de la cinétique de croissance microbienne	88
I.3.6.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide (CMI et CMB)	89
I.3.6.3. Quantification des exopolysaccharides (EPS) avant et après traitement avec l'extrait méthanolique étudié	89
I.3.6.4. Activité anti-adhésion de l'extrait méthanolique de <i>P. lentiscus</i> de Mesra (Mostaganem)	90
I.3.6.5. Activité antibiofilm	90
I.3.7. Etude statistique	91

Chapitre II : Résultats et discussions

II. 1. Résultat de l'étude ethnobotanique de <i>P. lentiscus</i> L. étudiée	93
II.1.1. Informations sur la plante étudiée par thérapeutes	93
II.1.2. Régions de collecte des informations concernant la plante étudiée	93
II.1.3. Sexe et âge des thérapeutes enquêtés	94
II.1.4. Pharmacopée traditionnelle de <i>Pistacia lentiscus</i>	95
II.1.5. Saisons de récolte et état utilisable de <i>P. lentiscus</i>	95
II.1.6. Mode d'emploi et mode d'administration de <i>P. lentiscus</i>	96
II.1.7. Maladies traitées après administration de <i>Pistacia lentiscus</i>	98
II.1.8. Utilisations cosmétiques de la plante	99
II.2. Etude phytochimique de <i>P. lentiscus</i> L.	100
II.2.1. Caractérisation de l'extrait méthanolique des feuilles	101
II.2.2. Screening phytochimique qualitatif	101
II.2.3. Etude Phytochimique quantitative	102
II.2.4. Résultats de l'activité antioxydante <i>in vitro</i> , et Détermination de la concentration inhibitrice à 50%(IC50)	103
II.3. Toxicité de l'extrait méthanolique de <i>P. lentiscus</i>	106
II.3.1. Evolution de l'effet hémolytique et antihémolytique <i>in vitro</i> de <i>Pistacia lentiscus</i> L. de la région de Mesra (Mostaganem)	106
II.3.2. Résultats de l'évaluation <i>in vitro</i> , de l'activité anti inflammatoire de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> L. (par Dénaturation de l'ovalbumine)	109
II.3.3. Résultats de l'évaluation <i>in vivo</i> de la toxicité aigüe de l'extrait méthanolique de <i>P. lentiscus</i> choisi (Mesra- Mostaganem)	111
II.3.3.1. Toxicité aigüe	111
II.3.3.2. Poids des organes	112
II.3.3.3. Analyses biochimiques et hématologiques	113
II.3.3.4. Examen histopathologique des organes des rats	116
II.3.4. Résultats de l'évaluation <i>in vivo</i> , de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de <i>P. lentiscus</i>	118
II.4. Résultats de la variation de microbiote intestinal suite au diabète de type deux	122
II.4.1. Etude microbiologique qualitative et quantitative	122
II.4.1.1. Résultats de l'évaluation microbienne qualitative des groupes microbiens isolés	122
II.4.1.2. Évaluation quantitative	124
II.4.2. Production de biofilm par les espèces identifiées et sélectionnées	127
II.4.2.1. Méthode qualitative	127
II.4.2.2. Méthode quantitative	129
II.4.2.3. Sélection de Souches hyperproductrices de biofilm	131
II.4.3. Quantification des exopolysaccharides (EPS) chez les souches sélectionnées	133
II.4.4. Hydrophobicité membranaire	135
II.5. Résultats de l'activité antimicrobienne et antibiofilm de <i>Pistacia lentiscus</i> L. sur des bactéries sélectionnées	137
II.5.1. Evaluation de la croissance bactérienne des espèces étudiées après traitement par <i>Pistacia lentiscus</i> L.	138
II.5.2. Détermination de la CMI et la CMB	140
II.5.3. Estimation du rendement en exopolysaccharides (EPS) avant et après traitement par l'extrait de <i>P. lentiscus</i>	141

II.5.4. Evaluation de l'activité anti-adhésion de l'extrait de <i>P. lentiscus</i>	145
II.5.5. Evaluation de l'activité antibiofilm de l'extrait étudié	148
Conclusion générale	154
Références bibliographiques.	
Annexes.	

Introduction Générale

Le diabète de type 2 est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie résultant de défauts de sécrétion d'insuline, d'action de l'insuline ou des deux (**Li Q. et al., 2020**). La Fédération Internationale du Diabète estime qu'il y aura 537 millions d'adultes (20-79 ans) atteints de diabète en 2021 (**FID, 2021**), dont plus de 90 % auront un diabète de type 2 (**Xu X.M. et al., 2021**). Selon les projections statistiques, ce nombre passera à 643 millions d'ici 2030 (**IDF, 2021**). La composition du microbiote intestinal est associée à de nombreuses caractéristiques des pathologies digestives, principalement le diabète de type 2 (**Claude Knauf, 2022 ; Judith Aron-Wisnewsky et al., 2022**). Il est de plus en plus évident que le microbiote intestinal contribue à l'inflammation de bas grade qui caractérise ces perturbations métaboliques par le biais de mécanismes associés au dysfonctionnement de la barrière intestinale contrôlant la perméabilité intestinale et l'endotoxine métabolique (**Everard A., Cani P.D., 2013**).

De récentes études approfondies sur la partie inférieure du tube digestif ont mis en évidence l'importance du microbiote intestinal en tant que "deuxième cerveau" du corps humain en raison de ses multiples fonctions et de son contrôle sur la santé globale du corps (**Yatsunenko T. et al., 2012 ; Joël Doré et al., 2017**). La sécurité du microbiote intestinal est vitale pour assurer la sécurité des fonctions vitales de l'organisme, et tout défaut de celui-ci peut avoir des impacts négatifs sur la santé de l'organisme (**Holdeman L.V. et al., 1976 ; Fond G., 2018**).

Le microbiote intestinal composé de micro-organismes (**Savage D.C., 1977**) tels que des bactéries, des champignons microscopiques, des levures, des microalgues et des parasites, qui résident dans le tube digestif en tant qu'organe accessoire des systèmes de l'organisme et sont essentiels à l'interconnexion de nombreuses fonctions vitales. (**Landman C., Quévrain E., 2016**). Avec un poids de plus de 1,5 kg et une diversité microbienne d'environ 10^{14} germes dans plus de 160 espèces, il peut coexister dans des interrelations complexes entre eux, la paroi interne et la lumière du tube digestif pour la continuité de la vie des chaque espèce (**Joël Doré et al., 2017**).

Aussi, l'OMS reconnaît l'inflammation comme une réponse naturelle du corps à une infection, à une blessure ou à une irritation. Cependant, lorsque l'inflammation devient chronique ou excessive, elle peut contribuer au développement de diverses maladies, notamment les maladies cardiovasculaires, les maladies auto-immunes, le cancer ainsi que les maladies métabolites, notamment le diabète de type 2 (**Organisation**

Mondiale de la Santé, 2019). Cette institution consacrée des efforts importants à la recherche et à la compréhension de l'inflammation dans le contexte des maladies non transmissibles.

Pour faire face à l'inefficacité des médicaments chimiques et à leur impact sur la santé humaine, notamment chez les personnes atteintes de maladies chroniques comme le diabète de type deux, les scientifiques se sont concentrés sur l'utilisation des plantes médicinales en se référant aux savoirs ancestraux et à la pharmacopée traditionnelle (**Boudjouref M et Zerroug MM, 2011 ; Alistiqsa F et al., 2017 ; Che CT et al., 2017 ; Ahmad Khan MS, 2019 ; Miranda JJM, 2021**). La plante *Pistacia lentiscus L.*, dit "Darw", (**Rodriguez-Perez C et al., 2013**), est répandu dans le nord de l'Afrique, notamment en Algérie (**Belfadel FZ, 2009 ; Brahmi F et al., 2020**). Cette plante médicinale traditionnelle en particulier ses feuilles sont utilisées pour leurs effet antidiabétique, anti-inflammatoire, antimicrobien, antioxydant, antiulcéreux, anticancéreux et antitoxine (**Kordali S et al., 2003 ; Benhammou N et Atik Bekkara F, 2009 ; Maxia A et al., 2011 ; Ait-Idir N et Bouyoucef H, 2017 ; Charid I et al., 2020 ; Pachi VK et al., 2020**). Cependant, ce n'est pas seulement un remède traditionnel, mais aussi un puissant produit à base de composés diverses propriétés biologiques (**Naouar MS et al., 2016**).

L'objectif principal de ce travail est de trouver une voie naturelle alternative pour la restauration et la modulation du microbiote intestinal chez des sujets atteints de diabète type 2, ainsi que maintenir de celui-ci chez des sujets normaux afin de prévenir les maladies métaboliques.

A cet égard, notre étude s'est articulée autour de plusieurs parties :

Une première partie, consacrée à :

- Étude ethnobotanique de la plante *Pistacia lentiscus L.*
- Etude phytochimique de l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* récoltées dans le Nord-Ouest Algérien (Mascara et Mostaganem).
- Etude de l'activité antioxydante *in vitro* des deux extraits méthanoliques de *P. lentiscus* étudiés

Une deuxième partie portant sur :

- Evaluation de la toxicité *in vitro* (effet hémolytique), et *in vivo* (sur le modèle rat)

- Etude de l'activité anti-inflammatoire l'extrait méthanolique de la plante étudiée *in vitro* (effet antihémolytique et dénaturation de l'ovalbumine) puis *in vivo*.

Une troisième partie : étude microbiologique

- qualitative et quantitative de microbiote fécal isolé chez les deux groupes de personnes (diabétiques de type 2 et Témoins sains).
- Evaluation antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* sélectionné sur la croissance, sur la production des exopolysaccharides et sur l'hydrophobicité des germes isolés chez les deux groupes étudiés.
- Enfin une évaluation de l'effet anti-adhésion et antibiofilm de l'extrait étudié *in vitro*.

Les résultats obtenus sont interprétés et discutés à la lumière de la littérature récente.

Enfin une conclusion cloturera l'ensemble du travail et des perspectives.

Première Partie

Recherche Bibliographique

Chapitre I

Diabète

Et

Microbiote intestinal

I.1. Généralités

On entend souvent dire que l'intestin est notre deuxième cerveau, et la flore intestinale participe fortement à cet effet. Le microbiote intestinal est un environnement assez complexe qui joue un rôle clé dans le bien-être et le maintien de notre organisme. La flore intestinale joue deux rôles principaux dans la digestion des aliments, l'absorption des nutriments et la protection contre les agressions extérieures. Ces missions sont accomplies par la communauté microbienne très développée résidant dans l'intestin ; c'est la flore la plus importante de l'organisme, avec 10^{14} bactéries. Or, un déséquilibre de cet espace pourrait être à l'origine de nombreuses pathologies, qu'elles soient digestives ou extra-digestives (**Abadie, 2015 ; Dolié, 2018**).

L'amélioration de nos connaissances au sujet de notre relation de commensalisme avec le microbiote intestinal a mis l'accent sur sa participation dans la physiopathologie du diabète de type 2. Des chercheurs s'intéressent alors à la modification de la flore intestinale, particulière chez les sujets atteints de diabète non insulino dépendant (DNID) (**Abadie, 2015**).

Des variations quantitatives et qualitatives peuvent affecter le microbiote intestinal, ces variations sont le plus souvent transitoires et ont parfois pour conséquences la survenue d'une pathologie digestive ou extra-digestive. C'est pourquoi agir sur la flore intestinale paraît être une cible privilégiée dans la prévention de l'obésité et du diabète de type 2 (DT2) (**Abadie, 2015**).

I.2. Diabète de type 2

I.2.1. Définition

Le diabète de type 2 (DT2) ou diabète non insulino dépendant (DNID) (aussi appelé diabète insulino-résistant, diabète de l'âge mûr, diabète gras et parfois diabète acquis), est une maladie métabolique touchant la glycorégulation. Il fait partie des maladies associées à la forte augmentation contemporaine de l'obésité, au point qu'on parle aujourd'hui d'épidémie de diabète de type 2 (**Chevalier N. et Fénichel P. 2017**).

Il est principalement lié à l'évolution des modes de vie, et notamment au changement des habitudes alimentaires et la sédentarité, mais il est parfois accentué par

une composante génétique. Il se caractérise par une résistance à l'insuline de l'organisme et par une hyper-insulinémie réactionnelle. Le pancréas fabrique de plus en plus d'insuline jusqu'à l'épuisement. Quand la quantité d'insuline ne suffit plus à contrer les résistances, le taux de glucose augmente anormalement et la personne devient directement diabétique insulino-résistant. Lorsque cette insulino-résistance apparaît, les cellules bêta pancréatiques maintiennent une glycémie normale en augmentant leur sécrétion d'insuline. Cependant, si cela n'est pas rapidement détecté, la glycémie continue d'augmenter et devient alors irréversiblement pathologique (**Chevalier N. et Fénichel P. 2017**).

I.2.2. Epidémiologie

Le diabète de type 2 augmente rapidement dans le monde, y compris chez l'enfant. Dans les pays développés, le diabète est la première cause de cécité chez les 20-65 ans. En 2016, le nombre de malades dépassait largement les premières prédictions de l'OMS faites 15 ans plus tôt, au début des années 2000 (Sa prospective épidémiologique est rendue difficile car il peut évoluer asymptomatiquement durant 9 à 12 ans avant d'être diagnostiqué). En 2022, 965 millions au moins souffre de cette maladie métabolique dans le monde. On qualifie souvent ce diabète de « diabète âgé », mais (exceptionnellement) des enfants en sont atteints. Ce diabète est considéré comme une maladie environnementale et émergente, encore mal comprise au début du XXI^e siècle ; La suralimentation et la sédentarité des modes de vie semblent en cause ; il touche classiquement des plus de 40 ans (55 % des cas sont obèses 85 % des cas au moins, en surcharge pondérale) (**Eberhart M. S et al., 2004 ; OMS, 2022**)

I.2.3. Causes principales de diabète de type 2.

Ce diabète n'est pas un diabète secondaire (comme dans l'hémochromatose), ni induit par la prise de certaines médications (par exemple, l'utilisation prolongée de stéroïdes). Selon l'OMS, les facteurs de risque sont polygéniques et environnementaux et ceux pour lesquels le niveau de preuve est « convaincant » ou « probable » sont : (**Balazs I Bodai et al., 2018 ; Xiao Yang et al., 2022**).

- La majorité des victimes de diabète de type 2 sont des obèses abdominaux. L'obésité chronique induit une résistance accrue à l'insuline pouvant évoluer en diabète. Une perte de poids volontaire réduit en revanche le risque de diabète.

- Sédentarité Le manque d'activité physique augmente le risque, et inversement une activité physique intensive régulière diminue le risque, quel que soit le niveau d'obésité.
- Diabète maternel : Il n'explique qu'une petite partie des cas, mais le diabète maternel est un facteur de risque : un enfant né d'une mère diabétique a trois fois plus de risque de le devenir à son tour que s'il est né avant qu'elle le devienne.
- Mauvaise alimentation : Une alimentation trop riche en viande rouge, viande transformés et en acides gras saturés ; alors que les acides gras insaturés d'origine végétale diminuent le risque ; de plus, un remplacement des acides gras saturés par des acides gras insaturés chez une personne diabétique améliore la tolérance au glucose et augmente la sensibilité à l'insuline si l'apport total en matières grasses n'est pas excessif (maximum 37 % de l'énergie totale).
- Un poids bas à la naissance pourrait favoriser la survenue d'un diabète de type 2.
- La prise de statines peut augmenter la glycémie de patients et favoriser la survenue d'un diabète de type 2
- Microbiote intestinale est une source essentielle pour les régulations intermédiaires entre les causes externes et les récepteurs internes. Il fait un rôle plus avancé dans la préparation des molécules d'action sanitaire directe sur les organes, ainsi que dans l'activité alternative avec le cerveau pour produire les signaux chimiotactisme de régulation hormonale.

I.2.4. Critères diagnostiques

Ils changent régulièrement en fonction des études épidémiologiques les plus significatives. La plupart sont des critères biologiques basés sur le risque de voir apparaître des lésions microangiopathiques (OMS, 2022) :

- glycémie au hasard ≥ 2 g/L accompagnée de symptômes (polyurie, polydipsie, polyphagie...)
- Glycémie à jeun $\geq 1,26$ g/L (si la glycémie est inférieure, on peut proposer de faire un Test de Tolérance Orale au Glucose (TTOG))
- Glycémie ≥ 2 g/L deux heures après surcharge orale de glucose (SOG) produite avec 75 g de sucre.

Il faut obtenir ces résultats à deux reprises avant de pouvoir diagnostiquer un diabète.

- Hémoglobine glyquée supérieure à 7 %.

Il existe une entité dite « hyperglycémie modérée à jeun » (glycémie à jeun comprise entre 1,10 et 1,26 g/L). Elle peut être interprétée comme un état prédiabétique.

I.2.5. Evolution de la pathologie

Au début de la maladie, le pancréas produit normalement l'insuline. La prise de poids stimule les cellules des muscles qui utilisent de préférence les acides gras comme source d'énergie. On dit que les cellules de l'organisme chargées de capter et d'utiliser le glucose deviennent insensibles à l'insuline. Le glucose ne pouvant entrer dans les cellules, les cellules bêta des îlots de Langerhans du pancréas vont produire plus d'insuline pour forcer la prise de glucose par les cellules. Plus la maladie avance, plus les cellules bêta s'épuisent, jusqu'à disparaître. Le taux de glucose sanguin (glycémie) augmentera jusqu'à dépasser 6 g/l (stade de la glucotoxicité ; l'appareil affiche HI). La toxicité du glucose (à cette dose) entraîne une insulino-résistance et une destruction directe des cellules bêta des îlots de Langerhans. Un cercle vicieux se crée où insulino-résistance et diminution de la sécrétion d'insuline aggravent le diabète avec l'élévation de la glycémie (Xiao Yang *et al.*, 2022).

I.3. Microbiote

I.3.1. Définition

La flore, ou microbiote, est l'ensemble des micro-organismes non pathogènes dits commensaux, vivant dans un environnement spécifique appelé microbiome, chez un hôte qui peut être animal, végétal ou une matière pouvant être elle-même d'origine animale ou végétale (Burcelin *et al.*, 2016).

Notre organisme est composé de plusieurs microbiotes, notamment au niveau de la peau, de la bouche et du vagin, mais le microbiote intestinal est le plus important d'entre eux (Burcelin *et al.*, 2016).

I.3.2. Types de microbiote

On constate deux types de flores : une flore autochtone (permanente) et une flore allochtone (en transit) (Coudeyras et Forestier, 2010).

I.3.2.1. Microbiote autochtone

Il est une flore qui varie peu au cours du temps. Il évolue toutefois avec différents facteurs spécifiques de l'individu ; on parle alors de « carte d'identité bactérienne ». La flore permanente dans le microbiote intestinal, est capable de coloniser et de proliférer dans des sites spécifiques. Elle est divisée en deux sous-groupes : la flore dominante (1% des espèces bactériennes totales) et la flore sous-dominante (**Collignon et Butel, 2004 ; Coudeyras et Forestier, 2010**).

I.3.2.2. Microbiote allochtone

Ou même flore allochtone (de transit ou de passage), fluctue dans le temps et tout le long de l'intestin car elle possède un pouvoir d'implantation transitoire ; cette dernière reflète les infections, les changements environnementaux ainsi que les modifications alimentaires (**Collignon et Butel, 2004 ; Coudeyras et Forestier, 2010**).

I.4. Microbiote intestinal

I.4.1. Définition du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal est un ensemble important de bactéries (cent mille milliards) réparties le long du tractus intestinal et dont la composition globale est variable selon la localisation, les individus, l'âge, les périodes de la vie d'un même individu. L'ensemble constitue un écosystème qui fonctionne comme un organe à part entière, en étroite symbiose avec notre organisme (**Corthier, 2011**).

L'ensemble constitue un écosystème qui fonctionne comme un organe à part entière en étroite symbiose avec notre organisme et forme avec lui un supra-organisme. Certains auteurs lui donnent le nom d'espace métabolique intégré (**Blaser *et al.*, 2013**).

I.4.2. L'épithélium intestinal

L'épithélium retrouvé le long de l'intestin grêle et du côlon est un épithélium prismatique simple constitué de plusieurs types cellulaires (**Muniz *et al.*, 2012**). La structure particulière, sous forme d'invaginations et de cryptes, ainsi que la présence de microvillosités permet à ce tissu d'avoir une surface d'absorption très importante (**Fig. 01**). Les cellules majoritairement retrouvées sont les entérocytes. Ce sont des

cellules pourvues de microvillosités ayant différentes fonctions. Elles permettent l'absorption des nutriments, grâce notamment à la production d'enzymes spécifiques et jouent également un rôle de protection par un effet barrière (Abreu, 2010).

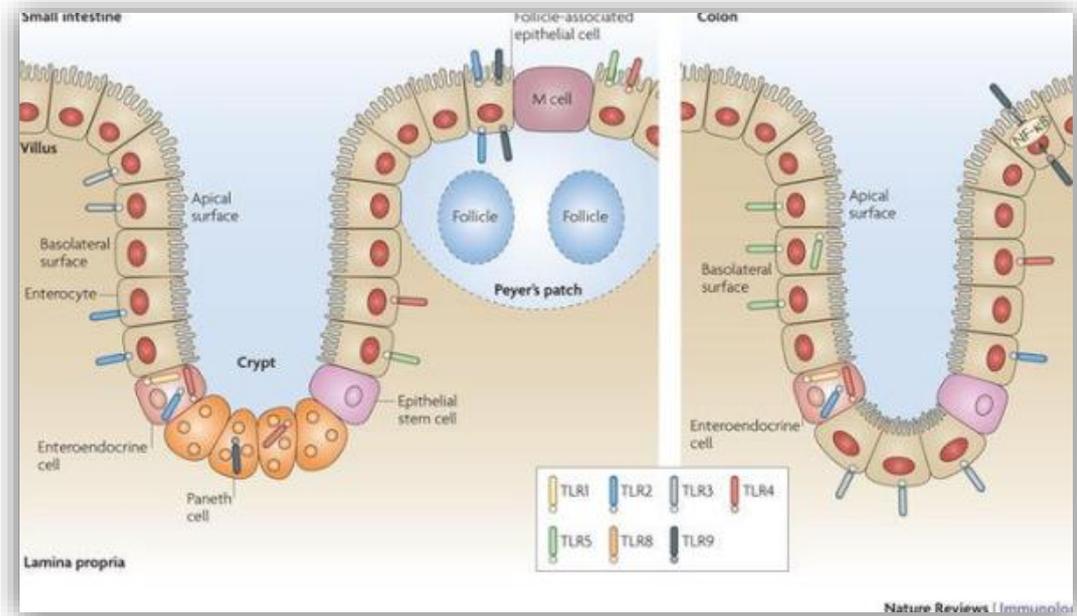


Figure 01 : Epithélium intestinal (Abreu, 2010).

I.4.3. Analyse du microbiote intestinal

Durant toutes ces années, le microbiote intestinal n'a pu être étudié qu'en partie, car la majorité des espèces qui le composent (c'est-à-dire les anaérobies strictes) ne sont pas cultivables *in vitro* ou nécessitent des milieux de cultures très délicats et spécifiques.

Il a été démontré que les techniques classiques de culture permettent de détecter et de cultiver *in vitro* seulement 20 à 30% des espèces de notre flore commensale. Celles qui restent sont qualifiées de non cultivables, mais grâce à l'avènement de la biologie moléculaire et le développement du séquençage, la composition du microbiote intestinal a pu être étudiée plus en détail.

Ce sont d'abord les techniques basées sur le séquençage de l'ARN 16S (techniques moléculaires) qui ont permis d'identifier de nouvelles espèces, non cultivables par les techniques classiques de microbiologie (microscopie, culture axénique) (Bourlioux, 2014).

I.4.4. Composition du microbiote intestinal

La flore microbienne digestive se caractérise par sa complexité et sa diversité. Des variations dans le temps et l'espace caractérisent la composition de la flore digestive d'un individu. Ainsi, les flores digestives du nouveau-né, du nourrisson puis de l'adulte sont différentes. De même, la composition de la flore varie selon les segments du tube digestif avec un gradient croissant dans le sens oral-anal. En revanche, une fois établie, la flore intestinale est relativement stable chez un même individu dans des conditions normales, bien qu'elle puisse être influencée par les facteurs environnementaux tels que l'alimentation et les traitements antibiotiques (Fig 02) (Barbut et Joly, 2010).

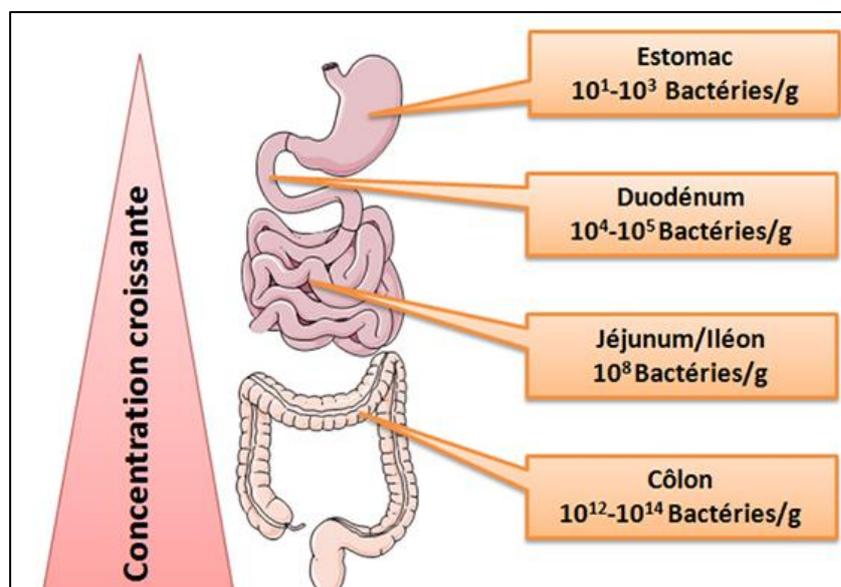


Figure 02 : Répartition de la quantité des bactéries le long du tractus digestif (Barbut et Joly., 2010).

I.4.5. Différents micro-organismes

Le microbiote intestinal est propre à chaque individu, d'un point de vue qualitatif et quantitatif. Les micro-organismes majoritairement retrouvés sont les bactéries. On estime que chez chaque individu on retrouve près de 400 espèces bactériennes différentes de type anaérobie strict ou anaérobie facultatif. Selon Barbut et Joly (2010) les bactéries dominantes du microbiote peuvent être réparties en 3 *phyla* bactériens majeurs :

I.4.5.1. Composante bactérienne

- **Le phylum des *Firmicutes*** : ils sont des bactéries à gram positives. Elles représentent habituellement plus de la moitié des micro-organismes de la flore (environ 80 %). Ce phylum comporte trois classes de bactéries : classe de *Clostridia* qui contient les genres *Clostridium*, *Ruminococcus* et *Faecalibacterium* ; classe de *Mollicutes* contenant les bactéries du genre *Mycoplasma* ; et classe de *Bacilli* contenant les genres *Listeria*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* et *Streptococcus*.
- **Le phylum des *Bacteroidetes*** : Ce phylum représente jusqu'à 30% de la population bactérienne. On y retrouve notamment les bactéries du genre *Bacteroides* qui sont des bactéries sous forme de bacille gram négatif anaérobie et le genre *Prevotella*.
- **Le phylum des *Actinobacteria*** : ils représentent en général moins de 10% de la population du microbiote. Ce sont des bactéries à gram positives, notamment des genres *Actinomyces*, *Mycobacterium* ou *Bifidobacterium*.

I.4.5.2. Composante fongique

Est constituée de champignons et de levures. Ainsi, nous pouvons retrouver des levures issues des espèces *Candida* et *Saccharomyces* ; cependant, la diversité de ces organismes est encore très sous-estimée.

II.4.5.3. Composante virale

Après la communauté bactérienne, les virus sont considérés comme l'espèce la plus abondante au niveau intestinal. Pour l'instant, peu d'études ont été réalisées mais on retrouve la présence majoritaire de phages et de prophages. On estime le nombre de phages à 10^{12} à 10^{13} particules par microbiote qui sont répartis dans environ une centaine d'espèces dont le taxon prédominant appartient à la famille des *Podoviridés* (**Salonen et al, 2014**).

II.4.5.4. Archées

Ce sont des micro-organismes unicellulaires procaryotes. Elles ont longtemps été considérées comme des bactéries mais les analyses génétiques et les méthodes de classification phylogénétiques ont permis de justifier la création d'un groupe à part

entière. Dans le tractus digestif humain, ces archées sont en grande majorité méthanogènes.

I.5. Répartition des micro-organismes

Les micro-organismes varient tout au long du tractus digestif (**Fig. 03**), en fonction du pH, du potentiel d'oxydoréduction, des substrats, et des sites d'adhésion qui caractérisent l'organe cible ou la niche écologique (**Legendre, 2014**).

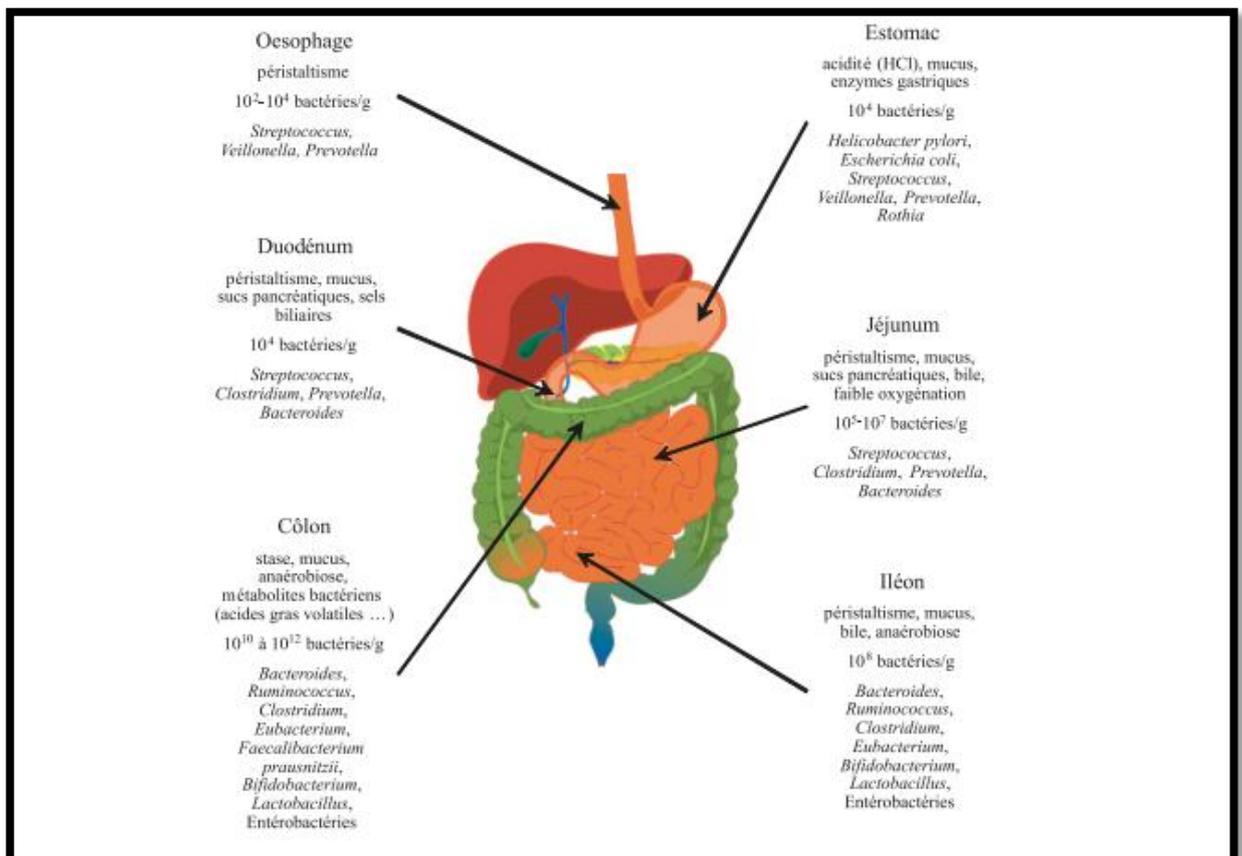


Figure 03 : Schéma illustrant la répartition topographique du microbiote intestinal (Le Lay, 2015).

Le nombre de bactéries augmente progressivement depuis l'estomac (moins de 10^4 par gramme de contenu) jusqu'au côlon (10^{11} à 10^{12} par gramme) en passant par le duodénum (10^3 à 10^4 par gramme), le jéjunum (10^5 à 10^6 par gramme) et l'iléon (10^7 à 10^9 par gramme). Le passage de la valvule iléo-cæcale permet l'entrée dans le côlon qui, compte tenu du nombre de bactéries présentes, est une véritable chambre de fermentation.

I.6. Facteurs majeurs influençant le microbiote intestinal

Les facteurs influençant l'établissement du microbiote colique peuvent être classés en deux catégories, les facteurs internes et les facteurs externes.

I.6.1. Facteurs internes

I.6.1.1. Exposition prénatale

Le développement du microbiote commence bien avant le nourrisson est né. Contrairement à ce que l'on pensait précédemment, le liquide amniotique n'est pas stérile (**Okogbule-Wonodi et al., 2011**). Dans certains cas, la présence bactérienne dans le liquide amniotique est associée à un état malade. *Mycoplasma* et *Ureaplasma urealyticum* dans le liquide amniotique sont des isolats fréquents associés avec des préjudices pour la santé tels que la chorioamnionite, l'accouchement avant terme et l'entérocolite nécrosante (**Kwak et al., 2014**).

I.6.2. Facteurs externes

I.6.2.1. Influence du mode d'accouchement

L'implantation de la flore est différente entre les nouveau-nés nés par césarienne et ceux nés par voie basse. Les enfants nés par césarienne ne rencontrent pas en premier lieu les bactéries de leur mère à cause des conditions d'hygiène strictes de la césarienne. Ils seront d'abord en contact avec les bactéries de leur environnement, c'est-à-dire celles contenues dans l'air et au contact du personnel soignant (**Rutayisire et al., 2016**).

Quel que soit le mode d'accouchement, les premières bactéries implantées sont toujours les anaérobies facultatifs (*Entérobactérie, Entérocoques, Staphylocoques*), mais la flore anaérobie stricte s'implante beaucoup plus tardivement pour les enfants nés par césarienne (jusqu'à six mois de retard pour le genre *Bacteroides*).

Les enfants nés par voie basse présentent une flore proche de la flore vaginale de leurs mères (*Lactobacillus, Prevotella*) alors que les enfants nés par césarienne présentaient une communauté bactérienne proche de celle de la peau (*Staphylococcus, Corynebacterium* et *Propionibacterium*) (**Arrieta et al., 2014**).

I.6.2.2. Influence du terme de naissance

Chez les enfants prématurés, il existe un retard de colonisation par les bactéries anaérobies strictes du genre *Bifidobacterium* et *Bacteroides*. La colonisation se fait également par un nombre plus réduit d'espèces bactériennes (**Mackie et al., 1999 ; Campeotto et al., 2007**).

Les *bifidobactéries* vont alors apparaître vers dix jours et ne seront dominantes qu'au bout de la deuxième ou troisième semaine. Cela serait dû au fait que la plupart des enfants aseptisés et soumis à une antibiothérapie à large spectre. Il n'y aurait donc aucun contact avec la flore entérique et vaginale de la mère et très peu de bactéries environnantes (**Mackie et al., 1999 ; Campeotto et al., 2007**).

Chez les enfants prématurés, la mise en place de la flore est plus tardive, notamment du fait de leur séjour dans un environnement aseptisé ; de plus ils reçoivent souvent une antibiothérapie prophylactique à cause de la perméabilité trop importante de leur intestin. Ils peuvent donc être colonisés précocement par *Clostridium difficile*, impliqué dans l'entérococolite ulcéro-nécrosante du nourrisson (**Rofes, 2014**).

I.6.2.3. Influence de l'alimentation

La flore qui s'implante chez le nouveau-né allaité est moins diversifiée que celle d'un nouveau-né nourri au lait artificiel. L'allaitement maternel favorise l'implantation du genre *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*. Les bactéries de la flore intestinale de la mère sont retrouvées dans les selles de l'enfant allaité. En effet, durant la grossesse et l'allaitement, il existe une translocation bactérienne, qui est un phénomène physiologique, permettant aux bactéries de la flore intestinale de la mère de se retrouver dans les glandes mammaires (**Mackie et al., 1999 ; Perez et al., 2007**).

I.6.2.4. Influence de l'antibiothérapie

Quelle soit per-partum (avant le terme) ou post-natale, l'antibiothérapie aura des conséquences. Soit elle va modifier la flore barrière, soit elle va sélectionner des germes résistants à l'antibiotique. Avec pour conséquence, une diminution de la résistance à la colonisation par des bactéries pathogènes, notamment des entérobactéries résistantes (**Campeotto, 2007**).

I.6.2.5. Influence de l'environnement et des conditions d'hygiène

L'environnement joue un rôle important dans la mise en place de la colonisation intestinale. La microflore intestinale d'un enfant né dans un pays développé diffère de celle d'un enfant né dans un pays en voie de développement ; mais dans un même pays, il y aura également une variabilité selon que l'enfant soit né en milieu rural ou en milieu urbain. Les conditions d'hygiène, à la maison ou en milieu hospitalier, auront également un impact (**Mackie et al., 1999 ; Perez et al., 2007**).

Dans les pays industrialisés, les conditions strictes d'hygiène lors de l'accouchement réduisent l'exposition de l'enfant aux flores fécale et vaginale de sa mère. Certaines études ont mis en évidence la colonisation à plus haut niveau et plus fréquente chez les enfants nés dans les pays en voie développement par les *Bifidobactéries*.

I.7. Fonctions du microbiote intestinal

Malgré la grande variabilité du microbiote, un certain nombre de bactéries sont retrouvées chez tous les individus de manière à assurer l'ensemble des fonctions remplies par le microbiote. Parmi ces différentes tâches, certaines n'apparaissent qu'à partir de l'âge de deux ans suggérant ainsi le rôle central du microbiote intestinal dans leur exécution (**Delzenne et al., 2012**).

I.7.1. Rôle de barrière

Le microbiote intestinal forme également une barrière physique empêchant la colonisation de l'intestin par d'autres germes dits opportunistes. Il va permettre d'éviter le développement de bactéries pouvant être présentes dans l'alimentation par exemple. Cet effet de barrière est obtenu sans qu'on puisse préciser quelles espèces en sont responsables. Il parvient à cet effet en produisant notamment des composés antimicrobiens ce qui va également permettre de limiter l'impact du LPS(Lipopolysaccharide) et du peptidoglycane sur les cellules de l'intestin (**Greer et al., 2013**).

Pour y parvenir, le microbiote intestinal peut agir de deux façons : soit en diminuant leur synthèse soit en améliorant la sensibilité des entérocytes à ces toxines et

ce même sans modifier la colonisation de la bactérie productrice (**Barbut et Joly, 2010**). Il régule également la formation de mucine qui permet de limiter l'effet pro-inflammatoire de certains composés et de limiter la capture d'antigènes (**Vyas et Ranganathan, 2012**).

I.7.2. Biotransformation

En effet, le microbiote intestinal est impliqué en particulier dans la régulation de voies cataboliques et anaboliques ainsi que dans le métabolisme des nutriments lipidiques et protéiques et régule également de nombreuses activités chez l'hôte comme le métabolisme de la bile ou la régulation de certaines fonctions endocrines ou même immunitaires (**Evans et al., 2013 ; Guinane et al., 2013**).

I.7.2.1. Métabolisme des glucides

Lorsque les glucides fermentescibles parviennent dans le colon, leur quantité varie de 10 à 60 grammes par jour selon les habitudes alimentaires. Les premières bactéries à intervenir sont les bactéries hydrolytiques qui vont dégrader les polymères en oligosaccharides plus petits. Cette étape est possible grâce à la présence de nombreuses enzymes telles que des hydrolases que l'hôte est incapable de produire. On retrouve principalement parmi ces bactéries les genres *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus* et *Roseburia*. Par la suite, quasi l'ensemble du microbiote est capable d'utiliser les glucides pour produire notamment du pyruvate par glycolyse. Cette molécule est à l'origine d'acides gras à chaîne courte comme l'acétate, le propionate et le butyrate qui seront par la suite utilisés de différentes manières par notre organisme (**Gérard, 2011**).

I.7.2.2. Métabolisme des protéines

De la même façon que pour les sucres, une certaine quantité de protéines, estimée entre 6 et 18 grammes par jour, parvient jusqu'au colon. La protéolyse est réalisée par des bactéries appartenant aux genres *Bacteroides*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* et *Lactobacillus*. Cette protéolyse peut être à l'origine de la production de métabolites toxiques pour l'organisme de l'hôte comme des indoles et des phénols qui proviennent de la dégradation des acides aminés aromatiques et qui ont un rôle dans le développement du cancer du côlon (**Gérard, 2011**).

I.7.2.3. Métabolisme des lipides

Pour terminer, les lipides parvenant au colon, à raison de 5 à 8 grammes par jour, vont subir l'action de nombreuses bactéries possédant des lipases. Certaines bactéries vont ainsi pouvoir hydrolyser des triglycérides à longues chaînes. Certains microbiotes sont même capables de diminuer l'absorption du cholestérol en le transformant en coprostérol non absorbable qui sera donc éliminé dans les fèces, diminuant de ce fait le risque de maladies cardiovasculaires (**Nicholson *et al.*, 2012**).

I.7.2.4. Métabolisme des gaz

L'hydrogène est l'un des gaz majoritairement formés lors de ces processus fermentaires. Son élimination de l'écosystème est fondamentale au maintien de l'efficacité d'un bon métabolisme. Il est ainsi en partie excrété par voies pulmonaire et anale (**Gérard, 2011**).

I.7.2.4. Synthèse des vitamines

Le microbiote intestinal produit par ailleurs un grand nombre de vitamines, notamment celles du groupe B et est capable de synthétiser des acides aminés. Les vitamines doivent être apportées régulièrement et en quantité suffisante par l'alimentation. Il est aujourd'hui reconnu que les bactéries du microbiote intestinal de l'homme constituent une source essentielle pour certaines vitamines telles que la vitamine K (indispensable dans le processus de coagulation) ou encore certaines vitamines du groupe B, Cobalamine (B12), Acide folique (B9), Pyridoxine (B6), Biotine (B8), Riboflavine (B2) (**Corthier, 2011**).

I.7.3. Développement anatomique

Le microbiote intestinal participe par ailleurs au développement de la physiologie du tube digestif en particulier de l'intestin en agissant sur l'épaisseur de la muqueuse et sur la taille des villosités et des bordures en brosse via le développement de l'angiogenèse au niveau intestinal. Par ce biais, il permet également de stimuler le développement et la croissance des cellules de l'intestin et même leur différenciation (**Vyas et Ranganathan, 2012**).

I.7.4. Fonction de structuration et de développement immunitaire

Un des principaux rôles du microbiote intestinal est de participer au développement du système immunitaire inné notamment en modulant l'expression des TLRs (Toll-Like Receptors) en agissant comme un sélecteur thymique (**Grosdemange, 2014**). Le système immunitaire acquis est également fonction de ce microbiote puisque ce dernier va permettre de maintenir une tolérance du système immunitaire envers des antigènes présents naturellement dans l'organisme ou envers de la nourriture (**Purchiaroni, 2013**).

On a d'ailleurs remarqué que les organismes exempts de microbiote intestinal possédaient un taux de cellules dendritiques plus bas que les autres. De plus, les souris axéniques présentaient un système immunitaire immature et possédaient un nombre moindre de lymphocytes intraépithéliaux associé à une baisse de la production d'immunoglobulines sériques et de cytokines (**Berger et Recher, 2015**).

Le rôle du microbiote intestinal dans le développement du système immunitaire se confirme d'ailleurs lorsqu'on inocule un microbiote provenant d'une souris normale à une souris axénique. Il ne suffit en effet que de quelques semaines pour que les souris axéniques retrouvent un système immunitaire efficace (**Gérard, 2011**).

I.8. Exopolysaccharides (EPS)

Le terme « exopolysaccharide » est un mélange de deux mots distincts, à savoir « *exo* » signifie « externe » et « *polysaccharide* » signifie « un glucide constitué de plusieurs monomères de sucre ». Les EPS sont des polymères naturels, également appelés biopolymères, présents comme composants structurels, principalement dans divers systèmes vivants, tels que les plantes, les animaux et les micro-organismes. Le microbiote intestinal est devenu un déterminant essentiel de la santé humaine et des maladies, où une abondance altérée de microbes intestinaux, la diversité des populations et leurs fonctions métaboliques sont associées au bien-être général. En fait, plusieurs stratégies pharmacologiques fondées sur des preuves ont été développées pour atténuer les maladies chroniques en ciblant la barrière intestinale et les processus intestinaux associés (**Navneet K. et Priyankar D., 2023**).

I.8.1. Production des exopolysaccharides (EPS)

Les EPS sont des polysaccharides microbiens. Ils sont libérés à l'extérieur de la paroi cellulaire bactérienne. Parmi les bactéries, les bactéries lactiques produisant une grande variété d'EPS. La biosynthèse des EPS bactériens est un processus complexe impliquant un grand nombre d'enzymes et de protéines régulatrices (**Patel et al., 2012**).

La biosynthèse des EPS comprend quatre étapes principales, à commencer par le transport du sucre dans le cytoplasme, la synthèse du sucre-1P, la polymérisation des précurseurs unitaires récurrents et enfin le transport du EPS à l'extérieur de la cellule (**Becker, 2015**). Les polysaccharides exo-cellulaires sont synthétisés à la fois par des bactéries à Gram positives, négatives et des cyanobactéries. Ils se présentent soit sous forme d'une capsule enrobant la cellule soit secrétés dans le milieu environnant (**Roger, 2002**).

I.8.2. Nature des exopolysaccharides

Dans le tableau qui suit (**Tableau 02**) nous décrirons brièvement les constituants majoritaires des EPS.

Tableau 01 : Composition des exopolysaccharides (**Flemming et Wingender, 2010**).

Composés	Quantité présente dans les EPS
Polysaccharides	40-95%
Protéines	1- 60%
Acides nucléiques	1- 10%
Lipides	1- 40%

I.8.3. Rôles des Exopolysaccharides

Les EPS sont essentielles à la survie des bactéries et à leur adaptation à l'environnement (**Decho, 1990**). Les rôles des EPS pourraient être énoncés en quelques mots clés comme adhésion, agrégation, cohésion, protection et nutrition. Cette matrice exo-polymérique sert donc à :

- Protéger les bactéries contre la dessiccation, les biocides, les radiations UV, la prédation par des protozoaires, les surfactants, les anticorps et les antibiotiques (Stewart et William Costerton, 2001 ; Flemming et Wingender, 2010).
- Capture des minéraux essentiels et des nutriments en partie grâce à leur nature ionique, ils permettent de séquestrer des composés organiques dissous (Flemming et Wingender, 2010).
- Permettre de tamponner les variations physico-chimiques du milieu naturel (Haras, 2005).
- Apporter un effet cryoprotecteur pour les souches bactériennes vivantes (Nicholaus et al., 2005).
- Permettre l'adhésion irréversible des bactéries sur une surface biotique ou abiotique.
- Permettre le transfert horizontal d'ADN entre bactéries d'espèces différentes (Flemming et Wingene, 2010).

I.8.4. Méthodes d'extraction des exopolysaccharides

Les objectifs principaux de cette étape d'extraction des EPS sont d'en récupérer la plus grande quantité sans en modifier la composition et sans lyser les cellules bactériennes. La nature des EPS récoltées dépend fortement de la méthode d'extraction exploitée. Il faut prendre en considération que la composition des EPS est spécifique de chaque souche bactérienne et chaque type d'EPS (Azeredo et al., 2003).

Donc concernant les méthodes d'extraction des EPS (Tableau 03), il existe des méthodes physiques et d'autres chimiques, comme la centrifugation, la filtration, la sonication ou le traitement par un agent complexant (EDTA) ou une résine échangeuse d'ions. Dans d'autres travaux l'extraction des EPS se fait par élévation du pH (utilisation de soude avec ou sans ajout de formaldéhyde) ou diminution du pH (utilisation d'acide sulfurique) (Dominguez et al., 2010 ; Pan et al., 2010 ; Donot et al., 2012 ; Sun et al., 2012).

Tableau 02 : Méthodes d'extraction des EPS (Sheng et al., 2010 ; Lembre et al., 2012).

	Méthodes
Méthode physique	Sonication

	Sonication/centrifugation
	Centrifugation haute vitesse
	Chauffage
	Résine échangeuse d'ions
Méthode chimique	Traitement alcalin
	Formaldéhyde/traitement alcalin
	EDTA
	NaCl
	Traitement acide
	Extraction à l'éthanol
	Glutaraldéhyde
	Extraction enzymatique
	Tween

I.8.5. Facteurs influençant la production des EPS

En 2002, des chercheurs ont montré l'influence des conditions de culture sur la production de polysaccharides chez *Bacillus licheniformis*. L'ajout d'éthanol permet d'augmenter le rendement, tandis que l'ajout de sucres (saccharose, fructose ou glucose) n'a aucun effet (Larpin et al., 2002). L'espèce *E. coli* montre elle aussi une sensibilité aux conditions de culture puisque la concentration en glucose et le type d'agitation des cultures jouent sur la production de biofilm (Moreira et al., 2013). Globalement, il est donc difficile d'étudier la production d'EPS par les bactéries car la qualité et la quantité d'EPS dépendent non seulement des souches étudiées mais aussi des conditions de culture. Un dernier point important doit être souligné, la production d'EPS varie au cours de la phase de croissance des bactéries. La majorité des bactéries synthétisent leurs EPS pendant la phase stationnaire (Decho, 1990 ; Manca et al., 1996 ; Poli et al., 2010).

I.9. Antibiorésistance du microbiote intestinal chez les DT2

La résistance des muscles et des tissus adipeux aux actions de l'insuline observée lors du DT2 est principalement provoquée par une combinaison complexe de prédispositions génétiques, de composition corporelle, de facteurs nutritionnels et

environnementaux. Des perturbations du récepteur de l'insuline, du transporteur du glucose et du post-récepteur sont observées dans le DT2. Finalement, les tissus périphériques exposés à une hyper-insulinémie compensatoire chronique deviennent résistants à l'insuline (**Abdul-Ghani et al., 2010**).

Des études ont montré que le microbiote intestinal était associé au développement de maladies métaboliques, car les sujets obèses et diabétiques présentaient des perturbations dans les proportions de *Firmicutes*, *Bacteroidetes* et *Protéobactéries* (**Larsen et al., 2010**).

Le régime alimentaire est essentiel pour la régulation du microbiote intestinal. Un excès de nutriments tels que les acides gras saturés et polyinsaturés ou une pénurie d'oligosaccharides et de composés phytochimiques peuvent modifier l'activité métabolique bactérienne. Les régimes riches en graisses modifient le microbiote intestinal, entraînant une augmentation de la perméabilité intestinale et une sensibilité accrue aux antigènes microbiens, ce qui est en corrélation avec l'apparition d'une endotoxémie métabolique et d'une résistance à l'insuline (**Ellis et al., 2010**).

Les individus diabétiques ont des comptes plus faibles de *Bifidobacterium* et de *Faecalibacterium prausnitzii*, tous deux Gram + avec des propriétés anti-inflammatoires. En dépit des perturbations déjà observées dans le microbiote intestinal de sujets diabétiques de type 2, il reste encore à déterminer si les variations du microbiote, de la barrière intestinale et de l'endo-toxémie métabolique sont des causes ou des conséquences du diabète. Des études ont montré qu'une inflammation aiguë induite par l'administration de LPS par voie intraveineuse favorise l'endo-toxémie métabolique et la résistance systémique à l'insuline, suite à la modulation de voies spécifiques de signalisation inflammatoire adipeux et d'insuline (**Fret et al., 2010**).

D'autres équipes s'intéressent à la modification de la flore intestinale, qui s'avère particulière chez les sujets atteints de DNID. Des travaux ont montré que sa composition change avec un régime gras, et que le système nerveux entérique (localisé au niveau du tube digestif) joue un rôle dans la régulation du métabolisme. C'est ce point que nous développerons plus précisément dans les parties suivantes ; nous verrons ainsi que la variation du microbiote intestinal peut être responsable de l'apparition d'une

inflammation favorisant l'insulino-résistance et le développement du tissu adipeux (Vergely Chabo, 2012).

Chapitre II

Inflammation Et Diabète de type 2

II.1. Physiologie de l'inflammation

L'inflammation est une réponse physiologique défensive de l'organisme à une agression, telle qu'une blessure ou une infection, Cela peut se manifester par des symptômes tels que la rougeur, la chaleur, la douleur, l'enflure et une perte de fonction de la zone affectée. L'inflammation est un élément clé du système immunitaire et peut aider à protéger le corps contre les invasions futures (**Sembulingam et al., 2013 ; Parham, 2014 ; Serhan et al., 2021**)

C'est un processus complexe impliquant plusieurs cellules et molécules, notamment les cytokines, les récepteurs des cytokines et les molécules pro-inflammatoires. Les mécanismes de l'inflammation peuvent aider à protéger l'organisme contre les agents pathogènes, mais une réponse excessive ou prolongée peut causer des dommages aux tissus et contribuer à des maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète et l'arthrite (**Ribas, 2018**)



Figure 04 : Principales étapes de la réaction inflammatoire (Gaubert, 2018).

II.2. Cellules responsables de l'inflammation

Les cellules de l'inflammation sont un groupe hétérogène de cellules du système immunitaire qui sont recrutées et activées lors d'une réponse inflammatoire. Voici quelques exemples de cellules de l'inflammation :

II.2.1. Polynucléaires neutrophiles (PNN)

Ces cellules sont les premiers à arriver sur le site de l'inflammation. Elles sont capables de phagocyter (ingérer et détruire) les bactéries et les autres agents pathogènes (**Summers et al., 2022**).

II.2.2. Monocytes et macrophages

Ces cellules sont également importantes pour phagocyter les bactéries et les autres agents pathogènes, mais elles sont également impliquées dans la présentation de l'antigène aux lymphocytes T (**Murray et al., 2021**).

II.2.3. Cellules endothéliales

Elles sont des cellules qui tapissent les parois internes des vaisseaux sanguins et lymphatiques. Elles forment une barrière entre le sang ou la lymphe et les tissus environnants, et sont donc impliquées dans de nombreuses fonctions physiologiques, notamment la régulation du flux sanguin, la régulation de la perméabilité vasculaire, la formation de caillots sanguins et la réponse immunitaire (**Palazzo et al., 2019**).

Les cellules endothéliales peuvent également jouer un rôle dans la réponse inflammatoire en réponse à des agents pathogènes ou des lésions tissulaires. Elles peuvent libérer des médiateurs inflammatoires tels que des cytokines, des chimiokines et des molécules d'adhésion cellulaire, qui recrutent les cellules immunitaires vers le site de l'inflammation. Les cellules endothéliales peuvent également exprimer des récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires (PRR) pour détecter les pathogènes et déclencher une réponse immunitaire (**Dominguez et al., 2012**).

II.2.4. Plaquettes

Les thrombocytes, également connus sous le nom de plaquettes, sont des éléments cellulaires sanguins impliqués dans la coagulation du sang. Ils sont produits dans la moelle osseuse et circulent dans le sang sous forme de disques plats sans noyau (**Lannes et al., 2012**).

Les thrombocytes sont essentiels pour prévenir et arrêter les saignements, en réagissant à des blessures vasculaires en se liant ensemble pour former un caillot. Cependant, leur fonctionnement peut également être altéré dans certaines maladies, conduisant à des complications thrombotiques. Les thrombocytes sont également

impliqués dans d'autres processus biologiques tels que la cicatrisation des plaies, la régulation de la pression artérielle et l'inflammation (**Jackson et al., 2019**).

II.2.5. Fibroblastes

Les fibroblastes sont des cellules du tissu conjonctif qui sont impliquées dans la production et la régulation de la matrice extracellulaire. Ils synthétisent les composants protéiques de la matrice extracellulaire tels que le collagène, l'élastine et la fibronectine, qui fournissent la structure et le soutien au tissu conjonctif. En outre, les fibroblastes ont également un rôle clé dans la cicatrisation des tissus, car ils peuvent se différencier en myofibroblastes et contracter pour resserrer la plaie. Les fibroblastes peuvent également jouer un rôle important dans le développement et la progression des maladies, telles que le cancer et les maladies inflammatoires chroniques. Les fibroblastes cancéreux, par exemple, peuvent faciliter la prolifération et la migration des cellules cancéreuses, tandis que les fibroblastes inflammatoires peuvent contribuer à l'inflammation et au développement des maladies auto-immunes (**Corsi et al., 2012 ; Hinz et al., 2012**).

II.2.6. Polynucléaires éosinophiles

Les polynucléaires éosinophiles, sont une sous-population de globules blancs, appelés leucocytes, qui sont impliqués dans la réponse immunitaire contre les parasites, les allergies et les maladies inflammatoires. Les éosinophiles sont caractérisés par la présence de granules riches en protéines, qui contiennent des enzymes telles que la peroxydase éosinophile, la catéchol-o-méthyl-transférase et la protéine cationique éosinophile, impliquées dans la destruction des parasites et la régulation de l'inflammation. Les éosinophiles jouent un rôle des éosinophiles dans la modulation de la réponse immunitaire en produisant des cytokines et des médiateurs lipidiques qui peuvent affecter les cellules immunitaires environnantes. Les éosinophiles ont également été impliqués dans la pathogenèse de maladies telles que l'asthme, la dermatite atopique et la rhinosinusite chronique (**Jacobsen et al., 2012**).

I.2.7. Basophiles et les mastocytes

Les basophiles et les mastocytes sont deux types de cellules du système immunitaire impliquées dans la réponse immunitaire inflammatoire et allergique. Les basophiles sont des leucocytes impliqués dans la réponse immunitaire inflammatoire. Ils contiennent des granules remplis d'histamine et de protéines qui favorisent la

vasodilatation et l'augmentation de la perméabilité capillaire, contribuant ainsi à l'inflammation. Les basophiles ont également été impliqués dans la réponse immunitaire contre les parasites et les bactéries. Les mastocytes sont des cellules présentes dans les tissus conjonctifs, tels que la peau, les muqueuses et les poumons. Ils contiennent également des granules remplis d'histamine et de protéines inflammatoires, et sont impliqués dans la réponse immunitaire allergique. Les mastocytes sont activés par l'antigène liant l'immunoglobuline E (IgE) sur leur surface, ce qui entraîne la libération d'histamine et d'autres médiateurs inflammatoires (**Marichal et al., 2013**).

II.2.8. Lymphocytes

Les lymphocytes sont un type de globules blancs présents dans le sang et dans les tissus lymphoïdes tels que la rate, les ganglions lymphatiques et le thymus. Ils jouent un rôle important dans la réponse immunitaire en identifiant et en éliminant les cellules étrangères, y compris les virus, les bactéries et les cellules cancéreuses. Les lymphocytes sont classés en trois types principaux : les lymphocytes B, les lymphocytes T et les cellules tueuses naturelles (NK). Les lymphocytes B produisent des anticorps qui se lient à des antigènes étrangers, tandis que les lymphocytes T reconnaissent et éliminent directement les cellules infectées ou cancéreuses. Les cellules tueuses naturelles, quant à elles, tuent les cellules infectées ou cancéreuses sans avoir besoin d'une réponse immunitaire spécifique. Les lymphocytes jouent également un rôle clé dans la mémoire immunitaire, qui permet au système immunitaire de reconnaître rapidement et efficacement les agents pathogènes auxquels il a déjà été exposé (**Marchiò et al., 2022**).

I.2.8.1. Lymphocytes T auxiliaires T-helper 1 et T-helper 2

Les lymphocytes T auxiliaires, également connus sous le nom de lymphocytes T-helper (Th), sont des cellules immunitaires qui jouent un rôle clé dans la réponse immunitaire adaptative. Les lymphocytes T-helper 1 (Th1) et les lymphocytes T-helper 2 (Th2) sont deux sous-types de lymphocytes T auxiliaires qui ont des fonctions différentes dans la réponse immunitaire (**Zhou et al., 2022**).

Les lymphocytes Th1 sont impliqués dans la défense contre les infections intracellulaires, telles que les virus et les bactéries intracellulaires, tandis que les lymphocytes Th2 jouent un rôle dans la défense contre les infections parasitaires et les réponses immunitaires allergiques (**Dong et al., 2022**).

II.2.8.2. Lymphocytes T auxiliaires T-helper 17

Les lymphocytes T-helper 17 (Th17) sont un sous-type de lymphocytes T auxiliaires qui jouent un rôle important dans la réponse immunitaire adaptative. Les Th17 sont impliqués dans la défense contre les infections fongiques et bactériennes extracellulaires, ainsi que dans la pathogenèse de certaines maladies auto-immunes (Almeida et al., 2021).

II.2.8.3. T-helper 17 dans le diabète de type 2

Les lymphocytes T-helper 17 (Th17) ont été impliqués dans la pathogenèse du diabète de type 2, une maladie chronique caractérisée par une résistance à l'insuline et une hyperglycémie. Les Th17 jouent un rôle dans la promotion de l'inflammation et la destruction des cellules bêta du pancréas, qui produisent de l'insuline (Liu et al., 2021).

II.2.8.4. Lymphocytes T régulateurs

Les lymphocytes T régulateurs (Tregs) sont une sous-population de lymphocytes T qui jouent un rôle important dans le maintien de la tolérance immunitaire en supprimant les réponses immunitaires excessives. Les Tregs expriment des marqueurs de surface spécifiques, tels que CD25 et Foxp3, qui sont utilisés pour identifier et caractériser ces cellules (kang et al., 2022).

II.2.8.5. T régulateur dans le diabète de type 2

Les lymphocytes T régulateurs (Tregs) jouent un rôle important dans la régulation de l'homéostasie immunitaire et sont impliqués dans la prévention des maladies auto-immunes, y compris le diabète de type 2 (DT2). Les Tregs régulent la réponse immunitaire en supprimant l'activation des cellules T effectrices et en favorisant la tolérance immunitaire. Dans le DT2, les Tregs sont déficients en nombre et en fonction, ce qui contribue à la pathogenèse de la maladie (Xiao et al., 2021).

II.3. Médiateurs de la réaction inflammatoire

Les médiateurs de la réaction inflammatoire comprennent des substances chimiques produites par les cellules du système immunitaire et les cellules endothéliales (les cellules qui tapissent les parois des vaisseaux sanguins) (Abbas et al., 2018). La forme active de ces médiateurs existe sous deux types, solubles (molécules) et cellulaires (cellules défenseses) (Parham, 2014).

II.3.1. Médiateurs solubles de l'inflammation

Cytokines : des protéines produites par les cellules immunitaires qui modulent la réponse immunitaire et la régulation de l'inflammation. Exemples : interleukine-1 (IL-1), interleukine-6 (IL-6), facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α).

Chimiokines : des protéines produites par les cellules immunitaires qui contrôlent la migration des cellules immunitaires vers les sites d'inflammation. Exemples : interleukine-8 (IL-8), migration inhibitory factor (MIF).

Facteurs de croissance : des protéines produites par les cellules qui régulent la croissance et la division cellulaire. Exemples : facteur de croissance des fibroblastes (FGF), facteur de croissance épidermique (EGF).

Radicaux libres : des molécules instables produites par les réactions métaboliques qui peuvent endommager les cellules et les tissus. Exemples : superoxyde, hydroxyle, peroxyde d'hydrogène.

Enzymes : des protéases, des hydrolases et d'autres enzymes qui peuvent endommager les tissus et dégrader les protéines. Exemples : protéases telle que la collagénase, la stromelysine, la matrix métalloprotéinase (Delano et *al.*, 2016 ; Ridker et *al.*, 2017).

II.3.2. Médiateurs cellulaires de l'inflammation

Cellules immunitaires : lymphocytes, monocytes/macrophages, cellules dendritiques, etc. Ils participent à la reconnaissance et à la destruction des antigènes, à la production de médiateurs solubles, à la présentation antigénique et à la stimulation de la réponse immunitaire.

Cellules endothéliales : cellules qui tapissent les vaisseaux sanguins. Elles peuvent produire des médiateurs solubles, réguler la perméabilité vasculaire et contrôler la migration des cellules immunitaires vers les sites d'inflammation.

Cellules de granulation : cellules produites par les cellules endothéliales qui peuvent migrer vers les sites d'inflammation et aider à la cicatrisation en produisant des matrices extracellulaires et des protéines de coagulation (Weber, 2016 ; Caselli et *al.*, 2020).

II.4. Types d'inflammation

II.4.1. Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est une réponse immunitaire rapide aux agressions telles que les infections, les blessures, les brûlures, les toxines, etc. C'est un processus physiologique qui a pour but de défendre l'organisme contre les agresseurs, de les éliminer et de faciliter la guérison vaccination (**Dinarello et al., 2013 ; Groothuis et al., 2016**).

Les caractéristiques de l'inflammation aiguë incluent la rougeur, la chaleur, l'enflure, la douleur et la perte de fonction. Cela est dû à la migration des cellules immunitaires et des médiateurs solubles vers le site d'inflammation. Les cellules immunitaires telles que les neutrophiles et les macrophages aident à la reconnaissance et à la destruction des antigènes, tandis que les médiateurs solubles tels que l'histamine et les prostaglandines augmentent la perméabilité vasculaire et augmentent la douleur et l'enflure (**Blasi et al., 2012 ; Sáenz et al., 2014 ; Schröder et al., 2014 ; Ochsendorf et al., 2019**).

II.4.2. Inflammation chronique

L'inflammation chronique est un processus pathologique qui se caractérise par une réponse immunitaire persistante, mal contrôlée et inappropriée à un stimulus antigénique ou une lésion tissulaire. Elle peut entraîner une réponse immunitaire continue, produisant des dommages aux tissus et une régénération insuffisante (**Beier, 2013 ; Gershwin et al., 2018 ; Serhan et al., 2021**).

II.4.3. Inflammation systémique

Réponse immunitaire qui implique de nombreux organes et systèmes. Il peut être associé à des maladies telles que le sepsis, la polyarthrite rhumatoïde, le lupus érythémateux disséminé, etc. (**Hasan et al., 2018 ; Serhan et al., 2021**).

II.4.4. Inflammation auto-immune

Réponse immunitaire dirigée contre les propres tissus du corps. Il peut être associé à des maladies telles que le diabète de type 1, la thyroïdite auto-immune, la polyarthrite rhumatoïde, etc. (**Hasan et al., 2018 ; Serhan et al., 2021**).

II.4.5. Inflammation de la réponse immunitaire adaptative

Réponse immunitaire qui implique la production d'anticorps et la mémoire immunologique. Il peut être associé à des réactions allergiques et à la réponse immunitaire après une vaccination (**Hasan et al., 2018 ; Serhan et al., 2021**).

II.5. Inflammation en cas de diabète

II.5.1. Voies intracellulaires de l'inflammation impliquées dans l'insulinorésistance du diabète de type 2

L'inflammation chronique associée au diabète de type 2 est étroitement liée à l'insulinorésistance. Plusieurs voies intracellulaires de l'inflammation sont impliquées dans l'insulinorésistance, notamment la voie de la protéine kinase activée par les mitogènes (MAPK), la voie de la signalisation de l'immunité innée (NF- κ B) et la voie de la signalisation des cytokines pro-inflammatoires (JNK) (**Samuel, 2016**).

La voie de signalisation de la MAPK peut être activée par diverses cytokines inflammatoires, telles que l'interleukine-1 β (IL-1 β) et le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α), qui inhibent la signalisation de l'insuline en phosphorylant le récepteur de l'insuline et les substrats du récepteur de l'insuline, entraînant une résistance à l'insuline (**Lu, 2018**).

La voie de signalisation NF- κ B est également activée par des cytokines inflammatoires et peut induire l'expression de gènes pro-inflammatoires et l'inhibition de la signalisation de l'insuline. Ces voies de signalisation intracellulaires peuvent interagir les unes avec les autres pour amplifier l'inflammation et l'insulinorésistance (**Divella et al., 2018**).

II.5.2. Implication des cytokines pro inflammatoires dans l'insulinorésistance du diabète de type 2

Les cytokines pro-inflammatoires jouent un rôle important dans le développement de l'insulinorésistance associée au diabète de type 2. Ces cytokines, telles que le TNF- α (facteur de nécrose tumorale alpha), l'IL-6 (interleukine-6) et l'IL-1 β (interleukine-1 beta), sont produites par les adipocytes et les macrophages infiltrés dans le tissu adipeux. Le TNF- α a été largement étudié pour son rôle dans la résistance à l'insuline, car il peut inhiber la signalisation de l'insuline par différentes voies, notamment la voie de l'IRS-

1/Akt. L'IL-6 peut également contribuer à l'insulinorésistance en augmentant la production de glucose hépatique et en perturbant la signalisation de l'insuline dans les tissus périphériques. L'IL-1 β peut inhiber l'expression de gènes impliqués dans la signalisation de l'insuline et la sécrétion d'insuline par les cellules β -pancréatiques (Akash, 2013). Les niveaux sériques de ces cytokines pro-inflammatoires étaient augmentés chez les patients atteints de diabète de type 2, et que ces niveaux étaient corrélés à la gravité de l'insulinorésistance (Hotamisligil, 2017 ; Stienstra et al., 2012).

II.5.2.1. TNF- α

Le TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α) est une cytokine pro-inflammatoire qui est associée à l'insulinorésistance dans le diabète de type 2. Le TNF- α est produit par les adipocytes, les macrophages et d'autres cellules inflammatoires, et sa production est augmentée chez les personnes obèses et atteintes de diabète de type 2 (Hotamisligil, 2017).

Le TNF- α a plusieurs effets négatifs sur la signalisation de l'insuline, notamment en inhibant l'autophosphorylation des récepteurs de l'insuline, en activant des kinases impliquées dans la phosphorylation des résidus de sérine et de thréonine des récepteurs de l'insuline, ce qui entraîne une diminution de la phosphorylation des résidus de tyrosine. Le TNF- α peut également augmenter l'expression de gènes qui régulent la gluconéogenèse, la lipolyse et l'inflammation, tout en réduisant l'expression de gènes qui régulent la glycolyse et la synthèse des acides gras (Tracey, 2018).

Les niveaux de TNF- α sont corrélés avec la gravité de l'insulinorésistance chez les patients atteints de diabète de type 2, et que la suppression de la production de TNF- α peut améliorer la sensibilité à l'insuline (Kallioli et al., 2016).

II.5.2.2. Interleukine-6

L'interleukine-6 (IL-6) est une autre cytokine pro-inflammatoire qui joue un rôle important dans le développement de l'insulinorésistance et du diabète de type 2 (Tanaka et al., 2012). Il a été impliqué dans l'induction de la résistance à l'insuline dans le foie et le muscle squelettique, ainsi que dans la suppression de la sécrétion d'insuline par les cellules β -pancréatiques. Plusieurs études ont montré que les taux d'IL-6 sont corrélés à l'insulinorésistance et au risque de développer un diabète de type 2 chez les sujets obèses (Hunter et al., 2015).

L'IL-6 peut contribuer à la dysfonction des cellules β -pancréatiques en augmentant le stress du réticulum endoplasmique et la production de radicaux libres. Ces effets peuvent entraîner une altération de la sécrétion d'insuline par les cellules β -pancréatiques (**Sproston et al., 2018**).

II.5.2.3. Interleukine-1 β

L'interleukine-1 β (IL-1 β) est une cytokine pro-inflammatoire impliquée dans l'insulinorésistance et la pathogenèse du diabète de type 2. L'IL-1 β est produite par les macrophages et les cellules β -pancréatiques en réponse à l'inflammation chronique et à la lipo-toxicité. Il peut inhiber la sécrétion d'insuline des cellules β -pancréatiques et augmenter la production hépatique de glucose en stimulant la gluconéogenèse et la production de glucose par le foie (**Dinarello et al., 2019**). L'IL-1 β peut améliorer la sensibilité à l'insuline et la fonction des cellules β -pancréatiques chez les patients atteints de diabète de type 2, en réduisant l'inflammation et la résistance à l'insuline (**Ridker et al., 2017**).

II.5.3. Inflammation des îlots de Langerhans dans le diabète de type 2

L'inflammation des îlots de Langerhans est considérée comme un facteur important dans le développement du diabète de type 2. Les cellules β -pancréatiques dans les îlots de Langerhans peuvent être endommagées par l'infiltration de cellules immunitaires, la libération de cytokines pro-inflammatoires, le stress oxydatif et la lipo-toxicité, qui peuvent entraîner une dysfonction et une diminution de la sécrétion d'insuline (**Korsgren et al., 2012**).

La présence d'infiltration de cellules immunitaires, en particulier de cellules T et de macrophages, dans les îlots de Langerhans des patients atteints de diabète de type 2 (**In't, 2014**). Ainsi que la libération de cytokines pro-inflammatoires, telles que le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6, par ces cellules immunitaires peut contribuer à la dysfonction des cellules β -pancréatiques et à la diminution de la sécrétion d'insuline (**Eguchi et al., 2017**).

Le stress oxydatif, qui peut être causé par une surcharge en glucose et en acides gras libres, a également été impliqué dans la dysfonction des cellules β -pancréatiques et la diminution de la sécrétion d'insuline (**Donath et al., 2013**).

II.5.4. Implication des cytokines pro inflammatoires dans l'altération de l'insulinosécrétion

Les cytokines pro-inflammatoires peuvent également altérer la sécrétion d'insuline en agissant directement sur les cellules β -pancréatiques. En effet, des études ont montré que l'exposition à des niveaux élevés de cytokines pro-inflammatoires, tels que le TNF- α , l'interleukine-1 β (IL-1 β) et l'interleukine-6 (IL-6), peut entraîner une diminution de la sécrétion d'insuline (**Donath et al., 2013**).

Plusieurs mécanismes peuvent contribuer à cette altération de la sécrétion d'insuline. Par exemple, le TNF- α peut induire la production de radicaux libres et augmenter le stress oxydatif, ce qui peut endommager les cellules β -pancréatiques et réduire leur capacité à sécréter de l'insuline. L'IL-1 β peut également activer des voies de signalisation impliquées dans l'apoptose, ou mort cellulaire programmée, ce qui peut réduire le nombre de cellules β -pancréatiques disponibles pour sécréter de l'insuline (**Hatanaka et al., 2021**).

L'infiltration de cellules immunitaires, telles que les macrophages, dans les îlots de Langerhans peut contribuer à l'inflammation et à la dysfonction des cellules β -pancréatiques dans le diabète de type 2 (**Eguchi et al., 2017**).

II.6. Méthodes d'évaluation des agents anti-inflammatoires

Plusieurs méthodes suivies pour mesurer l'efficacité des anti-inflammatoires : Tests de la douleur aiguë, tels que la souffrance thermique, la compression articulaire et la morsure de la queue de souris ; Tests de l'inflammation chronique, tels que la détermination du volume d'œdème, la mesure de la température cutanée, l'analyse histologique et la mesure de la production de médiateurs pro-inflammatoires ; Tests *in vitro*, tels que la mesure de la production de cytokines pro-inflammatoires et l'analyse de l'expression génique ; Tests cliniques : tels que les essais contrôlés randomisés chez des patients atteints de douleur et d'inflammation chroniques (**Costa et al., 2020 ; Chourasia et al., 2020 ; López et al., 2021**).

II.7. Anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des médicaments utilisés pour réduire ou prévenir l'inflammation. Ils peuvent être utilisés pour traiter une variété de conditions, telles que la

douleur, l'arthrite, l'asthme, les maladies cardiaques et le cancer. Les anti-inflammatoires peuvent être utilisés de manière topique (appliqué localement sur la peau) ou systémique (pris par voie orale ou injecté).

Il existe deux types principaux d'anti-inflammatoires : les stéroïdiens (corticostéroïdes) et les non-stéroïdiens (NSAIDs). Les stéroïdiens sont des médicaments puissants qui agissent en réduisant la réponse immunitaire. Les non-stéroïdiens sont des médicaments couramment utilisés pour réduire la douleur et l'inflammation, notamment l'ibuprofène et l'aspirine. Les anti-inflammatoires peuvent avoir des effets secondaires potentiels et doivent être utilisés sous la direction d'un professionnel de la santé (Dasgupta et al., 2012 ; Naguib et al., 2016 ; Berenbaum et al., 2021).

II.7.1. Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens (AINS)

II.7.1.1. Identification pharmacologique

Sont une classe de médicaments utilisés pour réduire l'inflammation et la douleur. Les AINS sont couramment utilisés pour traiter des conditions telles que l'arthrite, la douleur musculosquelettique, la fièvre et les maux de tête (Rainsford et al., 2013).

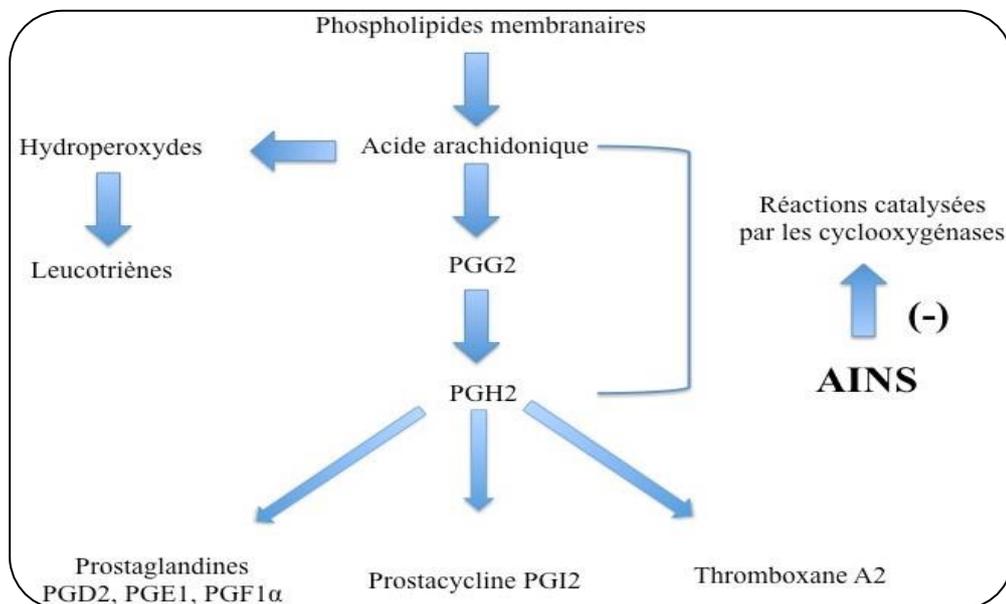


Figure 05 : Mécanisme d'action des AINS (Nicolas, 2001).

Les AINS agissent en bloquant l'enzyme cyclo-oxygénase (COX), qui est impliquée dans la production de prostaglandines. Les prostaglandines sont des médiateurs de l'inflammation qui peuvent causer de la douleur et de la fièvre. Il existe

plusieurs types d'AINS, tels que l'aspirine, l'ibuprofène, le naproxène et le diclofénac (**Fig. 05**). Les AINS peuvent être pris par voie orale ou topique, et peuvent également être utilisés en association avec d'autres médicaments pour un traitement plus efficace (**Masclee et al., 2014**).

Cependant, il est important de noter que les AINS peuvent avoir des effets secondaires potentiels, tels que des troubles gastro-intestinaux, de l'insuffisance rénale et une augmentation du risque de crise cardiaque et d'AVC. Il est donc important de discuter avec un professionnel de la santé avant de prendre des AINS (**Singh, 2018**).

II.7.1.2. Diclofénac

II.7.1.2.1. Utilisation et mécanisme d'action

Le diclofénac est un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) utilisé pour traiter la douleur et l'inflammation associées à diverses affections telles que l'arthrite, les douleurs menstruelles, les maux de tête, les douleurs musculaires et articulaires (**Fig. 6**).

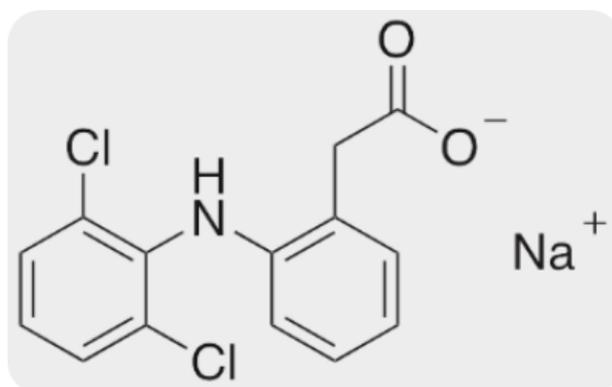


Figure 06 : Structure chimique du diclofénac sodium (Arumugam et al., 2013).

Le diclofénac est utilisé pour traiter diverses affections inflammatoires et douloureuses. Il peut être administré sous forme de comprimés, de gélules, de suppositoires ou de gel topique (**National Institutes of Health, 2022**).

Le diclofénac agit en inhibant l'activité de l'enzyme cyclooxygénase (COX), qui est impliquée dans la production de prostaglandines, des composés qui contribuent à la douleur et à l'inflammation (**British Journal of Clinical Pharmacology, 2010**).

II.7.1.2.2. Effets secondaires du diclofénac

Le diclofénac peut causer des effets secondaires tels que des maux d'estomac, des nausées, des vomissements, des ulcères d'estomac, des saignements gastro-intestinaux, des troubles rénaux, des maux de tête, des vertiges, des éruptions cutanées (**Mayo Clinic, 2021**).

II.7.1.2.3. Précautions à prendre lors de l'utilisation du diclofénac

Il est important de prendre le diclofénac selon les instructions du médecin et de ne pas dépasser la dose recommandée. Il est également important d'informer le médecin de tout problème de santé avant de prendre du diclofénac, en particulier s'il y a des antécédents de troubles gastro-intestinaux, de maladies cardiaques, de maladies rénales, de troubles de saignement, etc. (**National Institutes of Health, 2022**).

II.7.1.2.1. Interactions médicamenteuses du diclofénac

Le diclofénac peut interagir avec certains médicaments, tels que les anticoagulants, les corticostéroïdes, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA), etc. Il est important d'informer votre médecin de tous les médicaments que vous prenez avant de prendre du diclofénac (**Medline Plus, 2022**).

II.7.2. Anti-Inflammatoires Stéroïdiens (AIS) ou glucocorticoïdes

Les Anti-Inflammatoires Stéroïdiens (AIS), également appelés glucocorticoïdes, sont une classe de médicaments utilisés pour réduire l'inflammation et la douleur (**Fig. 07**). Les AIS sont des hormones similaires à ceux produits par les glandes surrénales et sont couramment utilisés pour traiter des conditions telles que l'arthrite, l'asthme, la polyarthrite rhumatoïde, la dermatite atopique, et les maladies auto-immunes (**Cazzola et al., 2013 ; Funder, 2019**).

Les AIS agissent en bloquant la production de médiateurs de l'inflammation, tels que les prostaglandines et les cytokines. Cela permet de réduire la réponse immunitaire et l'inflammation associées à certaines conditions médicales. Les AIS peuvent être administrés par voie orale, topique, inhalée ou intraveineuse, selon la condition à traiter. Cependant, il est important de noter que les AIS peuvent avoir des effets secondaires potentiels, tels que la suppression de l'axe hypothalamo-pituitaire-surrénalien, une

augmentation du risque de infections, et des effets néfastes sur la santé osseuse (Dalle et al., 2014 ; Funder, 2019)

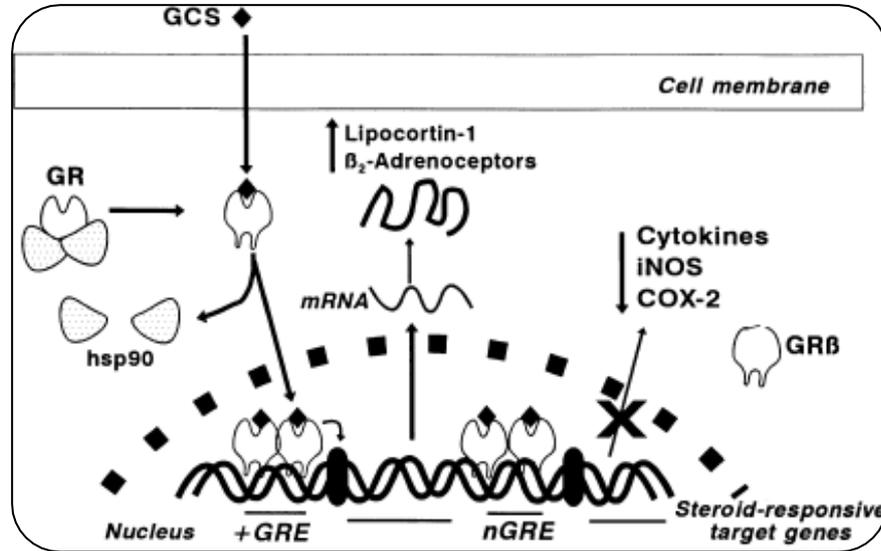


Figure 07 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes (Barnes, 1998).

II.7.3. Effets indésirables communs des anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires peuvent entraîner une variété d'effets indésirables, certains des plus courants : troubles gastro-intestinaux, les AINS peuvent causer des douleurs abdominales, des ulcères, de la diarrhée et de la constipation ; Réactions cutanées, les réactions cutanées telles que les éruptions cutanées, l'urticaire et l'angioœdème peuvent survenir avec l'utilisation d'AINS ; Troubles rénaux, les AINS peuvent nuire aux fonctions rénales et augmenter le risque de rétention hydrique et de rétention de sel ; Suppression de l'axe hypothalamo-pituitaire-surrénalien, où les AIS peuvent réduire la production d'hormones par les glandes surrénales, ce qui peut causer des effets secondaires tels que la fatigue, la dépression, et une réduction de la réponse immunitaire, Effets néfastes sur la santé osseuse , les AIS peuvent réduire la densité osseuse et augmenter le risque de fractures ; Augmentation du risque d'infections, tels que les AIS peuvent réduire la réponse immunitaire, ce qui peut augmenter le risque d'infections. Il est important de discuter avec un professionnel de la santé pour déterminer le meilleur traitement pour chaque condition individuelle, en tenant compte des effets secondaires potentiels et des avantages pour la santé (Day et al., 2013 ; Lanan et al., 2017).

II.7.4. Anti-inflammatoires d'origine végétale

Les anti-inflammatoires d'origine végétale sont des substances naturelles trouvées dans certaines plantes qui peuvent aider à réduire l'inflammation dans le corps. Il existe plusieurs types de phyto-médicaments anti-inflammatoires (**Abas et al., 2020 ; Ammar et al., 2020 ; Ezzat et al., 2021**), tels que :

- Les composés d'acides gras oméga-3 tels que l'acide alpha-linolénique (ALA), l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA) trouvés dans les graines de lin.
- Les anthocyanes, des pigments végétaux qui sont des antioxydants et des anti-inflammatoires puissants, trouvés dans les myrtilles, les cerises, les framboises et d'autres baies.
- Les flavonoïdes, des antioxydants et des anti-inflammatoires trouvés dans les fruits, les légumes, les graines et les herbes, tels que le curcuma, la quercétine et la rutine.
- Les procyanidines, des composés phénoliques trouvés dans les fruits rouges, les raisins et les baies, qui peuvent réguler les cytokines pro-inflammatoires.

Il est important de noter que les effets de ces anti-inflammatoires naturels varient selon la dose, la forme et la durée d'utilisation, et qu'il est toujours conseillé de consulter un médecin avant de les utiliser pour un usage thérapeutique (**Abas et al., 2020 ; Ammar et al., 2020 ; Ezzat et al., 2021**).

Chapitre III

Alternative par Traitement Phytothérapique

III.1. Phytothérapie

III.1.1. Définition

La phytothérapie est une pratique médicale qui consiste à utiliser les plantes et les extraits de plantes pour prévenir, traiter ou soulager les symptômes de diverses maladies. Elle est souvent considérée comme une médecine alternative ou complémentaire à la médecine conventionnelle (**Jorite, 2015**).

III.1.2. Différents types de la Phytothérapie

La phytothérapie est une médecine alternative qui utilise les extraits de plantes pour prévenir, traiter ou soulager les symptômes de différentes affections. Il existe plusieurs types de phytothérapie, chacun ayant ses propres méthodes et applications.

III.1.2.1. Phytothérapie traditionnelle

La phytothérapie traditionnelle est utilisée depuis des siècles dans différentes cultures pour traiter les maladies. Elle est basée sur les connaissances et les pratiques transmises de génération en génération. Les plantes sont souvent utilisées en combinaison pour renforcer leur effet (**Azouaou et al., 2020**).

III.1.2.2. Phytothérapie occidentale

La phytothérapie occidentale est basée sur les connaissances scientifiques modernes et utilise les extraits de plantes pour traiter les maladies. Elle est souvent utilisée en complément de la médecine conventionnelle (**Beddar et al., 2021**).

III.1.2.3. Phytothérapie chinoise

La phytothérapie chinoise est utilisée depuis des milliers d'années en Chine pour traiter les maladies. Elle est basée sur le principe de l'équilibre énergétique du corps. Les plantes sont souvent utilisées en combinaison pour renforcer leur effet (**Burner et al., 2023**).

III.1.2.4. Aromathérapie

L'aromathérapie utilise les huiles essentielles pour prévenir, traiter ou soulager les symptômes de différentes affections. Elle est souvent utilisée en complément de la phytothérapie (**Chabenat et al., 2021**).

III.1.2.5. Gemmothérapie

La gemmothérapie utilise les extraits de bourgeons, d'écorce et de jeunes pousses de plantes pour prévenir, traiter ou soulager les symptômes de différentes affections. Elle est souvent utilisée en complément de la **phytothérapie (Delarue, 2020)**.

III.1.3. Phytothérapie des plantes médicinales

La phytothérapie, qui consiste à utiliser des plantes médicinales pour traiter et prévenir les maladies, a une longue histoire qui remonte à l'Antiquité (**Kabahoum et al., 2021**).

III.1.3.1. Antiquité

Les premières traces de l'utilisation des plantes médicinales remontent à l'Égypte antique, où des herbes étaient utilisées pour traiter diverses affections. Les anciens Grecs et Romains ont également contribué à l'histoire de la phytothérapie, notamment avec les travaux d'Hippocrate et de Dioscoride (**Kabahoum et al., 2021**).

III.1.3.2. Moyen Âge

Pendant cette période, les Arabes ont traduit les textes grecs et romains sur les plantes médicinales et ont ajouté leurs propres connaissances à la matière, contribuant ainsi à la phytothérapie moderne (**Kabahoum et al., 2021**).

III.1.3.3. Renaissance

Au cours de cette période, la phytothérapie a continué de se développer, notamment grâce aux travaux de Paracelse, un médecin suisse qui a utilisé des plantes pour traiter diverses maladies (**Kabahoum et al., 2021**).

III.1.3.4. 19e et 20e siècles

Avec l'avènement de la médecine moderne, la phytothérapie est devenue moins populaire. Cependant, au cours des dernières décennies, elle a connu un regain d'intérêt, notamment en raison de la recherche scientifique qui a permis de mieux comprendre les mécanismes d'action des plantes médicinales (**Kabahoum et al., 2021**).

III.1.4. Phytothérapie en Algérie

La phytothérapie en Algérie est une pratique traditionnelle très répandue qui consiste à utiliser les plantes médicinales pour traiter différents problèmes de santé. Cette pratique est ancrée dans la culture et la tradition algérienne, et a été transmise de génération en génération.

En **2020**, une étude menée a documenté l'utilisation de 50 plantes médicinales dans la région de Batna. Les plantes les plus utilisées étaient *Mentha pulegium* (month pouliot, localement « flio »), *Rosmarinus officinalis* (Romarin, « Iklil eldjabel » en arabe), *Artemisia herba-alba* (Armoise herbe blanche, il est appelé « Echih blanc » localement) et *Citrullus colocynthis* (Coloquinite vraie ou « Elhandhel » en arabe) (**Rehab, 2020**).

Une étude menée en 2021 a documenté l'utilisation de 54 plantes médicinales par les habitants de la région d'Ouargla pour traiter différentes affections. Les plantes les plus utilisées étaient *Zizyphus lotus*, *Punica granatum*, *Lavandula stoechas* et *Capparis spinosa* (**Kabahoum et al., 2021**).

Une autre étude menée en **2021** a révélé que les habitants de la région de Skikda utilisaient 38 plantes médicinales pour traiter différents maux. Les plantes les plus utilisées étaient *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalepensis*, *Rosmarinus officinalis* et *Citrullus colocynthis* (**Saidi, 2022**).

En **2019**, une étude menée a recensé l'utilisation de 30 plantes médicinales dans la région de Tamanrasset. Les plantes les plus utilisées étaient *Commiphora africana*, *Fagonia cretica*, *Citrullus colocynthis* et *Artemisia herba-alba* (**Meddour et al., 2022**).

III.1.5. Avantages de la phytothérapie

La phytothérapie présente de nombreux avantages, qui ont été documentés dans plusieurs études scientifiques récentes.

III.1.5.1. Efficacité

De nombreuses plantes médicinales ont des propriétés thérapeutiques avérées, et ont été utilisées avec succès pour traiter différentes maladies depuis des siècles. Des études ont confirmé l'efficacité de certaines plantes médicinales pour traiter des

problèmes de santé spécifiques, comme la curcumine pour réduire l'inflammation ou le ginseng pour améliorer les fonctions cognitives (**Joriteet et al., 2015**).

III.1.5.2. Effets secondaires

Contrairement aux médicaments de synthèse, les plantes médicinales ont souvent moins d'effets secondaires indésirables. Les études ont montré que les plantes médicinales comme le curcuma et le gingembre peuvent réduire la douleur sans provoquer d'effets secondaires graves (**Robert et al., 2013**).

III.1.5.3. Accessibilité

Les plantes médicinales sont souvent moins chères que les médicaments de synthèse, et sont plus facilement accessibles dans les régions où les soins de santé sont limités. Les plantes médicinales sont également souvent utilisées dans les médecines traditionnelles, qui sont souvent plus accessibles et culturellement acceptables pour les populations locales (**Camara et al., 2023**).

III.1.5.4. Polyvalence

Les plantes médicinales peuvent souvent être utilisées pour traiter plusieurs problèmes de santé différents. Par exemple, le curcuma a des propriétés antioxydants, anti-inflammatoires et antimicrobiennes, ce qui en fait un remède polyvalent pour de nombreuses affections (**Tarabet et al., 2017**).

III.1.5.5. Approche holistique

La phytothérapie est souvent associée à une approche holistique de la santé, qui prend en compte les aspects physiques, émotionnels et spirituels de la santé. Les études ont montré que cette approche peut avoir un impact positif sur la santé mentale et physique (**Bagot et al., 2021**).

III.1.5.1. Autres avantages

- Les plantes médicinales contiennent des composés bioactifs avec des propriétés thérapeutiques telles que des effets analgésiques, anti-inflammatoires, antioxydants, etc. (**Bensaid, 2022**).

- La phytothérapie peut être bénéfique pour diverses conditions de santé telles que les maladies chroniques, les troubles du sommeil, l'anxiété, etc. (**Bureau, 2012**).
- Certaines plantes médicinales peuvent être utilisées en complément ou en remplacement des médicaments conventionnels, ce qui peut être avantageux pour les patients préférant les traitements naturels ou ayant des réactions indésirables aux médicaments (**Bureau, 2015**).

III.1.6. Inconvénients de la phytothérapie

Bien que la phytothérapie puisse offrir des avantages pour la santé, il est important de prendre en compte les risques potentiels.

III.1.6.1. Hépatotoxicité

Certaines plantes peuvent causer des dommages hépatiques, en particulier lorsqu'elles sont consommées en quantités excessives ou sur une longue période de temps. Des exemples incluent l'utilisation de l'herbe kava pour traiter l'anxiété, qui a été associée à des cas de lésions hépatiques graves, voire mortelles, ainsi que l'utilisation de certains remèdes à base de plantes chinoises, qui ont également été associés à des dommages hépatiques (**Chabou, 2017**).

III.1.6.2. Interaction avec d'autres médicaments

Les plantes médicinales peuvent interagir avec d'autres médicaments, ce qui peut entraîner des effets indésirables ou une diminution de l'efficacité des médicaments. Par exemple, la prise de ginseng avec des anticoagulants peut augmenter le risque de saignement, et la prise de millepertuis avec des antidépresseurs peut réduire l'efficacité des antidépresseurs (**Chebat et al., 2014**).

III.1.6.3. Contamination et adultération

Les plantes médicinales peuvent être contaminées par des pesticides, des métaux lourds ou d'autres substances toxiques, et elles peuvent également être sujettes à l'adultération avec des ingrédients de qualité inférieure ou des produits chimiques synthétiques. Cela peut avoir des effets néfastes sur la santé des consommateurs (**Ouedraogo et al., 2021**).

III.1.6.4. Effets secondaires

Les plantes médicinales peuvent causer des effets secondaires, tels que des nausées, des vomissements, des diarrhées ou des réactions allergiques. Par exemple, l'utilisation de la camomille peut provoquer des réactions allergiques chez certaines personnes (**Belgacemi, 2019**).

III.1.6.5. Risques pour la santé

Certaines plantes médicinales peuvent présenter des risques pour la santé à long terme, en particulier lorsqu'elles sont utilisées à fortes doses ou sur une longue période de temps. Par exemple, l'utilisation de l'herbe aristoloche chinoise a été associée à un risque accru de cancer de la vessie (**Chebat *et al.*, 2015**).

III.2. Plantes médicinales

III.2.1. Définition

Les plantes médicinales sont des plantes utilisées pour leurs propriétés curatives et thérapeutiques depuis des milliers d'années dans différentes cultures du monde entier. Les composés actifs des plantes médicinales sont connus pour leurs effets bénéfiques sur la santé, tels que des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, antimicrobiennes et anticancéreuses (**Tahri *et al.*, 2012**).

III.2.2. Principes actifs des plantes médicinales

Les principes actifs des plantes médicinales sont les substances qui ont une activité pharmacologique et thérapeutique.

III.2.2.1. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés qui ont une activité pharmacologique variée. Ils peuvent être trouvés dans une grande variété de plantes médicinales, notamment la belladone, le pavot et la digitale. Un exemple d'étude récente sur ce type moléculaire, est représenté dans les alcaloïdes de l'ergot de seigle : mécanismes d'action et applications thérapeutiques (**Djama *et al.*, 2020**).

III.2.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques qui ont des propriétés antioxydants et anti-inflammatoires. Ils peuvent être trouvés dans de nombreux fruits, légumes et plantes médicinales, comme le thé vert, le gingembre et le millepertuis. Une étude récente sur les flavonoïdes est Les flavonoïdes : leurs effets bénéfiques sur la santé et leur potentiel thérapeutique dans le traitement des maladies chroniques (**Harrar, 2018**).

III.2.2.3. Terpènes

Les terpènes sont des composés organiques volatils qui ont des propriétés antibactériennes, antifongiques et anti-inflammatoires. Ils peuvent être trouvés dans de nombreuses plantes médicinales, notamment l'huile essentielle de lavande, d'eucalyptus et de menthe poivrée. Une étude récente sur les terpènes est Les terpènes : des composés naturels avec des propriétés thérapeutiques potentielles (**Fine et al., 2013**).

III.2.2.4. Stéroïdes

Les stéroïdes sont des composés organiques qui ont une activité anti-inflammatoire et analgésique. Ils peuvent être trouvés dans de nombreuses plantes médicinales, comme le curcuma, le ginseng et la réglisse. Une étude récente sur les stéroïdes est Les stéroïdes naturels : une source précieuse de molécules thérapeutiques pour le traitement des maladies inflammatoires (**Nsambu et al., 2014**).

III.2.3. Activités biologiques des plantes médicinales

Les plantes médicinales possèdent diverses activités biologiques bénéfiques pour la santé humaine.

III.2.3.1. Activité antimicrobienne et antifongique

Les plantes médicinales sont souvent utilisées pour leurs propriétés antimicrobiennes, c'est-à-dire leur capacité à inhiber la croissance des microorganismes tels que les bactéries, les champignons et les virus (**Aribi, 2013**).

Plusieurs études ont été rapportées sur l'étude antimicrobienne et antifongique. En effet, l'extrait aqueux des feuilles enrichi en flavonoïdes, ainsi que l'huile essentielle

de cette partie de la plante, ont marqué un effet inhibiteur contre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella enteritidis* (Hayder et al., 2005). Il a été démontré que l'extrait d'acétate d'éthyle de la gomme du mastic de *Pistacia lentiscus* a une activité antimicrobienne plus significative contre *S. mutans* *in vitro* et *in vivo*, démontrant ainsi son utilisation dans la prévention des caries, et qui a été confirmée dans une étude clinique sur 25 bénévoles à parodonte saine (Aksoy et al., 2006).

De plus, les extraits bruts obtenus à partir des feuilles de *Pistacia lentiscus*, ont inhibé de manière significative la croissance de deux champignons pathogènes agricoles, *Penicillium ultimum* et *Rhizoctania solani* (Kordali et al., 2003).

III.2.3.2. Activité antioxydante

Les plantes médicinales riches en composés antioxydants peuvent aider à neutraliser les radicaux libres et à réduire les dommages causés par le stress oxydatif dans l'organisme (Boukerika et al., 2019).

III.2.3.3. Activité anti-inflammatoire

Certaines plantes médicinales présentent des propriétés anti-inflammatoires, ce qui signifie qu'elles peuvent réduire l'inflammation dans le corps, souvent associée à des affections telles que l'arthrite et les maladies cardiovasculaires (Bayala, 2014).

III.2.3.4. Activité antiulcéreuse

L'évaluation de l'activité antiulcéreuse du mastic du tron de *Pistacia lentiscus*, a indiqué qu'il ya une réduction significative de l'intensité des lésions de la muqueuse gastrique a une dose orale de 500 mg/kg (Al said et al., 1986). Récemment, cette activité a été révélée, en utilisant des extraits de feuilles de cette plante (Dellai et al., 2013).

III.2.3.5. Activité cytoprotective

Les extraits bruts de feuilles et de fruits de *Pistacia lentiscus* L. ont démontré un effet cryoprotecteur significatif avec une protection maximale à 100ug/ml. Des composés phénoliques (quercétine et acide gallique) ont également augmenté de façon significative la viabilité des cellules exposées aux H₂O₂ (Remila et al., 2015).

III.2.3.6. Activité anticancéreuse

L'évaluation de l'activité anticancéreuse des extraits de feuilles et de fruits de *Pistacia lentiscus L.*, a indiqué qu'il y a une inhibition de la croissance des lignées cellulaires du mélanome (B16F10), à une concentration de 100 ug/mL (**Remila et al., 2015**).

III.2.3.7. Activité hypocholestérolémiant

L'évaluation de l'activité hypocholestérolémiant des extraits aqueux et éthanolique de *Pistacia lentiscus* à une dose de 200 mg/kg, sur des animaux ayant un régime riche en cholestérol pendant 30 jours consécutifs, a indiqué après la mesure de certains paramètres lipidiques, qu'il ya une diminution significative du cholestérol total, triacylglycérides et des lipoprotéines (**Cheurfa et Allem, 2015**).

III.2.3.8. Activité antidiabétique

La médecine traditionnelle a choisi les tisanes des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* et nombreuses autres formes galéniques de cette plante (Extraits ou poudre nutritionnelle) comme une solution secondaire pour réduire le temps de glycémie, avec traitement de longue durée. Il existe une relation directe entre les substances actives de *P. lentiscus* et la prévention contre les dommages aux cellules responsables de la production et de la sécrétion d'insuline (**Maxia A et al., 2011 ; Mehenni C et al., 2016 ; Cherbal A et al., 2017**).

III.2.4. Toxicité des plantes médicinales

La toxicité des plantes médicinales peut varier en fonction de différents facteurs, y compris la partie de la plante utilisée, la dose administrée et la manière dont elle est préparée. Certaines plantes médicinales peuvent être toxiques lorsqu'elles sont utilisées incorrectement ou à des doses excessives.

➤ Belladone (*Atropa belladonna*) :

La belladone est une plante connue pour ses propriétés médicinales, mais elle contient des alcaloïdes toxiques tels que l'atropine et la scopolamine, qui peuvent avoir des effets néfastes sur le système nerveux (**Aubry, 2012**).

➤ **Digitale pourpre (*Digitalis purpurea*) :**

La digitale pourpre est utilisée pour ses propriétés cardiotoniques, mais elle contient des glycosides cardiaques tels que la digoxine et la digitoxine, qui peuvent être toxiques à des doses élevées (**Sara, 2019**).

➤ **Consoude (*Symphytum officinale*) :**

La consoude est utilisée pour ses propriétés cicatrisantes, mais elle contient des alcaloïdes pyrrolizidiniques qui peuvent endommager le foie et les poumons lorsqu'ils sont consommés à long terme (**Leleu, 2022**).

III.3. Présentation de *Pistacia lentiscus L.* étudiée

III.3.1. *Pistacia lentiscus L.*

Pistacia lentiscus L., pistachier lentisque, ou lentisque est appelé aussi arbre au mastic car sa sève est utilisée pour la réalisation d'une gomme à odeur prononcée (Arif *et al.*, 2018). *Pistacia lentiscus L.* est un arbuste méditerranéen à feuillage persistant appartenant à la famille des Anacardiaceae, C'est un plante médicinale traditionnelle de la zone méditerranéenne, couramment utilisée par les populations rurales en Algérie (Khelili *et al.*, 2022). Le pistachier lentisque peut s'adapter à des conditions pédoclimatiques difficiles, comme la sécheresse ou un sol calcaire (Bettaoula *et al.*, 2017).



Figure 08 : Feuilles de *Pistacia lentiscus L.* (Ben Douissa, 2004).



(a) : fruits



(b) : résine

Figure 09 : Fruits et résine de *Pistacia lentiscus* L. (Ben Douissa, 2004).

III.3.2. Etude botanique

Dans cette partie, nous présentons un aperçu bibliographique de la plante médicinale *Pistacia lentiscus* L. et de ses molécules bioactives, suivi d'une étude sur les aspects botaniques, biologiques et pharmacologiques de cette plante médicinale (Samah *et al.*, 2021).

III.3.2.1. Description botanique

Le nom "*Pistacia lentiscus* L." (Appelé "Drw" en arabe local de l'ouest algérien) provient du latin "Pistakia" et "lentiscus", désignant respectivement la plante et l'arbre au mastic (Namoune *et al.*, 2017). Est un arbuste à trois branches. Haute de plusieurs mètres, à forte odeur résineuse piquante (Boudechiche *et al.*, 2015).

La plante *Pistacia lentiscus* L. est largement utilisée en médecine traditionnelle et a fait l'objet de nombreuses études phytochimiques pour identifier ses ingrédients actifs, provenant de différentes parties de la plante. Le genre *Pistacia* appartient à la famille des Anacardiaceae ou Pistaciaceae (Belmerabet *et al.*, 2018).

En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces : *Pistacia lentiscus* L., *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera*, *Pistacia atlantica*. On le trouve dans tous les sols subhumides et semi-arides, plus précisément dans le bassin du Sunman en association avec les pins d'Alep, les chênes verts et les chênes lièges.

Parmi les espèces du genre *Pistacia*, le *Pistacia lentiscus* L. est un arbuste très répandu dans notre pays qui est très utilisé pour ses propriétés médicinales (Djedaia *et al.*, 2017). Il est fréquent de trouver *Pistacia lentiscus* L. associé à l'oléastre (olivier

sauvage) dans les milieux les plus chauds du climat méditerranéen, où il est particulièrement répandu.

III.3.2.2. Taxonomie

La classification taxonomique de *P. lentiscus* est résumée dans le tableau ci-dessous :

Tableau 03 : Classification de *Pistacia lentiscus* L. (Kermezli et al., 2020).

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Sapindales (Rutales)
Famille	Anacardiaceés- Térébinthacées
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia lentiscus</i> L.

Le genre *Pistacia* comprend 10 autres espèces, dont *Pistacia vera*, la seule espèce cultivée pour la consommation humaine et le pistachier le plus important économiquement. Comme c'est le cas pour *Pistacia lentiscus* L., certaines de ces espèces présentent des propriétés thérapeutiques en médecine traditionnelle dans leur pays d'origine (Barkaoui et al., 2022).

III.3.2.3. Noms vernaculaires et systématique de *Pistacia lentiscus* L

Cette espèce a plusieurs noms nationaux spécifiques (Fernandes et al., 2022 ; Li et al., 2021) (tableau 3)

Tableau 04 : Noms nationaux de *P. lentiscus* (Fernandes et al., 2020 ; Li et al., 2021).

Est algérien	Gadhoun
---------------------	----------------

Afrique du nord	<i>Derw, darw, drw (arabe)</i>
Allemagne	<i>Mastixbaum</i>
France	<i>Arbre au mastic, Lentisque</i>
Berbère	<i>Tidekt, Tidekst</i>
Angleterre	<i>Chios mastic tree</i>
Espagne	<i>Lentisco</i>

III.3.2.4. Composition chimique de *Pistacia lentiscus L.*

En raison de son utilisation fréquente en médecine traditionnelle, les différentes parties de *Pistacia lentiscus L.* ont fait l'objet de nombreuses études phytochimiques visant à identifier leurs principes actifs. Les recherches ont été principalement concentrées sur le mastic et ont révélé la présence de flavonoïdes, d'huile essentielle et de triterpénoïdes (Djedaia *et al.*, 2017).

➤ Feuilles

Le feuillage de *Pistacia lentiscus L.* se compose de folioles entières aux bords bordés de nervures secondaires parallèles. L'analyse montre des leuco-anthocyanines, des saponosides, des sénosides, des alcaloïdes et des tanins totaux très élevés dans les feuilles, une teneur élevée en tanins galliques et flavonoïdes et une teneur moyenne en glucosides (Kenoufi *et al.*, 2018).

Une étude menée en 2020 a montré que les feuilles de *Pistacia lentiscus L.* sont riches en leuco-anthocyanes, saponosides, sénosides, alcaloïdes et tannins totaux, avec une concentration élevée de tannins galliques et flavonoïdes et une teneur modérée en glucosides. Les feuilles jeunes de *Pistacia lentiscus L.* méditerranéen ont un taux plus élevé d'azote et de tanins, mais moins de glucides par rapport aux feuilles mûres (Rahiche *et al.*, 2020).

D'après Belhattab (2018), la composition chimique des feuilles est marquée par la présence de glycosides de flavanols tels que la quercétine, la lutéoline et l'isoflavone génistéine. Il contient également 6 à 7% de gallo-tannins de faible poids moléculaire, tels que l'acide gallique et les dérivés d'acide quinique 5-O-, 3,5-O-di- et 3, 4,5-O-tri-galloyl. D'autre part, les fruits de cette plante riches en composés phénoliques ont montré des

activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes potentielles (**Belhattab, 2018**).

En **2021**, une équipe a mis en évidence la présence de composés triterpénoides dans les feuilles de *Pistacia lentiscus L.*, notamment l'acide ursolique, l'acide oléanolique et l'acide maslinique. Ces composés ont montré des activités anti-inflammatoires, antioxydantes et anticancéreuses (**Achili et al., 2021**).

Les feuilles de *Pistacia lentiscus L.* ont une composition chimique caractérisée par la présence de glycosides de flavanols tels que la quercétine, la myricétine et la lutéoléine ainsi que l'isoflavone génistéine. Elles contiennent également 6 à 7% de gallo-tannins de faible poids moléculaire, notamment l'acide gallique et les dérivés d'acide quinique 5-O-, 3,5-O-di- et 3,4,5-O-trigalloyl (**Samah et al., 2021**).

Aussi, des travaux de recherche ont révélé la présence de composés coumariniques dans les feuilles de *Pistacia lentiscus L.*, tels que la fraxétine et l'umbelliférone (**Benmeggoura et al., 2021**).

III.3.4. Activités biologiques de *Pistacia lentiscus L*

Pistacia lentiscus L. est une plante méditerranéenne qui a été étudiée pour ses propriétés biologiques dans de nombreuses recherches récentes. Plusieurs études ont rapporté des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, antimicrobiennes, antifongiques et anti-diabétiques des extraits de différentes parties de la plante, notamment les feuilles, les fruits et la résine.

Les différents extraits présentent des propriétés anti-inflammatoires inhibant la production de cytokines pro-inflammatoires (**Saidi, 2018**). Les extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus L.* ont une forte activité antioxydante et une capacité à protéger les cellules contre le stress oxydatif (**Bouamoucha et al., 2021**).

Des études *in vitro* ont également montré que les extraits de fruits de *Pistacia lentiscus L.* ont des propriétés antimicrobiennes et antifongiques contre divers pathogènes. Une étude publiée en **2022** a montré que les extraits de résine de la plante ont une activité antidiabétique, en régulant les niveaux de glucose sanguin chez les souris diabétiques (**Henni et al., 2022**).

Ces études suggèrent que *Pistacia lentiscus L.* à un grand potentiel en tant que source naturelle de composés bioactifs pour une utilisation dans diverses applications pharmaceutiques et nutraceutiques (**Belkazai et al., 2017**).

Dans une étude publiée sur the journal of biochemistry of nutrition en **2017**, le type végétal *Pistacia sp* a une action bénéfique pour moduler la sécrétion intestinale d'origine microbienne, l'étude a démontré que la consommation chronique de *Pistacia*, dans le cadre d'une alimentation saine, modifie le profil urinaire sur 24 h des métabolites liés au microbiote intestinal chez les sujets prédiabétiques. Ces changements dans le métabolome urinaire étaient dans le sens attendu selon un effet bénéfique de la consommation de *Pistacia* sur la résistance à l'insuline et le diabète de type 2 (**Pablo Hernández-Alonso et al., 2017**).

Deuxième partie

Recherche
Expérimentale

Chapitre I

Matériel et Méthodes

I.1. Lieu et objectifs de l'étude

I.1.1. Lieu de l'étude

Étant donné que l'ensemble des recherches menées dans cette thèse scientifique reposait sur plusieurs parties : phytochimiques, analytiques, cliniques, microbiologiques, biochimiques et moléculaires, une étude comparative précisée a été menée sur la base du microbiote intestinal et de ses dynamiques en présence d'une des plantes médicinales, sur laquelle s'appuyait la médecine traditionnelle, *Pistacia lentiscus* L. Il s'agit d'évaluer l'effet de cette plante sur l'homostasie intestinale au cours d'un diabète de type 2. L'étude s'est déroulée sur une période de plus de cinq ans, médiatisée par les deux années de la pandémie de Covid-19.

Le travail expérimental a été réalisé dans le laboratoire de Bioconversion, Génie Microbiologique et Sécurité Sanitaire, de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Mustapha Stambouli de Mascara. Les volontaires ont été sélectionnés de l'établissement public hospitalier de Ain Tadles de la wilaya de Mostaganem, les centres de phytothérapie, les magasins d'herboristeries et les maisons de traitement phytothérapeutique sont les principaux lieux dont l'étude ethnobotanique a été entreprise dans plusieurs Wilaya, surtout de l'ouest algérien.

I.1.2. Objectifs de l'étude

L'objectif fondamental de ce travail est l'étude de l'effet phytothérapeutique des feuilles de *Pistacia lentiscus* L., récoltée dans la région de l'ouest algérien, largement utilisée en médecine traditionnelle, dans un but est la modulation et la restauration du microbiote intestinal, afin d'améliorer les variations de facteur métabolique responsable de provoquer l'hyperglycémie chronique chez des sujets diabétiques de type 2.

A cet égard, les objectifs secondaires résumés ci-dessous ont été abordés en trois grandes parties complémentaires.

Une partie d'étude ethnobotanique, phytochimique et antioxydante, consacrée à :

- Étude ethnobotanique de la plante *Pistacia lentiscus* L.
- Etude phytochimique de l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. récoltées dans le Nord-Ouest Algérien (Mascara et Mostaganem).

- Etude de l'activité antioxydante *in vitro* des deux extraits méthanoliques de *P. lentiscus* étudiés

Une deuxième partie consacrée à l'étude de la toxicité et l'anti-inflammatoire, portant sur :

- Evaluation de la toxicité *in vitro* (effet hémolytique), et *in vivo* (sur le modèle rat Wistar).
- Etude de l'activité anti-inflammatoire l'extrait méthanolique de la plante étudiée *in vitro* (effet antihémolytique et dénaturation de l'ovalbumine) puis *in vivo* (sur le modèle rat Wistar).

Une troisième partie pour l'étude microbiologique, consacrée à :

- Etude microbiologique qualitative et quantitative de microbiote fécal isolé chez deux groupes des personnes (groupe de diabétiques de type 2 et un groupe de sujets sains ou normaux) et la caractérisation de l'antibiorésistance des germes isolés et identifiés.
- Evaluation antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* sélectionné : étude de la cinétique de croissance microbienne, étude de la production des exopolysaccharides et étude de l'hydrophobicité des bactéries isolées et identifiées chez les deux groupes étudiés avec et sans traitement phytothérapeutique.
- Evaluation de l'effet anti-adhésion et antibiofilm de l'extrait étudié *in vitro*

I. 2. Matériel

I.2.1. Patients

L'étude a été menée sur des patients souffrants de maladie métabolique chronique (diabète de type 2), et sur des personnes volontaires saines. Le choix de l'échantillonnage s'est porté sur la matière fécale des patients et des volontaires, ce qui reflète le microbiote intestinal.

Au total 20 personnes ont été sélectionnées pour cette étude selon les critères suivants :

a- Critères d'inclusion

Dans cette étude et quelque soit le groupe, sont inclus des adultes (Homme), âges entre 25 à 45 ans, et qu'ils n'avaient suivi aucun traitement médicamenteux (antibiotiques,

antiinflammatoires, ...), durant la période qui précède le prélèvement (trois mois). Pour les patients diabétiques sont retenus uniquement ceux souffrants du diabète de type 2, et ayant répondu à la fiche d'exploitation (**Annexe 01**).

b- Critères d'exclusion

Toute personne dont l'âge est supérieure à 45 ans, femme, ayant des maladies infectieuses aiguës ou chroniques et/ou des pathologies intestinales et/ou de problèmes de santé pouvant influent sur le microbiote intestinal (diarrhée, constipation, gastroentérite).

c- Considération éthique

Les patients choisis ont été enrôlés dans cette étude ont signé le consentement éclairé. Les informations ont été recueillies dans le respect de la confidentialité et de l'anonymat.

I.2.2. Matériel animal

Des rats Albinos Wistar mâles et femelles ont été fournis par l'Institut Pasteur d'Alger pour l'étude *in vivo*, pour étudier la toxicité aiguë de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus L.* ainsi que l'étude de l'activité antiinflammatoire de cette plante.

Le nombre des rats pour ce travail a été limité à (n = 24) pour chaque sexe.

I.2.2.1. Élevage des rats

Le poids des rats Albino Wistar femelles et mâles a été pesé et enregistré par poids moyenne de 150 ± 50 g. L'élevage des animaux a été effectué dans la ferme expérimentale de la Faculté des sciences de la Nature et de la Vie de l'université Mustapha Stambouli de Mascara, où la température moyenne a été comprise entre 24 et 32°C, où un cycle photopériodique de lumière et d'obscurité de 12 heures a été respecté durant toute la période de nos travaux. Les rats ont été logés dans des cages en plastique, chacune contenant six rats du même sexe et fournissant de la nourriture et de l'eau à la demande. La sciure a été utilisée comme une litière, qui a été changée deux fois par semaine pour assurer la bonne santé des animaux.

I.2.3. Matériel végétal

Pistacia lentiscus L., ou comme on l'appelle « Dharw » dans l'ouest algérien, a été identifiée comme source thérapeutique naturelle pour mener une série d'expériences correspondant à notre étude.

I.2.2.1. Récolte de la plante

Les parties aériennes du matériel végétal (feuilles) de *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) (AL-Saghir MG et Porter DM, 2012) (Fig. 2.a) ont été récoltées dans deux régions de l'Ouest algérien, Mesra (Willaya de Mostaganem) et Mohammedia (Willaya de Mascara) (Fig. 2.b) en 2018. Cette plante a été identifiée par un botaniste du département de Biologie de l'Université de Mascara. Un spécimen référencé, *AN00001*, a été introduit dans la base WAMAP de notre Laboratoire de Bioconversion, Génie Microbiologique et Sécurité Sanitaire (LBGMSS).



Figure 10: *Pistacia lentiscus* L. (Darw) collecté à Mesra. Mostaganem (Algeria).

➤ Situation géographique de Mesra

Mesra est une commune de la wilaya de Mostaganem, située à 13 km au sud-est de la ville de Mostaganem, représentée par le point 35°50'31.5''N et 0°09'58.8''E selon l'image prise par **Google Maps**, cette région se caractérise par un climat humide (**figure 02.a**).

➤ Situation géographique de Mohammedia

Mohammedia est une commune de la wilaya de Mascara, représentée par le point 35°34'03.6''N et 0°03'19.9''E selon la carte de **Google Maps**, elle se caractérise par un climat semi-aride, sec et chaud (**figure 02.b**).

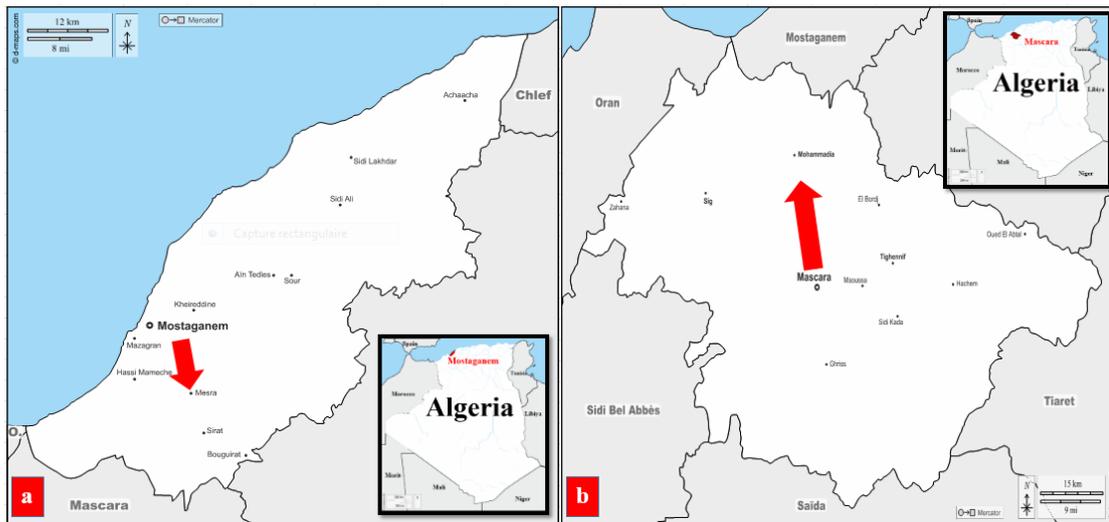


Figure 11 : Localisation géographique de *Pistacia lentiscus* L. (d-maps.com, 2022).

I.2.3. Matière fécale

Des échantillons de matière fécale fraîche ont été prélevés aseptiquement chez chaque sujet (diabétique de types 2 et sain) dans des boîtes stériles de copro-bactériologie. Les échantillons ont été transportés immédiatement au laboratoire de microbiologie pour des analyses microbiologiques. Une série des microorganismes ont été isolés et identifiés.

I. 3. Méthodes d'étude expérimentale

I.3.1. Etude ethnobotanique de *P lentiscus* L.

Cette étude statistique de *Pistacia lentiscus* L. a été menée auprès de trois catégories de personnes : les phytothérapeutes, les herboristes et les thérapeutes traditionnels dans le nord-ouest de l'Algérie à l'aide d'une fiche questionnaire (**Annexe 2**), des enquêtes ethnobotaniques de terrain ont été menées pendant 3 mois. L'approche des catégories d'interviewés était basée sur le dialogue en langue locale sur :

- Informations sur la plante.
- Option professionnelle des experts de terrain.
- Régions de la collecte d'informations.
- Âge et sexe des thérapeutes qui utilisent cette plante dans leurs préparations.

- Taux d'utilisation sanitaire de la plante (thérapeutique, cosmétique, préventive ou gustative alimentaire).
- Partie utilisée de la plante (feuilles, fruits, partie aérienne ou résines).
- Etat utilisable de la plante (sèche ou fraîche).
- Saisons de récolte de cette plante pour l'utilisation médicinale traditionnelle.
- Mode d'emploi (tisane, poudre, huile essentielle, huile grasse ou extraits).
- Mode d'administration (voie orale, massage, rinçage ou brossage).
- Habitude de pratiquer (infusion, décoction, inhalation ou usage externe).
- Maladies traitées après administration orale.
- Maladies traitées après administration par la voie respiratoire.
- Maladies traitées après administration par les voies externes.
- Utilisations cosmétiques de la plante.
- Pratique d'utilisation des tisanes (décoction et infusion).
- Traitement du diabète par la plante (*Pistacia lentiscus*).

I.3.2. Etude phytochimique de *Pistacia lentiscus* L.

I.3.2.1. Préparation de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus*

Les feuilles séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue a été stockée dans des boîtes en verre à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité. L'extrait méthanolique a été préparé par la méthode de macération à froid (**Pavithra PS et al., 2009**) en plaçant 25 g de poudre de *P. lentiscus* L. de chaque variété dans 250 mL de méthanol sous agitation pendant 24 heures à température ambiante, suivi d'une filtration sur papier Wattman. Le solvant a été évaporé, en suite l'extrait a été dissous par l'eau distillée et lyophilisé pour obtenir une poudre puis conservée dans un récipient en verre teinté jusqu'à utilisation (**Genwali G et al., 2013**).

I.3.2.1.1. Détermination du rendement

Le rendement a été exprimé en pourcentage selon la formule en dessous : (**Fellah H et al., 2008**).

$$R (\%) = (m_{ex}/m_p) * 100.$$

m_{ex} : Masse en grammes de l'extrait sec obtenu.

m_p : Masse sèche en grammes de poudre végétale à traiter.

I.3.2.2. Analyse phytochimique qualitative (Screening phytochimique)

Le criblage phytochimique est une étude qualitative visant à rechercher les principaux groupes chimiques (tanins, alcaloïdes, flavonoïdes, anthraquinones libres, anthocyanes, triterpènes, saponines, terpénoïdes, stéroïdes, alcaloïdes et composés réducteurs) contenus dans l'extrait végétal. Les réactions de précipitation et de complexation avec formation de complexes insolubles et colorés sont des tests indispensables à la caractérisation (**Trease GE et Evans WC, 1987 ; Manish T et Rema S, 2006 ; Bammou M et al., 2015**).

I.3.2.2.1. Révélation des tanins

Les tanins ont été détectés par le test au chlorure de fer (FeCl). Dans un tube à essai, ajouter 1 ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ à 2% à 5 mL de chaque extrait. Une coloration verdâtre ou bleue noirâtre a été signifié consécutivement la présence de tanins catechiques ou galliques.

I.3.2.2.2. Révélation des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été réalisés par le test de **Shibata**. Un mélange de 5 mL d'extrait, 1 mL de HCl concentré et copeaux de Mg. La présence des flavonoïdes a été détectée par une coloration rouge rose montrant après 3 minutes.

I.3.2.2.3. Révélation des anthraquinones libres

Grace à l'interaction de **Borntrager**, la détection qualitative des anthraquinones a été obtenue en versant 2.5 mL de NH₄OH à 20% en plus de 5 mL de l'extrait. La présence d'anthraquinones libres a été déterminée par une coloration plus ou moins rouge après agitation.

I.3.2.2.4. Révélation des anthocyanes

Obtenir d'une coloration bleu violacé a été prouvé la présence des anthocyanes après une réaction d'1 mL d'extrait avec 1 mL de H₂SO₄ à 10% et 1 mL d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH).

I.3.2.2.5. Révélation des saponines

Le test de mousse a été un déterminant essentiel des saponines, cela a été fait en mettre 2 mL de l'extrait dans un tube à essai à analyser auquel 2 mL d'eau distillée chaude a été ajoutés sous agitation durant 20 secondes, Une partie de la mousse flottante a été formée en 15 minutes prouvant de la présence du composé souhaité.

I.3.2.2.6. Révélation des stérols et triterpènes

Les stérols et triterpènes ont été détectés par la réaction de **Liebman Burchardt**. En plaçant 5 mL d'extrait dans bécher, puis en versant le même volume à chaque réactif ; d'anhydride acétique et de chloroforme, avec l'ajout de 1 mL d'acide sulfurique concentré dans la paroi du bécher sans agiter. Durant 20 minutes de repos, la présence des composés souhaités a été révélée par apparence d'une coloration violette de la couche surnageante et d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides.

I.3.2.2.7. Révélation de terpénoïdes

Selon le test de **Salkowski**, 2.5 mL de l'extrait à analyser a été déposée dans un tube à essai, puis 0.4 mL de chloroforme et 0.6 mL d'acide sulfurique concentré ont été ajouté, consécutivement. La présence du composé recherché a été démontrée par la formation d'un anneau rouge interphase.

I.3.2.2.8. Révélation des stéroïdes

1mL de l'extrait à explorer a été rempli dans un tube à essai, 3 gouttes d'anhydride acétique et une goutte d'acide sulfurique concentré ont été versées. La présence des stéroïdes a été indiqué par une coloration brune apparaît au lieu de verte foncée.

I.3.2.2.9. Révélation des composés réducteurs

1mL de l'extrait à explorer a été mise dans un tube à essai, puis 1mL de liqueur de **Fehling** (une préparation assurée par mélange de 0.5mL du réactif A et 0.5mL du réactif B) a été ajouté. Après 8 minutes d'incubation dans un bain marie bouillant, le composé recherché a été détecté par l'apparition d'un précipité rouge brique.

I.3.2.2.10. Révélation des alcaloïdes

Le test de **Wagner** a confirmé la présence des alcaloïdes par son résultat positif d'apparition d'un précipité blanc jaune. En ayant ajouté un volume de réactif de **Wagner** à même volume de l'extrait à tester dans un tube à essai. La préparation de réactif de **Wagner** a été faite en ayant mélangé de 0.2 g d'iodure de potassium et 0.127 g d'iode avec 10 mL d'eau distillée.

I.3.2.3. Analyses phytochimiques quantitatives

Les tests de quantification des métabolites secondaires végétaux ont été réalisés pour l'extrait méthanolique des deux variétés de *Pistacia lentiscus L.* Le dosage a été réalisé sur trois molécules organiques essentielles et actives : les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés.

I.3.2.3.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

La quantification des polyphénols totaux a été réalisée par une méthode basée sur **Folin Ciocalteu (Georgé S et al., 2005)**. Une concentration estimée de 1 mg/mL d'extraits a été utilisée, le mélange initial préparé en combinant 0.1 mL de l'extrait à analyser et 2 mL d'une solution de carbonate de sodium à 2 %. Agiter le tout et incubé à température ambiante pendant 5 minutes. 0.1 mL de réactif de **Folin Ciocalteu 0.2 N** a été ajouté et incubé dans l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 760 nm pour tracer la courbe d'étalonnage en ayant utilisé de l'acide gallique à différentes concentrations finales (500, 250, 125, 62.5 et 31.25 ug/mL). Les teneurs en phénols totaux dans les extraits ont été exprimées en milligrammes (mg) d'équivalent d'acide gallique par gramme (g) de poids du poids sec (mg EqAG/g ES) (**Singleton VL et al., 1999**).

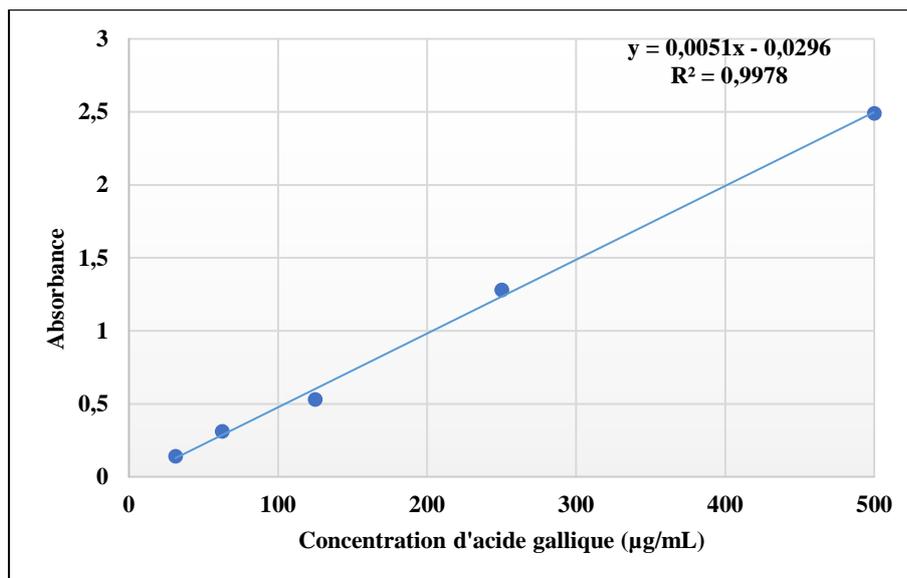


Figure 12 : Courbe d'étalonnage d'absorbance déterminant la dose équivalente des polyphénols par acide gallique.

I.3.2.3.2. Détermination des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes totaux ont été quantifiés par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium et à la soude (**Barros LV de et al., 2011**). Utilisation d'une concentration estimée d'extraits (1 mg par 1 mL). Le mélange initial a été préparé en combinant 0,5 mL de l'extrait à analyser et 2 mL d'eau distillée en trois stations, en commençant par ajouter 150 µl de la solution de nitrite de sodium à 15 %. Après incubation à température ambiante pendant 6 minutes, 150 µL de chlorure d'aluminium à 10 % ont été ajoutés et incubés dans les mêmes conditions. Ensuite, l'opération a été complétée avec 2 ml de soude à 4% et ajusté le volume total à 5 ml avec de l'eau distillée. Le mélange final a été agité et incubé à température ambiante pendant 15 minutes. Enfin, l'absorbance a été lue à 510 nm. Une gamme standard a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la quercitrine comme contrôle positif à différentes concentrations finales (500, 250, 125, 62.5 et 31.25 ug/mL) pour tracer la courbe d'étalonnage, où la dose de flavonoïdes totaux a été exprimée en milligrammes (mg) d'équivalents quercitrine par gramme (g) de poids d'extrait sec (mg EqCat/g ES)(**Zhishen J et al., 1999 ; Ardestani A et YazdanparastR, 2007 ; El Atki Y et al., 2019**).

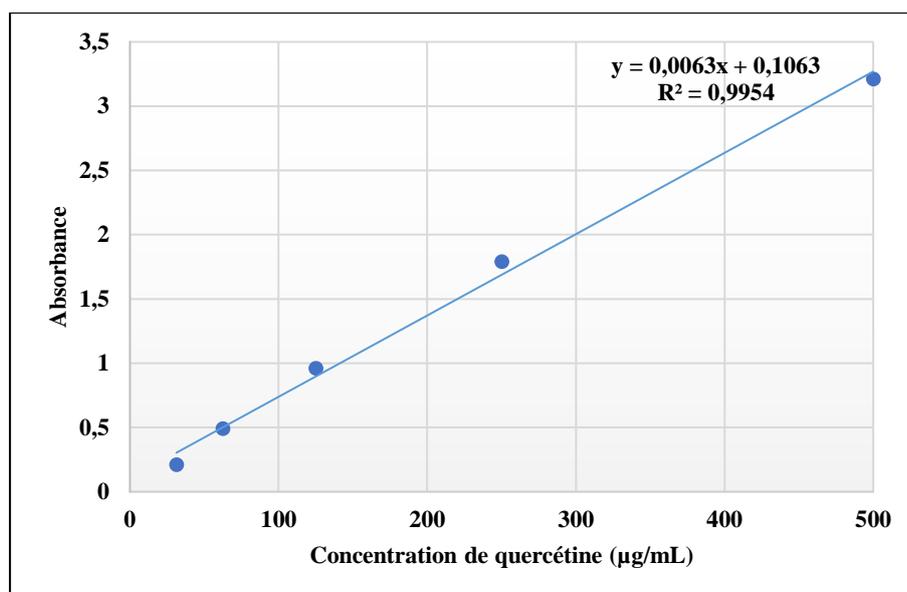


Figure 13 : Courbe d'étalonnage d'absorbance déterminant la dose équivalente des flavonoïdes par quercétine.

I.3.2.3.3. Dosage des tanins condensés

La méthode à la vanilline a été utilisée pour la quantification des tanins en milieu acide (**Julkunen-Titto R, 1985**). Utilisation d'une concentration estimée d'extraits (1 mg par 1 mL). Le mélange initial a été préparé en combinant 50 µL de l'extrait à analyser et 1,5 mL de la solution de vanilline/méthanol de concentration fixé à 4% (p/v) à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 µL d'acide chlorhydrique concentré ont été ajoutés et incubés pendant 20 minutes à température ambiante. L'absorbance a été lue à 550 nm. La quantité de tanins a été estimée en milligrammes (mg) d'équivalents catéchine par gramme (g) de poids d'extrait sec (mg EqCat/g ES) à partir de la courbe d'étalonnage basée sur les concentrations réduites (500, 250, 125, 62.5 et 31.25 ug/mL) de catéchine (**Boudiaf K, 2006**).

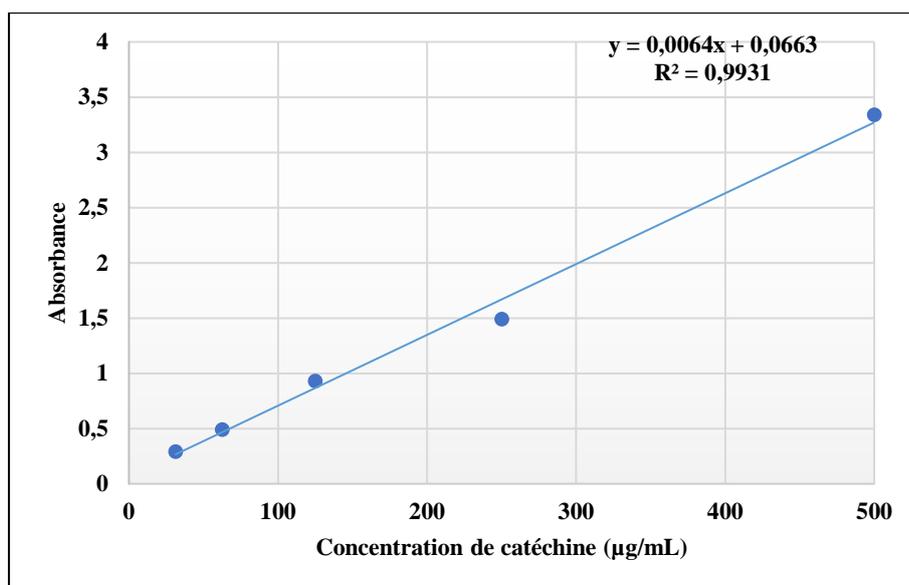


Figure 14 : Courbe d'étalonnage d'absorbance déterminant la dose équivalente des tanins condensés par catéchine.

Le calcul des différentes concentrations a été fait après avoir dressé les courbes correspondant à chaque élément étudié parmi les trois métabolites secondaires.

La corrélation entre les différents points d'absorbance en fonction de la concentration pour chaque inducteur de calibrage (acide gallique, quercétine et Catéchine) a été traduite dans les **figures 12**(polyphénols totaux), **figure 13**(Flavonoïdes totaux) et **figure 14**(tanins condensés). Les équations de corrélation pour cette analyse ont été résumées en dessous :

- **Acide gallique** : $y = 0,0051x - 0,0296$ avec $R^2 = 0,9978$, pour déterminer la concentration des polyphénols.
- **Quercétine** : $y = 0,0063x + 0,1063$ avec $R^2 = 0,9954$, pour déterminer la concentration des flavonoïdes.
- **Catéchine** : $y = 0,0064x + 0,0663$ avec $R^2 = 0,9931$, pour déterminer la concentration des tannins.

I.3.3. Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus L.*

Le premier test biologique réalisé a consisté à déterminer le pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* récoltées dans les deux régions de Mesra (Mostaganem) et Mohammedia (Mascara). Ce test a permis de

sélectionner l'extrait le plus puissant et efficace et qui servira pour l'évaluation antimicrobienne.

I.3.3.1. Test de réduction du DPPH

Le pouvoir antioxydant a été sélectionné à l'aide de DPPH (2,2 Diphényl-1-picrylhydryl) de couleur violette, qui a été réduite en 2,2 Diphényl-1-picryl hydrazine de couleur jaune (Govidarajan R et al., 2003 ; Popovici C et al., 2009). Le DPPH est un radical libre stable qui absorbe à 517nm pour déterminer le pourcentage d'inhibition proportionnel au pouvoir anti-radicalaire de l'échantillon (Parejo I et al., 2000). Pour cela, la concentration 40 mg/mL de DPPH et les différentes concentrations (10, 5, 2.5, 1.25, 0.62, 0.31 et 0.16) mg/mL de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus L.* ont été préparées. 50 µL d'extrait et 1950 µL de DPPH ont été ajoutés. De plus, le tube blanc a été préparé en ajoutant 50 µL de méthanol. L'ensemble a été incubé 30 min à température ambiante dans l'obscurité. L'absorbance (à 517nm) a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre d'UV visible de microplaque. La formule ci-dessous détermine le pourcentage d'inhibition du DPPH sur la base de la moyenne de trois mesures obtenues pour l'extrait. Pour l'étude statistique et comparative supplémentaire, nous avons réalisé la même expérience en utilisant de l'acide ascorbique (vitamine C) au lieu de l'extrait (Talbi H et al., 2015 ; Dieng Serigne IM et al., 2017).

$$I\% = ((Ac - At) / Ac) * 100.$$

I % : pourcentage d'inhibition du DPPH.

Ac : absorbance du contrôle négatif.

A : absorbance de l'extrait testé.

I.3.3.2. Détermination de la concentration inhibitrice à 50% des radicaux (IC50)

La concentration inhibitrice à 50 % (IC50 ou EC50 pour Efficient Concentration 50 %) a été calculée graphiquement par des régressions logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait méthanolique testé. A l'aide de traduction informatiques graphiques et numérique, les équations logarithmiques des courbes ont été réutilisées pour déterminer les valeurs IC50 de chaque variant (de Mesra et de Mascara) par rapport à l'acide ascorbique (vitamine C) (Fabri RL et al., 2009).

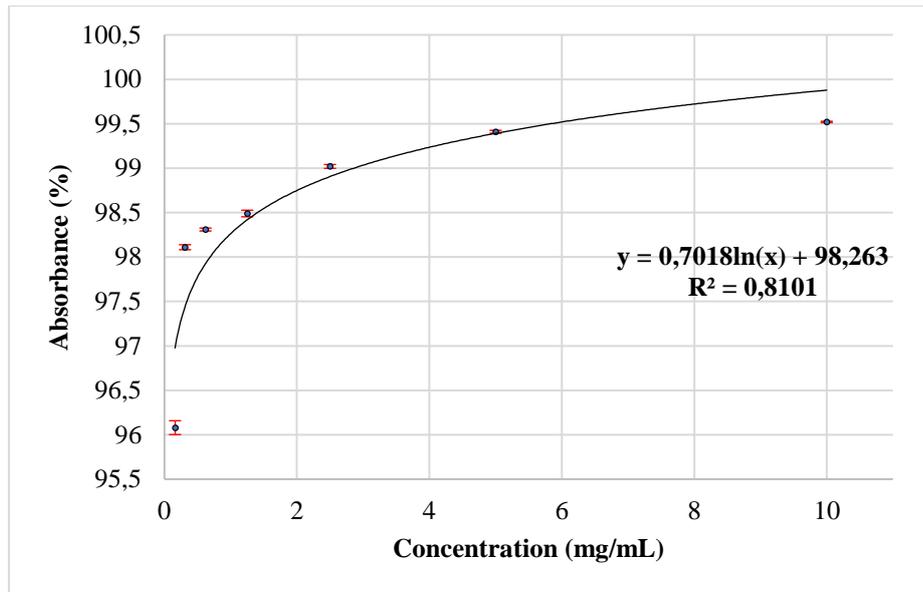


Figure 15 : Activité antioxydante d'acide ascorbique (Vit C).

La corrélation entre les différents points d'absorbance en fonction de la concentration pour d'acide ascorbique (vitamine C) a été traduite dans la **figure 15**. L'équation de corrélation a été formulée en dessous :

➤ $y = 0,7018 \ln (x) + 98,263$ avec $R^2 = 0,8101$

I.3.4. Etude de la toxicité et l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de *P. lentiscus*

I.3.4.1. Toxicité de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* L. *in vitro*

Le but principal de cette étude est d'évaluer les effets nocifs potentiels d'une substance sur des cellules ou des tissus isolés au laboratoire. Les tests de toxicité *in vitro* peuvent être utilisés pour évaluer les risques pour la santé humaine et l'environnement associés à l'exposition à une substance chimique.

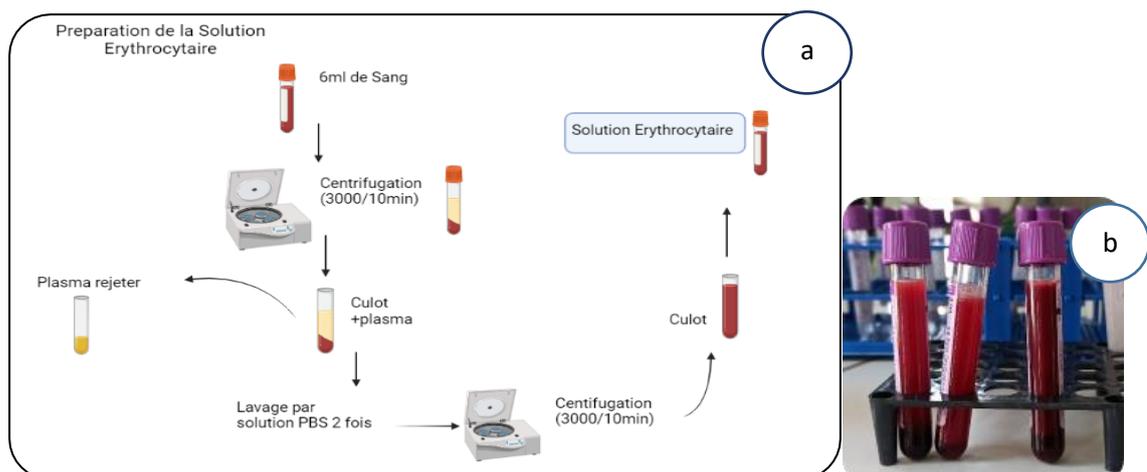
I.3.4.2. Effet Hémolytique de l'extrait méthanolique de *P. lentiscus*

➤ Echantillons de sang humain

Un prélèvement de 6 mL de sang de volontaire a été conduit dans un tube hépariné, afin d'utiliser aucun traitement anti-inflammatoire ou médicament a fourni n'a été administré pendant deux semaines.

I.3.4.2.1. Préparation de la suspension érythrocytaire

Le prélèvement du sang utilisé a été réalisé dans les tubes héparinés à partir d'un donneur unique sain. Après une centrifugation à 3000 rpm pendant 10 min, l'élimination du surnageant a été faite et le culot a été lavé 2 fois par la solution PBS pour effectuer une deuxième centrifugation dans les mêmes conditions, Suspensu à nouveau par 1mL de PBS (Fig.16)(Guo-Xiang Li et Zai-Qun lui 2007).



a : méthode de préparation, b : suspension érythrocytaire.

Figure 16 : Préparation de la suspension érythrocytaire (Guo-Xiang Li et Zai-Qun lui, 2007).

I.3.4.2.2. Préparation des concentrations de l'extrait

L'extrait méthanolique a été pesé et dissous dans du PBS dans le but de réaliser une gamme de quatre concentrations initiales (25 mg/mL, 50 mg/mL, 100 mg/mL et 200 mg/mL).

I.3.4.2.3. Test d'hémolyse

Le test d'effet hémolytique de la plante étudiée a été réalisé selon la méthode de **Guo-Xiang Li et Zai-Qun lui 2007**. Représentée dans la **figure 17**. Le pourcentage d'hémolyse des différentes concentrations d'extraits a été calculé (**Guo-Xiang et Zai-Qun, 2007**).

$$\% \text{ Hém} = (\text{Abs du test}/\text{Abs du contrôle}) * 100$$

$$\% \text{ Anti-Hém} = \frac{DOc - DOt}{DOc} * 100$$

Où, %Hém est l'effet hémolytique,

%Anti-Hém est le taux d'inhibition d'effet hémolytique,

DOt est l'absorbance de l'échantillon,

DOc est l'absorbance de contrôle (100 % d'hémolyse).

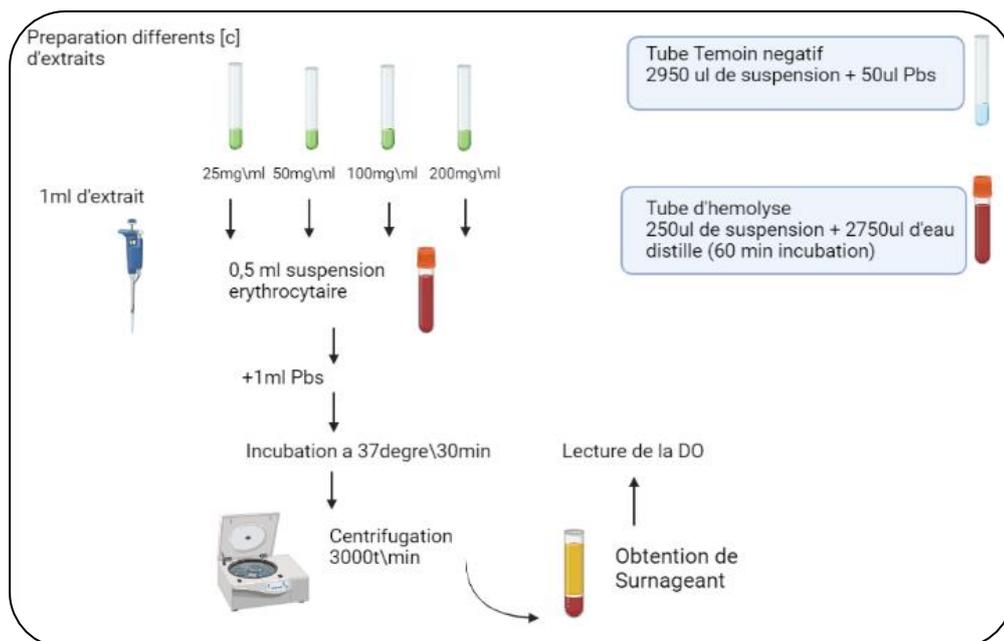


Figure17 : Protocole récapitulatif du test hémolytique (James et alewo, 2014).

I.3.4.3. Evaluation *in vivo* de la toxicité aiguë de l'extrait étudié

L'évaluation de la toxicité aiguë d'un produit peut être effectuée en utilisant des tests standardisés sur des animaux de laboratoire, tels que des rats ou des souris. Le test de toxicité aiguë standard est le test de la DL50 (dose létale 50%), qui détermine la dose de substance qui tue 50% des animaux testés. Dans le cas de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus L.*, dans ce travail. Les protocoles de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) pour les tests de toxicité aiguë ont été utilisés comme références reconnus à l'échelle internationale (Costa et al., 2008).

I.3.4.3.1. Repartition des rats

Des rats males (n=12) et femelles (n=12) ont été répartis au hasard en quatre groupes de 6 rats dans chaque groupe et pour les deux sexes. Un lot est utilisé comme témoin, tandis que les autres lots sont chacun traités avec une dose définie de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus L.* de Mesra (W. Mostaganem) au début de l'expérience, la moyenne de poids des femelles a été déterminée par 200 ± 20 g.

I.3.4.3.2. Administration

Quatre groupes des rats ont été formés aléatoirement (3 males et 3 femelles pour chaque groupe). Après avoir soumis les rats au jeun pendant 12 heures, l'administration a été réalisée chez les rats conscients par gavage oral. La procédure a été basée sur le principe suivant : tenir le rat de telle sorte qu'il ne bouge pas lors de l'administration, puis agiter la sonde. Une fois le bout de la sonde arrive à son estomac, la substance est injectée doucement.

Le premier lot (groupe 1 : rats témoin) qui a reçu de l'eau physiologique stérile, il a été utilisé comme lot de référence, les lots 2 (groupe 2 : Dose 200 mg/kg), 3 (groupe 3 : Dose 500 mg/kg) et 4 (groupe 4 : Dose 800 mg/kg) ont reçu par voie orale l'extrait méthanolique de *P. lentiscus* aux doses respectives 200 mg/kg, 500 mg/kg et 800 mg/kg. Tous les traitements ont été administrés par voie orale une seule fois. Les rats ont été pesés quotidiennement pendant 15 jours pour rechercher des signes d'anomalies.



Figure 18 : Gavages de rats.

I.3.4.3.3. Sacrifice des rats

Les rats ont été jeunés pendant la nuit avant le sacrifice, mais ils ont accès à de l'eau. Ils ont été anesthésiés, avec un anesthésique inhalé de chloroforme. Le sang a été prélevé par ponction cardiaque pour la mesure des biomarqueurs spécifiques de toxicité.

I.3.4.3.4. Mesure des paramètres hématologiques et biochimiques

L'analyse hématologique et biochimique a été menée au sein du laboratoire d'analyses médicales privé du Dr. BOUDECHICHE, dans la wilaya de Mascara. L'analyse hématologique a été réalisée par un système automatique hématologique, l'analyse biochimique du sang a été réalisée à l'aide d'un automate biochimique après une centrifugation de sang à 3000 rpm/min pendant 10 min (**Tableau 04**).

Tableau 05 : Paramètres hématologiques et biochimiques étudiés.

Examens hématologiques	Examens biochimiques	Examens immunologiques
Nombre de globules rouges Hémoglobine VGM TCMH CCMH IDRC Nombre de globules blancs PNN Lymphocytes Monocytes Plaquettes Volume plaquettaire (VPM)	Urée Créatinine TGO (ASAT) TGP (ALAT)	Protéine c réactive (CRP)

Expression des résultats a été déterminée par la méthode de **Dragstedt et Lang (1957)**, le pourcentage de mortalité (M [%]) pour chaque dose en cumulant tous les décès observés aux doses inférieures et tous les survivants observés aux doses supérieures (**Dragstedt et Lang, 1957**) selon la formule suivante :

$$M (\%) = \frac{\text{Nombre de morts cumulés}}{\text{Nombre de vivants cumulés} + \text{nombre de morts cumulés}} \times 100$$

La DL₅₀ (dose létale de 50%) est calculée par interpolation :

$$DL_{50} = \frac{50(X_2 - X_1) + (X_1 Y_2 - X_2 Y_1)}{Y_2 - Y_1}$$

X₂ : Dose supérieure encadrant la DL₅₀

X₁ : Dose inférieure encadrant la DL₅₀

Y₂ : Pourcentage de mortalité correspondant à X₂.

Y₁ : Pourcentage de mortalité correspondant à X₁.

I.3.4.3.5. Examen histopathologique des organes

Les organes (le foie, les reins, les poumons, la rate, le cœur) ont été prélevés et pesés pour évaluer les éventuelles modifications de la masse organique en réponse à l'exposition à la substance testée. Ces organes ont été ensuite fixés dans une formole a 10 %.

Pour l'examen anatomo-histopathologique, les organes fixés dans du formol 10 % ont été déposés dans cassettes en plastique, où ces coupes histologiques ont été réalisées dans le laboratoire privé d'Anatomo-histopathologique du **Dr. BABA Ahmed** de la wilaya de Tlemcen. La technique utilisée est celle décrite par (**Houlot, 1984**). La préparation a été examinée sous microscope optique à un grossissement X40 et X100.

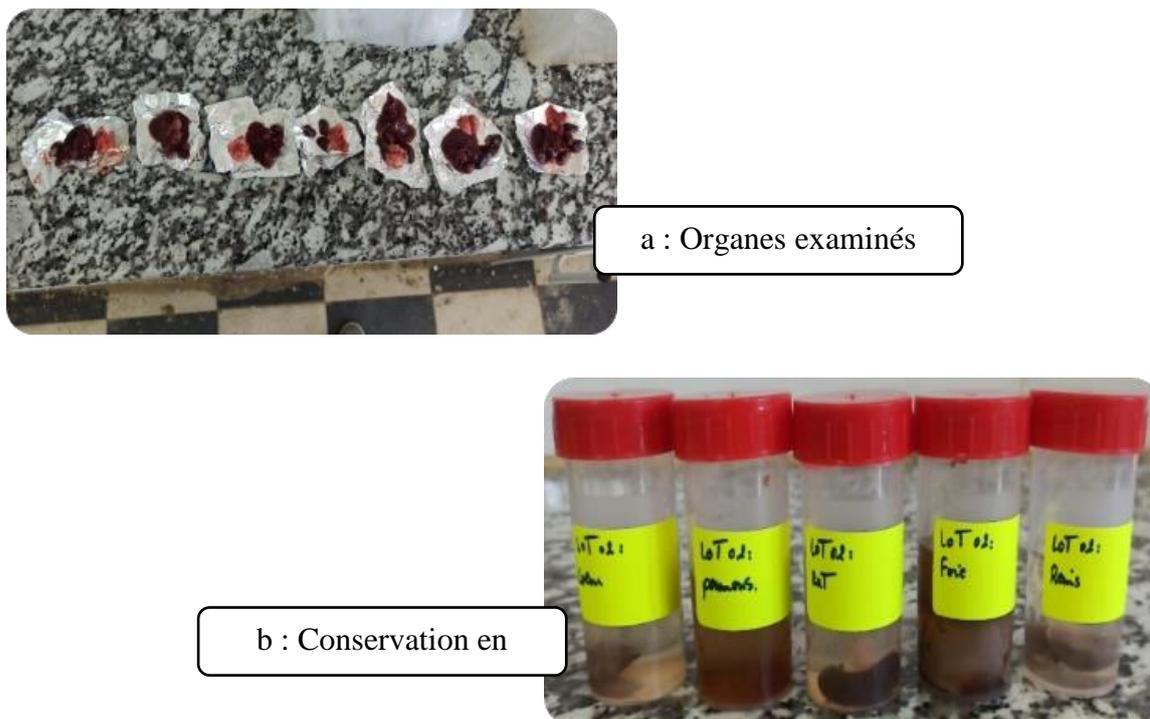


Figure 19 : Conservations des organes pour l'examen histopathologique.

I.3.4.4. Etude de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

Dans cette étude, le modèle de dénaturation de l'ovalbumine a été utilisé pour évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus*L. La dénaturation des protéines tissulaires est une conséquence connue des maladies inflammatoires et arthritiques, qui peut conduire à la production d'auto-antigènes (Williams *et al.*, 2008).

Le principe de cette technique repose sur la capacité de l'extrait de la plante à réduire la dénaturation thermique de l'ovalbumine, une protéine de référence choisie pour sa stabilité lors du processus anti-inflammatoire (Bouhlali *et al.*, 2016). L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée selon le protocole de Chandra *et al.*, (2012) avec quelques modifications (Chandra *et al.*, 2012).

➤ Technique :

Un volume de 1 mL de solution d'ovalbumine à 2 % a été ajouté à 1 mL de solution d'extrait méthanolique de *P. lentiscus* à différentes concentrations, tandis que le contrôle a été préparé en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée. L'aspirine a été utilisée comme standard, et les tubes ont été incubés à 72°C pendant 5 minutes. La lecture a été effectuée à 660 nm. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé (Kar *et al.*, 2012).

$$\% \text{ Anti-inf} = \frac{DO \text{ solution test} - DO \text{ solution contrôle produit}}{DO \text{ solution contrôle test}} * 100$$

Où, DO est Densité optique, % Anti-inf est le pourcentage d'inhibition (anti-inflammatoire). Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées, et les résultats sont comparés avec le l'aspirine.

I.3.4.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* de l'extrait méthanolique de *P. lentiscus*

Le procédé utilisé pour induire l'œdème consiste à injecter une solution de formol à 1% dans l'aponévrose de la plante du pied des rats. Cette méthode permet d'induire une inflammation localisée dans la voûte plantaire de la patte droite des rats. L'ampleur de l'œdème résultant de cette réponse inflammatoire est mesurée en volume à l'aide d'un Pied à coulisse, ce qui permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire (**Figure 24**). Chaque essai visant à évaluer l'activité anti-inflammatoire a impliqué quatre groupes de six rats (aléatoirement, 3 males et 3 femelles pour chaque groupe). Ces derniers ont été mis à jeun pendant 17 heures avant l'essai (**Sen et al., 1991**).

- Le groupe témoin reçoit une injection intrapéritonéale (IP) de solution véhicule (eau physiologique seule) 30 minutes avant l'injection de formol (0,1 mL à 1%) dans la voûte plantaire de la patte droite des rats.
- Le groupe de référence a été traité par voie IP avec un anti-inflammatoire (Diclofénac) utilisé en thérapeutique, administré à raison de 100 mg/kg, également 30 minutes avant l'injection de formol.
- Le groupe de test a été traité avec l'extrait à tester, administré par voie IP à des doses de 500 mg/kg, 30 minutes avant l'injection de formol.

Le groupe de test a été traité avec l'extrait à tester, administré par voie IP à une dose de 800 mg/kg, 30 minutes avant l'injection de formol.

L'évolution de l'œdème est suivie en mesurant les volumes de la patte traitée (P(t)) et de la patte non traitée (P(nt)) (exprimés en mm) à 0, 30, 60, 120 et 180 minutes après l'injection du formol.

L'activité anti-inflammatoire des produits testés et son évolution ont été évaluées en déterminant les pourcentages moyens d'augmentation (%AUG) et d'inhibition (%INH) de l'œdème, calculés à l'aide de la formule appropriée (Sen et al., 1991).

$$\%AUG = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100$$

V₀ : Volume initial de la patte.

V_t : Volume de la patte au temps t.

$$\%INH = \frac{(V_t - V_0)_{\text{temoin}} - (V_t - V_0)_{\text{traité}}}{(V_t - V_0)_{\text{temoin}}} \times 100$$

V₀ : le volume de la patte à t = 0 (avant injection du formol).

V_t : le volume de la patte à un temps t quelconque.

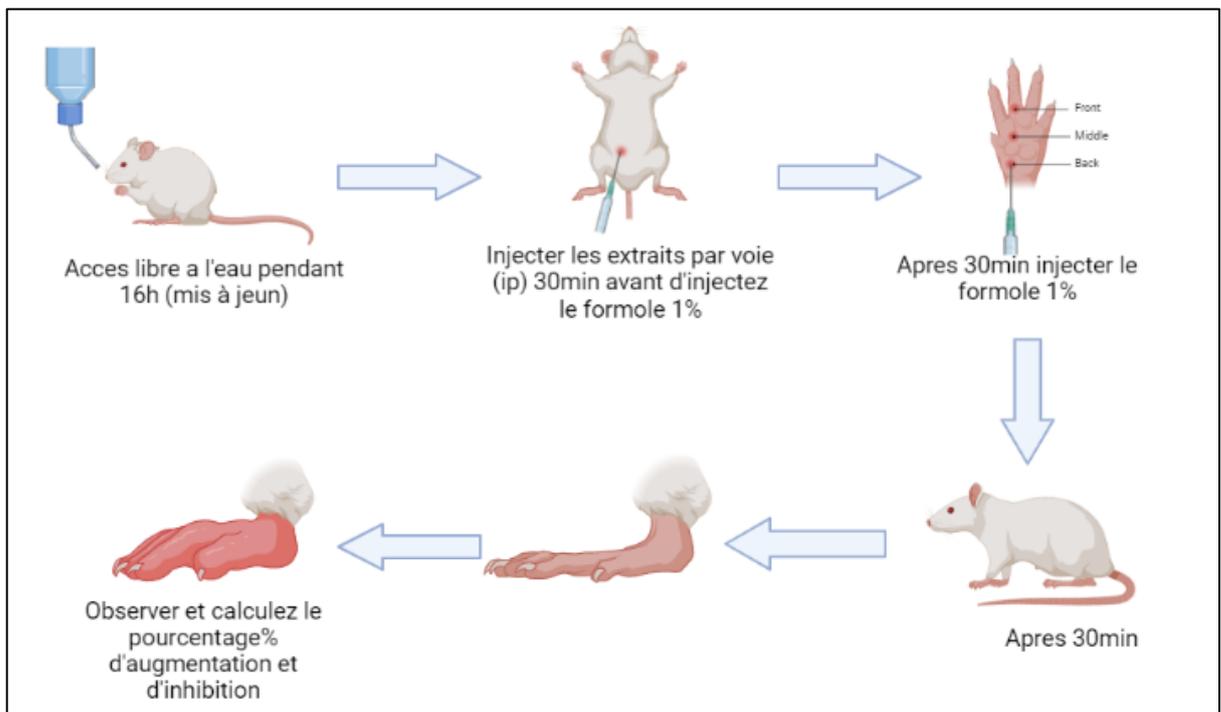


Figure 20 : Protocole d'induction et inhibition de l'œdème inflammatoire aiguë la patte de rat Wistar (induction au Formol).

I.3.5. Caractérisation du Microbiote Intestinal chez des sujets diabétiques de type 2

I.3.5.1. Objectif partiel

Sur la base des études antérieures, les maladies métaboliques sont directement causées par le déséquilibre qui se produit dans les interactions entre les éléments du complexe intestinal, aggravé par les différents micro-organismes ou entre le micro-organisme et l'hôte (tractus intestinal).

L'objectif de cette partie de recherche était d'identifier qualitativement et quantitativement certains groupes microbiens isolés des matières fécales des patients diabétiques de type 2 et de les comparer à ceux des sujet témoins sains. L'étude visait à distinguer qualitativement certains groupes de microbiote intestinal. Par la suite, toutes les souches microbiennes sélectionnées ont été testées (*in vitro*) sans et avec traitement phytothérapeutique à l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* récoltées de la région de Mesra (W. Mostaganem) pour évaluer la restauration du microbiote intestinal.

I.3.5.2. Répartition des groupes

I.3.5.2.1. Groupes des patients

Cette étude était un essai clinique à simple insu, randomisé et contrôlé par placebo. Elle a été menée sur deux groupes de volontaires masculins âgés entre 25 et 45 ans en avril 2021 à l'hôpital Ain Tadles (Mostaganem, Algérie). L'enquête comportait un questionnaire structuré sous forme de fiche d'exploitation (**ENTRED, 2019**) suivi d'un examen par un diabétologue. Le diabète de type 2 a été identifié selon les critères de l'**Organisation mondiale de la santé (2016)**.

Au total 20 personnes ont été retenues pour cette étude et répartie en deux groupes :

- Le groupe patient Diabétique Type 2 (DT2) (N=10),
- Le groupe Témoin Sain (TS), (N=10).

I.3.5.2.2. Prélèvement de matière fécale

Les échantillons de matière fécale ont été prélevés chez chaque sujet (diabétique de type 2 et sain) dans des boîtes stériles de copro-bactériologie. Les échantillons ont été transportés immédiatement au laboratoire de microbiologie pour les analyses.

I.3.5.3. Analyses microbiologiques**I.3.5.3.1. Isolement**

A partir de prélèvement de selle, des dilutions décimales successives adaptées à la culture sur milieu gélosés ont été préparées pour l'isolement, en partant de la solution mère (1 mg/1 ml) jusqu'à la dilution 10^{-6} .

Des groupes bactériens et fongiques aérobies, aéro-anaérobies et anaérobies ont été recherchés à l'aide de milieux non sélectifs et sélectifs (milieu Nutritive agar, gélose au sang, milieu Chapman pour les staphylocoques, milieu EMB pour les entérobactéries, MRS pour les lactobacilles, milieu Viande-foie pour les clostridies, Sabouraud Dextrose Agar SDA pour les levures). 0.1 mL de chaque dilution a été ensemencés sur milieu gélosé. Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 h, 48 h et jusqu'à 72 h selon les souches étudiées, et avec l'ajout de 5 % de CO₂ dans l'atmosphère pour les lactobacilles et les streptocoques et les clostridium (anaérobiose). Quantitativement, chaque le nombre moyen d'unités formant colonies (UFC) a été déterminé tracé sous formule logarithmique.

I.3.5.3.2. Identification

Les espèces isolées à partir de ces protocoles de culture standard ont été identifiées à l'aide de kits commerciaux (API Staph, API 20 E et API 50 CH, Biomérieux, Marcy étoile, France) après une série classique des tests microbiologiques (état frais et coloration de Gram ...) et biochimiques (type d'aération, source carbone et d'énergie, mobilité ...).

I.3.5.4. Evaluation microbiologique de la surface membranaire de souches sélectionnées

I.3.5.4.1. Détection du pouvoir de production de biofilm

Pour évaluer le potentiel de production de biofilm, chaque souche a été cultivée sur gélose au rouge Congo additionnée de 5 % de saccharose (Freeman et al., 1989). L'apparition de colonies noir foncé indique la qualité de la production de biofilm par la souche testée (Thaïs Dias LK et al., 2013 ; Mahamat O. et al., 2013 ; Jung-Su L. et al., 2016).

I.3.5.4.2. Quantification de la production de biofilm

Pour quantifier la production de biofilm pour chaque souche isolée et identifiée, une version modifiée de la méthode de Stepanovic (Stepanovic et al., 2007) a été utilisée. Une gélose sélective hyper-glucose à 2% et un bouillon ont été préparés et inoculés avec chaque souche pendant 24H pour les bactéries et les levures et 48H pour *Lactobacillus*. Une dilution au 1/100 a ensuite été préparée en triple, 200 µL de chaque suspension microbienne ont été inoculés dans des puits de microplaque avec un contrôle négatif. Après incubation à 37°C pendant 24H pour les bactéries et les levures et 48H pour *Lactobacillus*, la suspension microbienne a été aspirée et lavée trois fois avec 200 µL de PBS (Solution tamponnée). La fixation du biofilm a ensuite été assurée par une incubation avec 200 µL d'éthanol pendant 15 minutes, suivie d'un séchage à température ambiante. Le biofilm fixé a été coloré avec 200 µL de cristal violet (2 %) pendant 5 minutes, lavé avec de l'eau distillée, puis solubilisé avec du l'éthanol (95 %). La densité optique a été lue à 570 nm à l'aide d'un spectrophotomètre à plaque ELISA (Moreira J et al., 2017 ; Lei Y et al., 2020). Le pourcentage de formation de biofilm (%Bf) a été calculé à l'aide de l'équation suivante (Richard et al., 2018) :

$$\% \text{ Bf} = ((\text{DOs} - \text{DOc}) / \text{DOs}) \times 100$$

Où DOs est la densité optique de la souche à 570 nm, et DOc est la densité optique du blanc témoin à 570 nm. % Bf fournit une mesure quantitative de la production de biofilm et peut être utilisé pour comparer les capacités de formation de biofilm de différentes souches microbiennes.

I.3.5.4.3. Test d'hydrophobicité membranaire

Un protocole de laboratoire fondamental a été suivi pour évaluer la membrane hydrophobe (H%) des souches testées selon **Iyer R. (2010) et González Arias L.(2013)** : Après culture microbienne pendant 18 heures à 37°C dans un bouillon sélectif stérile, une centrifugation a été effectuée (6000 tr/min à 4°C) pendant 10 minutes. Ensuite, le surnageant a été jeté et lavé deux fois en ajoutant du PBS avec centrifugation dans les mêmes conditions précédentes. Après récupération des souches microbiennes, 3 ml de solution de KNO₃ 0,1 M ont été ajoutés dans chaque tube. 200 µL de chaque suspension ont été versés dans les puits de la microplaque pour mesurer l'absorbance initiale (DOi) à 620 nm. Ensuite, 1 mL de xylène a été ajouté à chaque suspension dans les tubes pour former deux phases (aqueuse/organique). Après homogénéisation au vortex pendant 2 minutes et incubation à 37°C pendant 10 minutes, 200 µL de la phase aqueuse ont été collectés dans les puits de la microplaque pour mesurer l'absorbance finale (DOf) à 620 nm (**Iyer R. et al., 2010, González Arias L. et al., 2013**).

$$\%H = ((DOi - DOf) / DOi) \times 100.$$

Les micro-organismes isolés avec une hydrophobicité supérieure à 40 % ont été classés comme cellules ayant de surface hydrophobe.

I.3.5.5. Quantification des exopolysaccharides (EPS)

I.3.5.5.1. Extraction et purification d'EPS

La préparation des cultures a été réalisée par étalement sur gélose sélective hyper saccharose (2 %) dans 20 à 30 boîtes de Pétri (selon l'aspect macroscopique du mucus microbien). Après incubation pendant six jours à 37°C, le mucus colonial est collecté avec un grattoir et placé dans de l'eau physiologique stérile (0,9% NaCl), la solution est chauffée à 80°C pendant 5 minutes. Afin de précipiter les particules par masse molaire, la séquence est centrifugé (5000 rpm pendant 10 min) puis le surnageant ultrafiltré (3 fois à <10°C). Le surnageant est doussit dissous dans de l'éthanol (3 volumes) à -20°C puis centrifugé (10 000 tr/min pendant 20 min à 4°C). Ensuite, la technique de dissolution et de centrifugation du culot est répétée dans les mêmes conditions. La dissolution finale s'est réalisée avec de l'eau physiologique stérile (NaCl à 0,9%), et enfin, les particules sont récupéréssous forme de poudre après lyophilisation (**Domenico P. et al., 1989, Almutairi M.H. et Helal M.M.I., 2021**).

I.3.5.5.2. Dosage des exopolysaccharides (EPS)

La quantification des Exopolysaccharides (EPS) a été réalisée par la technique de **Dubois M. et al., (1956)**, où 1 mL de phénol à 5% (5 g de phénol dans 100 mL d'eau distillée et glacée) a été versé. 1 mL d'échantillon (1 mg/mL) a été ajouté et homogénéisé au vortex. Ensuite, 5 mL d'acide sulfurique concentré ont été versés doucement sur la proie dans le tube. Après incubation pendant 5 minutes à 100°C, les réactions ont été assurées en stockant l'ensemble dans l'obscurité pendant 30 minutes. La lecture de l'absorbance a été prise à 490 nm (**Domenico P. et al., 1989, Leroy F. et Vuyst L.D., 2016**). La courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant des concentrations de demi-réduction en mg/L de glucose (100, 50, 25, 12,5 et 6,25) par la même technique (**Domenico P. et al., 1989, Leroy F. et Vuyst L.D., 2016**).

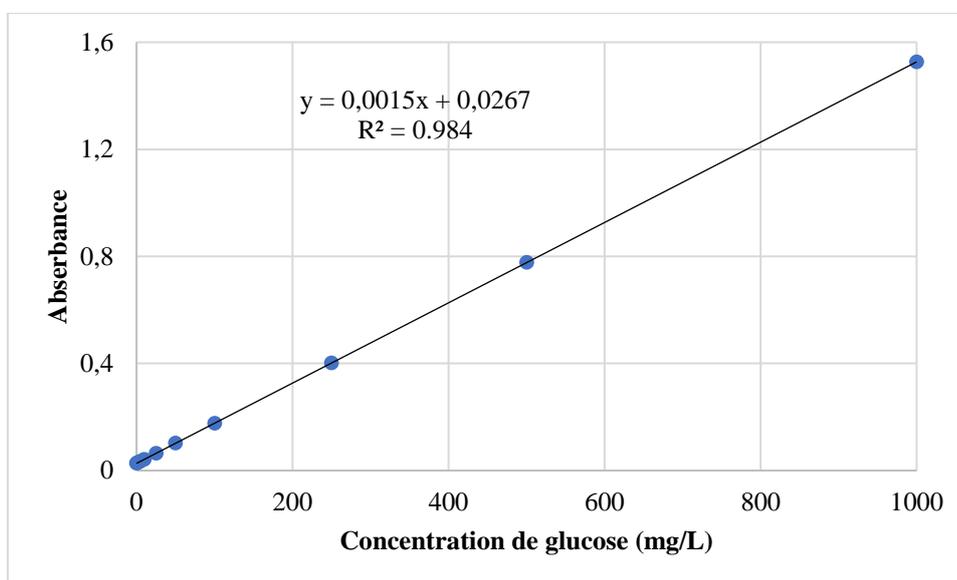


Figure 21 : Courbe d'étalonnage de glucose à DO de 490nm.

La corrélation entre les différents points d'absorbance en fonction de la concentration de glucose (la molécule de sucre simple de référence) a été traduite dans la **figure 21**. L'équation de la courbe d'étalonnage a été formulée en dessous :

➤ $y = 0,0015 (x) + 0.0267$ avec $R^2 = 0,984$

I.3.6. Evaluation de l'activité antimicrobienne *in vitro*, de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus L.* de Mesra

Le principe de la technique est l'étude de l'évolution de la croissance microbienne en fonction du temps d'incubation à différentes concentrations de l'extrait méthanolique

des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. Ce test a été réalisé pour évaluer l'effet exercé par l'extrait (bactériostatique ou bactéricide). On cherche le bactériostatique pour maintenir la flore dominante et sous dominante afin de moduler et peut être restaurer la flore perturbée suite à diabète de type 2.

I.3.6.1. Etude de la cinétique de croissance microbienne

Pour cette étude, une microplaque de 96 puits a été utilisée. Dans les puits des colonnes 1 à 12, sont introduits aseptiquement, à l'aide d'une micropipette, 50 µL de bouillon sélectif, ensuite 50 µL de l'extrait méthanolique de *P. lentiscus* dilué dans du DMSO (pour obtenir 32 mg/mL) dans le puits 1 pour obtenir un contrôle négatif et 50 µL de la suspension bactérienne calibrée dans le puits 2 pour obtenir un contrôle positif. Le puit 3 a été additionné par 50 µL de l'extrait méthanolique (identique avec le puit 1) Transférer 50µL du mélange de puits en puits, de 3 à 12, et ajouter 50µL d'inoculum calibré à 10⁶ UFC/mL. Incuber à une température de 37°C. La cinétique de croissance de chaque espèce a été réalisée avec une mesure de la densité optique à 0H, 2H, 6H, 18H et 24H à 600 nm La courbe Log UFC/mL en fonction du temps a été tracée.

$$\text{Log (CFU/mL)} = (\text{DO}_t - \text{DO}_{\text{nc}}) / (\text{DO}_{t_0} - \text{DO}_{\text{nc}})$$

Où DO : densité optique à 600 nm, t : temps d'incubation (2H, 6H, 18H et 24H), t₀ : avant incubation et nc : contrôle négatif. A l'exception de la première valeur inférieure à 10⁶ UFC/mL pour chaque concentration et chaque souche.

I.3.6.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide (CMI et CMB)

Les courbes tracées serviront pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de chaque micro-organisme. CMB est la plus faible concentration d'extrait à effet bactéricide qui lyse les germes microbiens (moins de 0,001 % de survivants), cela a été assuré par la méthode de dinombrement sur gélose de tous les puits qui ont densité optique inférieur à l'initiale. Un extrait est dit bactéricide lorsque le rapport CMB/CMI est inférieur ou égal à 4 ou bactériostatique lorsque ce rapport est supérieur à 4 (Ouattara et al., 2013).

I.3.6.3. Quantification des exopolysaccharides (EPS) avant et après traitement avec l'extrait méthanolique étudié

Pour immobiliser les bactéries, les suspensions bactériennes ont été exposées à des ondes ultrasonores à 52 kHz pendant 10 minutes. L'extrait a été ajouté à une

concentration de 2 mg/mL et 4 mg/mL (CMI déterminées) et incubé à 37°C pendant 24 heures. L'extraction des exopolysaccharides (EPS) a été réalisée selon la technique décrite par **Ricciardi et al. (2000)**. Après 24 heures d'incubation, les bactéries ont été récupérées par centrifugation à 5000 g/15 min après chauffage à 80°C pendant 15 min. On a ensuite laissé les EPS précipités et le surnageant a été filtré à 4°C avant d'ajouter trois volumes d'éthanol. Le mélange a ensuite été centrifugé à 10000 g pendant 20 min à température de 4°C, et le culot résultant a été remis en solution dans de l'eau physiologique stérile. La quantification des EPS a été réalisée en utilisant la technique de dosage des sucres totaux décrite par **Dubois et al. (1956)**. L'équation d'étalonnage de glucose a été représentée par, $y = 0,0015 (x) + 0.0267$ avec $R^2 = 0,984$ (**Fig. 18**).

I.3.6.4. Activité anti-adhésion de l'extrait méthanolique de *P. lentiscus* de Mesra (Mostaganem)

Initialement, la culture a été centrifugée (3000 rpm à 4°C pendant 10 minutes) après avoir été incubée pendant 18 heures à 37°C dans du bouillon BHI stérile. Le culot cellulaire a été récupéré dans du PBS stérile pour préparer une suspension de densité optique ajustée à 1 à 600 nm. Ensuite, 1.5 mL de la dilution au 1/100 de cette suspension avec du bouillon de saccharose BHI (0,25 %) a été ajouté à chaque tube. D'autre part, des dilutions (2000, 1500, 1000, 500, 250 et 125 µg/mL) de l'extrait méthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus L.*, ont été préparées avec du PBS stérile. Ensuite, 1.5 mL de la dilution a été ajouté aux tubes en triplicata. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, les suspensions ont été jetées et 3 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) ont été ajoutés à chaque tube pour éliminer les cellules microbiennes non adhérentes et faiblement adhérentes. Le mélange a été aspiré et 3 mL de PBS ont été ajoutés. La lecture a été effectuée à 600 nm, et le contrôle positif a été réalisé en ajoutant 1,5 mL de PBS à la place de l'extrait (**Khan R. et al., 2011 ; Rohazila M.H. et al., 2014**). L'activité anti-adhésion a été calculée à l'aide de la formule :

$$\% \text{ Anti-adhésion} = ((DOc - DOt) / DOc) \times 100$$

Où : DOc est la densité optique du contrôle positif à 600 nm, et DOt est la densité optique du tube traité à 600 nm (**Awadelkareem AM et al., 2022**).

I.3.6.5. Activité antibiofilm

La suspension microbienne a été préparée à partir d'une culture de 18 heures à 37°C dans un bouillon BHI stérile (DO = 1 à 600 nm), et une dilution au 1/100 a été réalisée. Ensuite, 100 µL de la suspension diluée ont été inoculés dans les puits de la microplaque avec 100 µL de différentes concentrations (2000, 1500, 1000, 500, 250 et 125 µg/mL) de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus L.* Après incubation à 37°C pendant 24 heures, le mélange a été aspiré, et les puits ont été lavés deux fois avec 200 µL d'eau distillée stérile. Après séchage, le biofilm restant a été coloré avec 200 µL de cristal violet (0,2 %) pendant 15 minutes. Les puits ont été lavés deux fois avec de l'eau distillée et le colorant a été solubilisé avec 200 µL d'éthanol (95%). La lecture de l'absorbance a été prise à 600 nm. La suspension avec du PBS et le milieu uniquement ont été utilisés comme contrôle négatif et contrôle à blanc standard, respectivement (Rohazila M.H. et al., 2014). L'activité antibiofilm a été calculée à l'aide de la formule :

$$\% \text{ Anti-Bf} = ((\text{DOcn} - \text{DOt}) / \text{DOcn}) \times 100$$

Où : DOcn est la densité optique du contrôle négatif à 600 nm, et DOt est la densité optique du puits traité avec l'extrait à 600 nm (Swetha TK et al., 2019).

I.3.7. Etude statistique

Tous les résultats ont été présentés en moyennes ± écart type (SD). Une analyse de la variance (ANOVA) et un test post hoc (lorsqu'ils sont disponibles dans les statistiques IBM SPSS version 25) ont été utilisés. Une valeur de p de 0,05 a été fixée comme seuil de significativité.

Chapitre II

Résultats et Discussion

II. 1. Résultat de l'étude ethnobotanique de *P lentiscus L.* étudiée

L'étude ethnobotanique a été réalisée avec trois catégories des utilisateurs de cette plante aromatique et médicinale. Les données collectées ont été traduites graphiquement selon qui suit :

II.1.1. Informations sur la plante étudiée par thérapeutes

Selon les résultats de cette étude, il a été constaté que 92% des thérapeutes connaissent très bien *Pistacia lentiscus L.* (Fig.22.a) ; 42% étaient des personnes questionnées sont thérapeutes traditionnels, tandis que 22% étaient des médecins Phytothérapeutes (Fig.22.b).

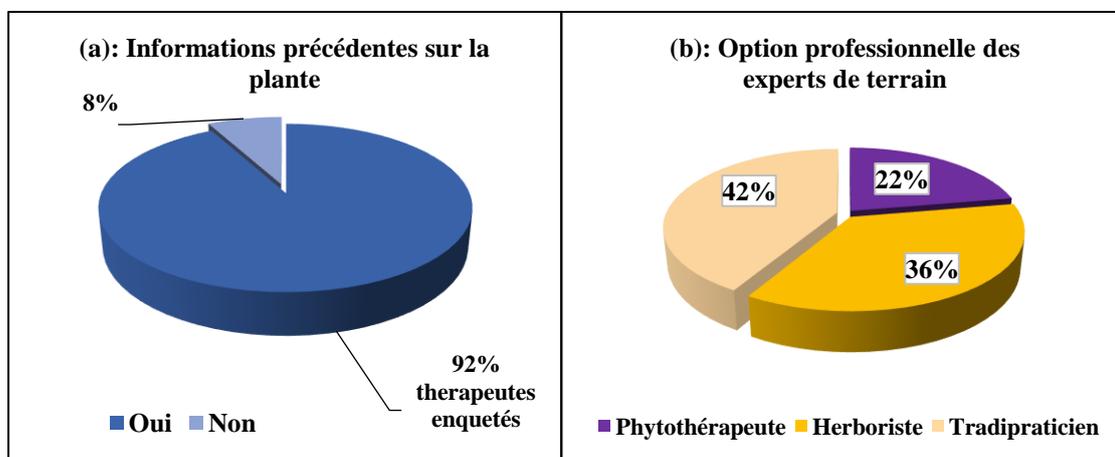


Figure 22 : Utilisation populaire de *Pistacia lentiscus* selon les personnes questionnées.

II.1.2. Régions de collecte des informations concernant la plante étudiée

Les régions de la collecte des informations et des données de quelques wilayas algériennes qui ont été questionnées afin d'élargir l'ethno-étude utilisent le pistachier dans des recettes traditionnelles (fig. 23).

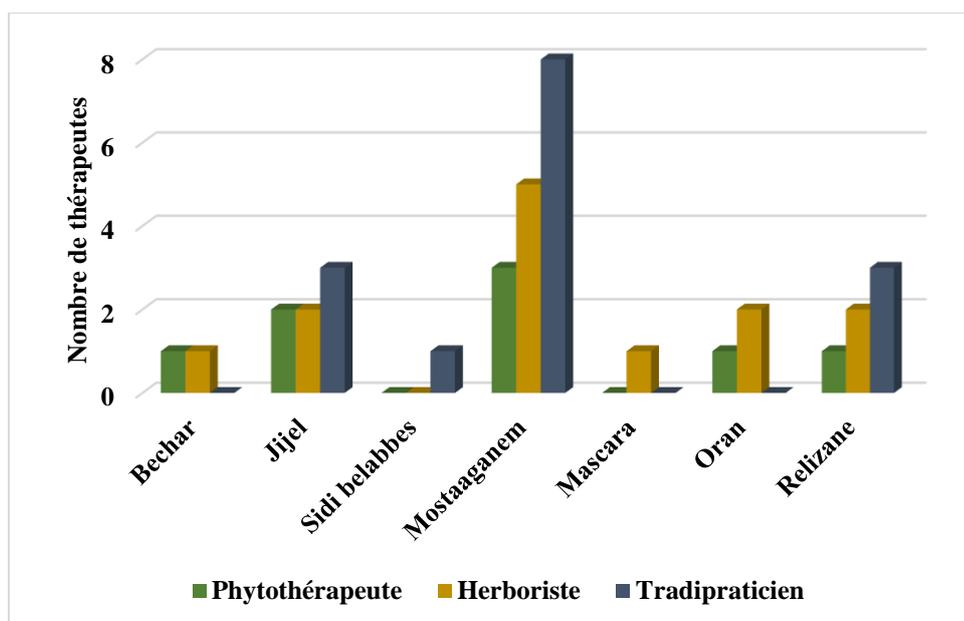


Figure 23 : Collecte d’informations selon le questionnaire établi et la wilaya.

Malgré les cultures différentes de la société algérienne, diverses plantes aromatiques, notamment des plantes médicinales, sont utilisées presque uniformément, en raison de la grande affinité sociale. Quant au *Pistacia lentiscus*, c'est une plante présente dans la majorité des régions d'Algérie et confine une grande partie du couvert végétal de ce pays.

II.1.3. Sexe et âge des thérapeutes enquêtés

Il a été constaté que les hommes présentaient le plus de catégorie traitant par la plante médicinale *Pistacia lentiscus* (64%) (Fig. 24.a).

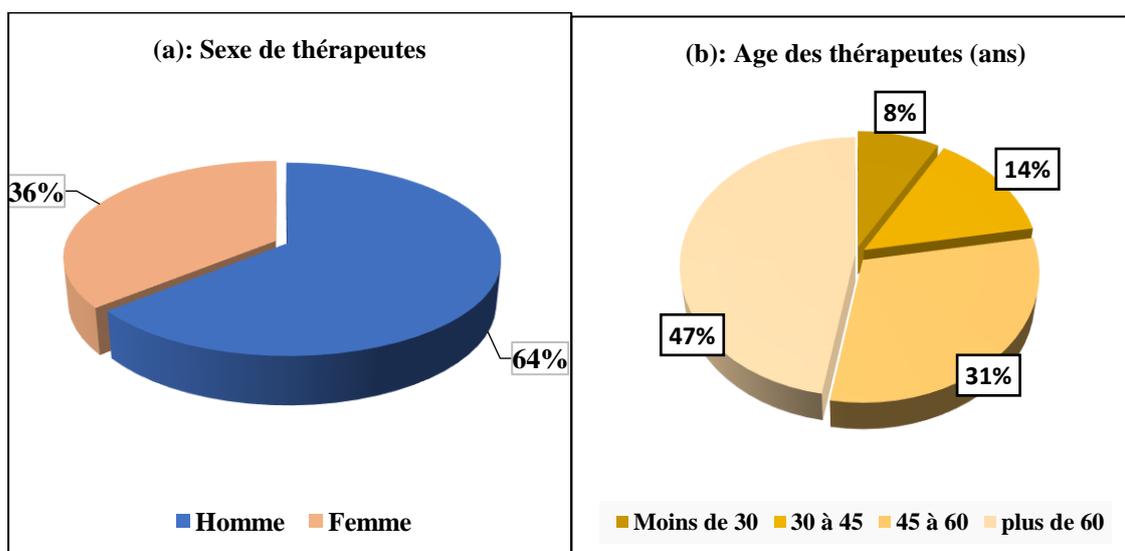


Figure 24 : Sexe et âge des thérapeutes enquêtés.

L'enquête a révélé que la plupart des thérapeutes étaient plus âgés. 47 % avaient plus de 60 ans et 31 % avaient entre 45 et 60 ans (**Fig. 24.a**).

II.1.4. Pharmacopée traditionnelle de *Pistacia lentiscus*

Les méthodes de préparation de la plante pour le traitement et les méthodes de leur utilisation ont été représentées graphiquement sur la **figure 25**. Les résultats ont montré que 48% des données primaires recueillies auprès des thérapeutes ont indiqué que le *Pistacia lentiscus* était principalement utilisé en pharmacopée traditionnelle (**Fig. 25.a**) ; son utilisation dans ce domaine a été confirmée par de nombreux chercheurs (**Kordali S et al., 2003 ; Boudiaf K, 2006 ; Brahmi F et al., 2020**).

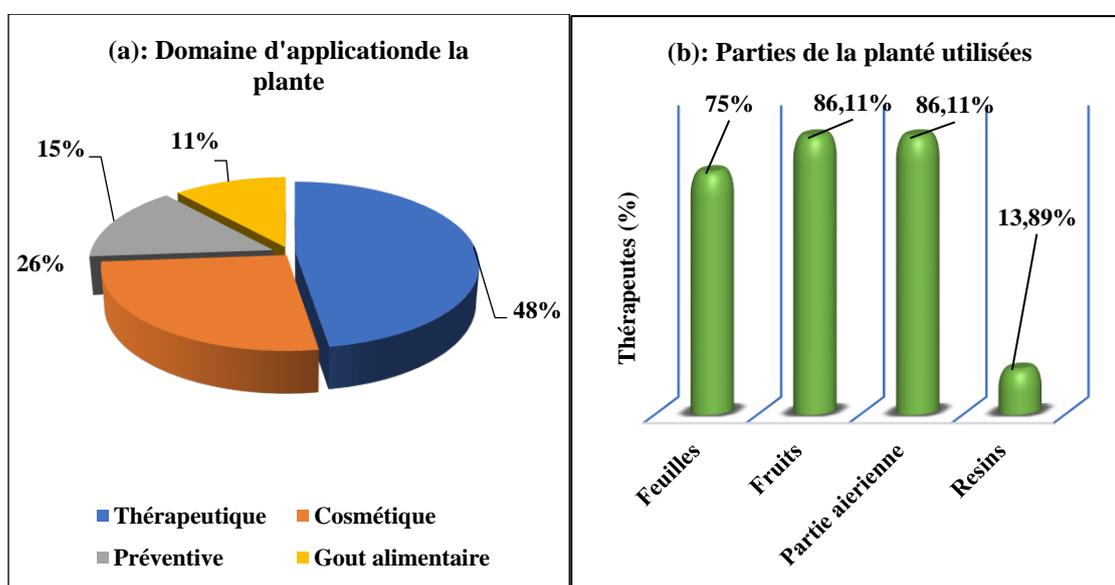


Figure 25 : Pharmacopée traditionnelle de *Pistacia lentiscus*.

86,11% des thérapeutes ont convenu que la partie aérienne et les fruits étaient les plus efficaces, 75% entre eux ont confirmé que les feuilles sont la partie la plus critique de la plante (**Figure 21.b**) (**Kordali S et al., 2003 ; Boudiaf K, 2006 ; Brahmi F et al., 2020**).

II.1.5. Saisons de récolte et état utilisable de *P. lentiscus*

L'état utilisable de la plante (sans ou avec séchage), ainsi que les saisons de la récolte ont été traduits dans la **figure 26**. 65% d'utilisation de cette plante est après le séchage (**Fig. 26.a**). Les mois de Mai et Juin ont été déterminés comme la saison préférée pour la récolte selon les résultats de l'enquête (**Fig. 26.b**).

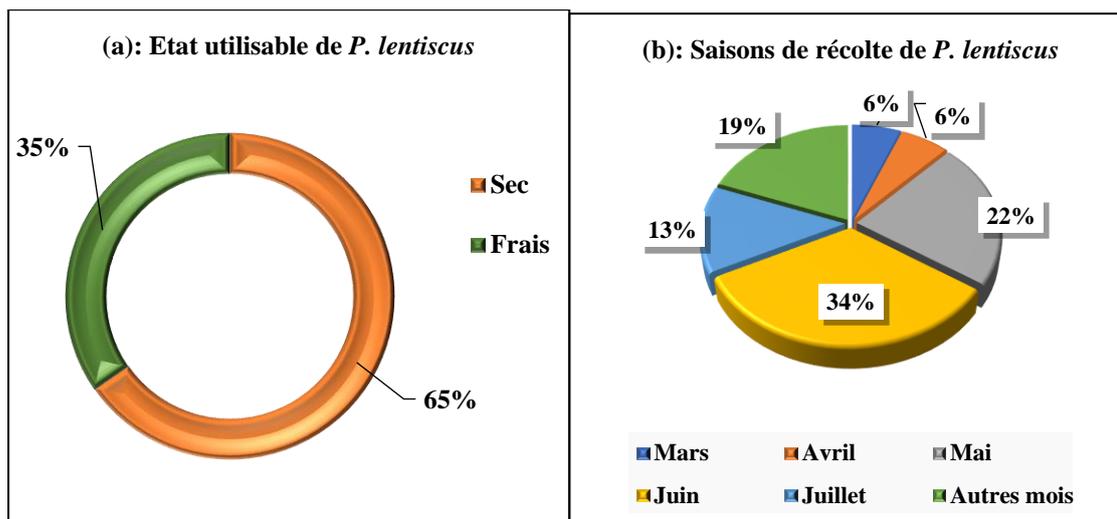


Figure 26 : Saisons de récolte et état utilisable de *P. lentiscus* selon les thérapeutes enquêtés.

Ci est dû à la partie importante de composés au cours de cette saison (Govidarajan R. et al., 2003).

II.1.6. Mode d'emploi et mode d'administration de *P. lentiscus*

Selon la **figure 27.a**, tous les thérapeutes utilisent les plantes comme tisane pour certains usages thérapeutiques où 41,67% des patients traités avec l'huile essentielle de *P. lentiscus L.* Les extraits n'étaient garantis qu'à 13,89% d'entre eux. Nos résultats sont cohérents avec ceux présentés dans l'étude de **Bammou M et al. (2015)**, qui mentionnent que la tisane était la plus utilisée par les thérapeutes traditionnels, et une majorité utilisaient l'extrait. (**Fig. 27.c**). Le traitement oral (100%) et la massothérapie (traitement par massage) (80,56 %) ont été les deux méthodes appliquées et les plus fréquemment utilisées par les thérapeutes (**Fig. 27.b**) alors que seulement 40 % de la thérapie était à usage externe (**Fig. 27.c**).

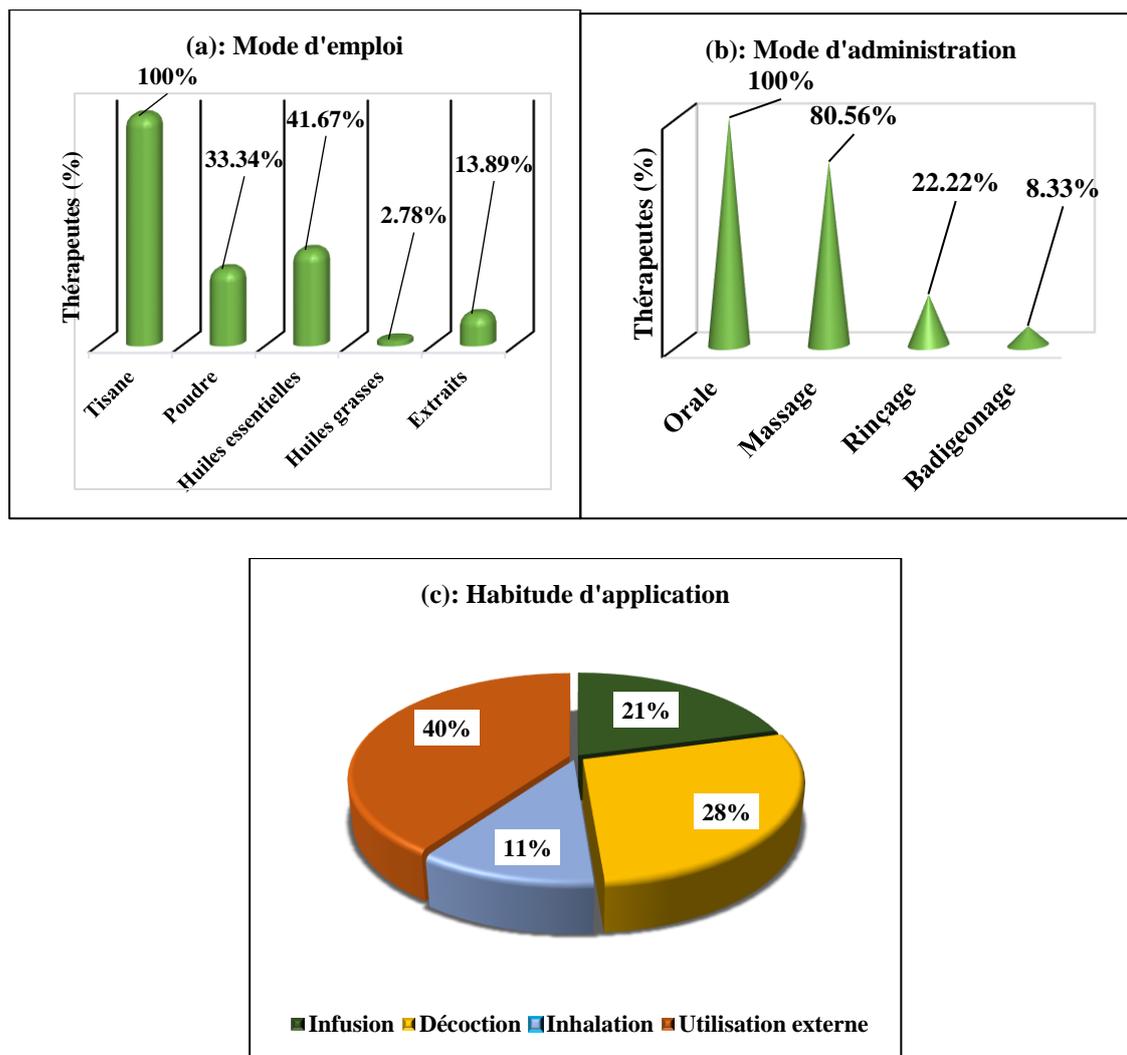


Figure 27 : Modes d'emploi et d'administration et habitudes d'application de *P. lentiscus* chez les thérapeutes enquêtés.

Deux modes de consommation différents ont été identifiés comme voies orales pour l'utilisation de *P. lentiscus* dans les applications alternatives selon les thérapeutes enquêtés, avec un pourcentage total équivalent à 49 % (28% de décoction et 21% d'infusion) (Fig. 27.c). L'inhalation a été représenté par 11% parmi les réponses à l'habitude d'utilisation de la plante (Fig. 27.c). La large utilisation de *Pistacia lentiscus* L., ainsi que la diversité de ses formes thérapeutiques, lui ont fait occuper un rang préventif et thérapeutique important pour de nombreux symptômes pathologiques, du fait des applications externes et internes de ses préparations (Villar A et al., 1987 ; Delazar A et al., 2004 ; Ben Daoued K et al., 2016 ; Murray MT et Nowicki J, 2020 ; Elloumi W et al., 2022).

II.1.7. Maladies traitées après administration de *Pistacia lentiscus*

Les résultats les plus importants de cette étude ethnobotanique sur *Pistacia lentiscus* révèlent sa large utilisation dans le traitement de nombreuses maladies ou de leurs symptômes. Parmi les maladies qui ont été traitées avec la plante par voie digestive, nous avons enregistré 24 %, tant pour les ulcères gastriques que pour les douleurs abdominales (**Fig. 28.a**). Des études antérieures ont confirmé ces résultats avec un très haut degré de concordance (**Ben Daoued K et al., 2016 ; Murray MTet Nowicki J, 2020**) ; comme certaines maladies métaboliques chroniques comme le diabète (7 %) et l'hypertension artérielle (8 %) (**Fig. 28.a**). De nombreuses études antérieures ont indiqué que les symptômes des maladies métaboliques peuvent être contrôlés à l'aide de préparations et d'extraits de *Pistacia lentiscus*, en particulier le diabète, l'hypertension artérielle et le cancer à leurs premiers stades. (**Bellakhdar J, 1997 ; Gardeli C et al., 2008 ; Dellai A et al., 2013 ; Mehenni C, et al., 2016 ; Cherbal A et al., 2017**).

Pistacia lentiscus ne se limite pas à cela, mais certains thérapeutes y voient une solution aux problèmes respiratoires et calmants à travers les voies respiratoires, comme celles qu'ont été résumé dans la **Figure 28.b**. Concernant cette classe de maladies, son traitement par *Pistacia lentiscus L.* a été mentionné dans des recherches scientifiques récentes menées par **Rodriguez-Perez C et al., (2013)**.

En plus de ce qui précède, cette plante a une excellente efficacité dans les traitements externes tels que l'arthrose et les douleurs musculaires avec 63% du total des traitements de la plante par l'usage externe. Ce qui corroborent avec des recherches antérieures (**Villar A et al., 1987**). Des études récentes ont confirmé que certains métabolites de *P. lentiscus L.* avaient des effets bénéfiques sur la cicatrisation rapide des lésions cutanées (**Elloumi W et al., 2022**). De plus, cette plante a un effet bénéfique sur l'élimination des douleurs gingivales, comme le rapportent les thérapeutes interrogés dans cette étude (**Fig. 28.c**).

II.1.8. Utilisations cosmétiques de la plante

La plante étudiée a également montré des résultats esthétiques qui varient selon l'usage cosmétique (Fig. 29) (Delazar A et al., 2004).

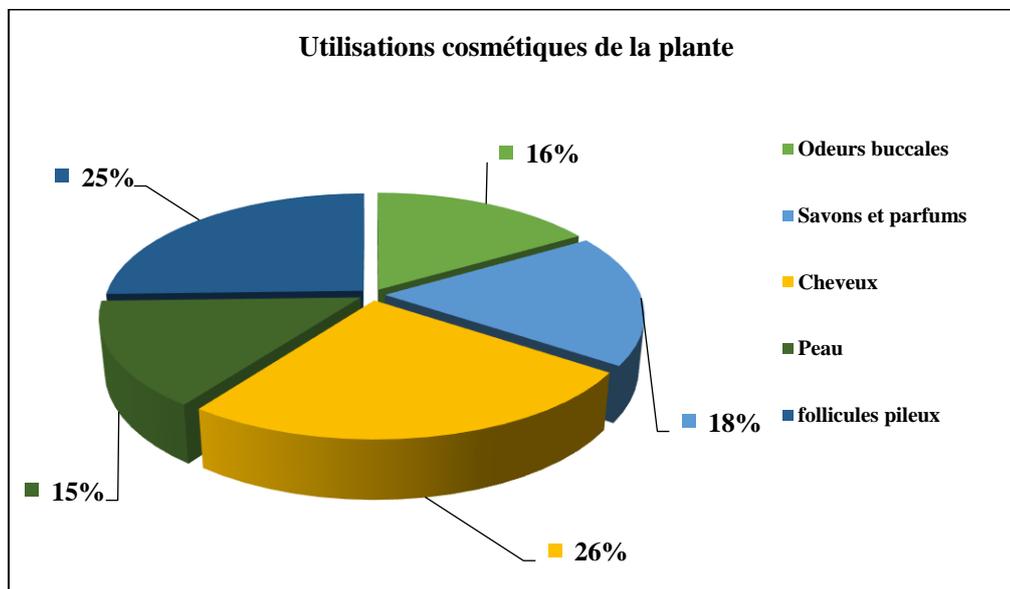


Figure 29 : Utilisations cosmétiques de *Pistacia lentiscus L.*

Depuis l'Antiquité, les humains ont utilisé diverses préparations de plantes et de leurs huiles pour les processus de santé et de beauté. De nombreuses préparations à base de plantes ont été la solution cosmétique. Pour préserver la peau contre les rayons du soleil, pour exclure les odeurs désagréables, pour parfumer le corps, pour maintenir l'élégance apparente du corps en général. D'autre part, on a découvert depuis peu les propriétés anti-âges de sa résine (ou larmes obtenues après incision de l'écorce), communément appelée mastic. Cette gomme végétale offre ses bienfaits revitalisants, lissants et antioxydants à de nouveaux soins anti-âge performants. Riche en acide oléanolique, elle aide la peau à retrouver ses capacités de régénération naturelle (Ben Daoued K et al., 2016 ; Elloumi W et al., 2022 ; Cosmeticobs, 2023).

II.2. Etude phytochimique de *P. lentiscus L.*

L'étude phytochimique a été effectuée sur deux écotypes des feuilles de *Pistacia lentiscus L.*, différentes en termes de climat dans lequel il vit, le premier de Mesra (Mostaganem) et second de Mohammadia (Mascara). Pour sélectionner l'écotype le plus crédible s'en est basé sur le rendement d'extraction méthanolique et sur l'activité antioxydante.

II.2.1. Caractérisation de l'extrait méthanolique des feuilles

Le tableau 1 résume le rendement d'extraction du méthanol et ses caractéristiques physiques. Le rendement de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus L.* était de 37,1% et 32,4% pour les variétés Mesra et Mohammedia respectivement. Il correspond à celui obtenu dans une étude menée par **Lagha et al. (2006)** (41,83 %) et (36,03 %) dans celle de **Hemma R et al. (2018)**. Cette différence est due à de nombreux facteurs biotiques et abiotiques tels que les caractéristiques génétiques, le type de sol, la zone géographique, le climat et le mode de préparation de l'extrait.

Tableau 06 : Caractéristiques physiques de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus L.* récolté dans deux régions du Nord-Ouest algérien.

Extrait méthanolique	Mesra (Mostaganem)	Mohammadia (Mascara)
Rendement (%)	37.1 ± 1.05	32.4 ± 0.75
Couleur	Vert foncé	Vert foncé
Aspect	Pâteux	Pâteux

II.2.2. Screening phytochimique qualitatif

L'étude qualitative des composés biochimiques présents dans les tissus structuraux des feuilles de la plante *Pistacia lentiscus L.* récoltées dans les deux régions précédemment citées a permis de déterminer la présence d'une quantité considérable de métabolites secondaires à activité biologique (tanins, flavonoïdes, anthraquinones libres, saponines, stéroïdes, terpénoïdes, composés réducteurs). Nous avons par ailleurs enregistré l'absence de deux types de fonctions chimiques organiques représentées dans les anthocyanes, les stérols et les triterpènes, avec un faible résultat positif enregistré pour les deux derniers composés dans l'échantillon de Mesra (**tableau 02**). Les feuilles de *P. lentiscus L.* sont très riches en métabolites, notamment en polyphénols, flavonoïdes et tanins (**Missoun F et al., 2017 ; Barbouchi M et al., 2020 ; Mechqoq H et al., 2022**). Qualitativement, la composition exacte de la plante en éléments structuraux et classes fonctionnelles chimiques a été enregistrée dans les deux régions.

Tableau 07 : Composition chimique de l'extrait méthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus L.* récoltées dans deux régions du Nord-Ouest de l'Algérie.

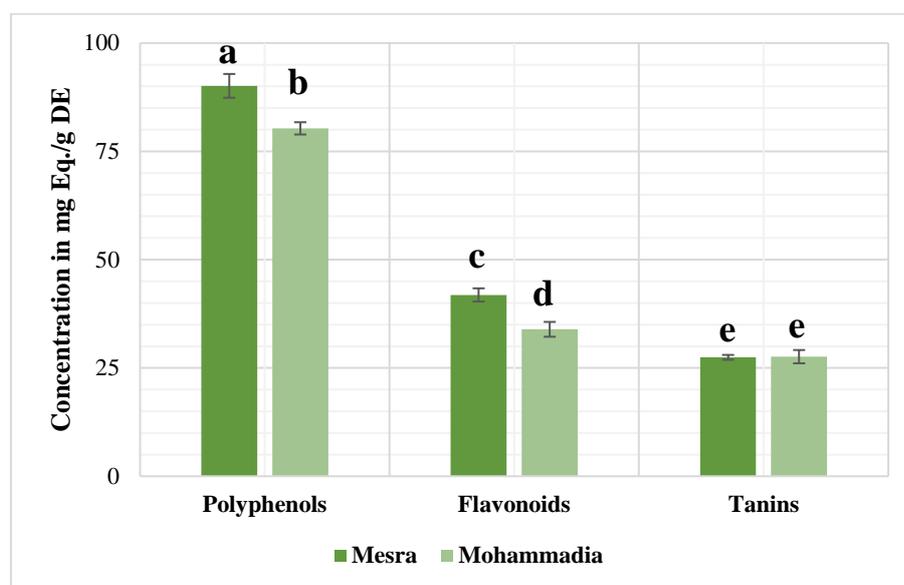
Composants chimiques	Variétés	
	Mesra	Mohammedia
Tannins	++	++
Flavonoïdes	++	++
Free anthraquinones	++	++
Anthocyanines	-	-
Saponines	+	+
Stéroïls and triterpènes	-/+	-
Stéroïdes	+	+
Terpènoïdes	+	+
Composés réducteurs	+	+
Alcaloïdes	+	+

++ : Réaction modérément positive + : Réaction faiblement positive -/+ : Réaction positive très faible - : Réaction négative

II.2.3. Etude Phytochimique quantitative

Une étude quantitative des composés biologiquement actifs présents dans les feuilles de la plante *Pistacia lentiscus L.* récoltée dans deux régions différentes a été réalisée afin de déterminer les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins. D'après les **figures 12, 13 et 14**, une teneur en polyphénols et en flavonoïdes sont importants. L'extrait méthanolique de Mesra *Pistacia lentiscus L.* (Mostaganem) a révélé une teneur en polyphénols et flavonoïdes de l'ordre de $90,12 \pm 2,74$ mg EqGAc/g DW autre $41,86 \pm 1,52$ mg EqCer/g DW, pour à celui de Mohammadia (Mascara) ($80,31 \pm 1,42$ mg EqGAc et $33,92 \pm 1,71$ mg Eq Cer/g DW) respectivement. Ainsi, une différence significative a été enregistrée ($P < 0,05$) (**Fig. 30**).

De nombreuses études confirment la présence de ces métabolites secondaires chez *Pistacia lentiscus* (Romani A et al., 2002, Vaya J et Mahmood S, 2006 ; Gardeli C et al., 2008 ; Cherbal A et al., 2012 ; Zitouni A et al., 2016 ; Missoun F et al., 2017 ; Barbouchi M et al., 2020). Aussi, une convergence importante avec un effet non significatif a été enregistrée dans la teneur en tanins condensés pour les deux variétés de *P. lentiscus L.* de Mascara et Mostaganem ($27,45 \pm 056$ mg EqCat/g DW et $27,61 \pm 1,53$ mg EqCat/g DW) respectivement (Fig. 30). Les tanins sont également des composés essentiels chez *Pistacia lentiscus L.* (Landau S et al., 2010 ; Mechqoq H et al., 2022).



(a, b, c, d et e : les classes de différenciation avec un effet significatif entre les concentrations des variétés testées en fonction de deux facteurs de comparaison) ($P < 0.05$). a vs b : une différence avec effet significatif au niveau de polyphénols entre les deux variétés, indique une supériorité à l'extrait de Mesra. c vs d : une différence avec effet significatif au niveau de flavonoïdes entre les deux variétés, indique une supériorité à l'extrait de Mesra.

Figure 30 : Comparaison de la teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins (*Pistacia lentiscus L.* Mesra vs Mohammedia).

II.2.4. Résultats de l'activité antioxydante *in vitro*, et détermination de la concentration inhibitrice à 50%(IC50)

Les résultats présentés dans la **Figure 31** ont révélé le pouvoir de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus L.* des deux variétés Mesra (**Fig. 31.a**) et Mohammedia (**Fig. 31.b**) à réduire le DPPH des radicaux libres. Ainsi, l'extrait méthanolique de *P. lentiscus L.* a présenté un pouvoir antioxydant important (96,63 %

pour Mesra et de 95,49 % pour Mohammedia à une concentration de 1,25 mg/mL). Graphiquement, la valeur IC50 a été déterminée à 0,06 mg/mL et 0,1 mg/mL pour l'extrait méthanolique des variétés Mesra et Mohammedia, respectivement.

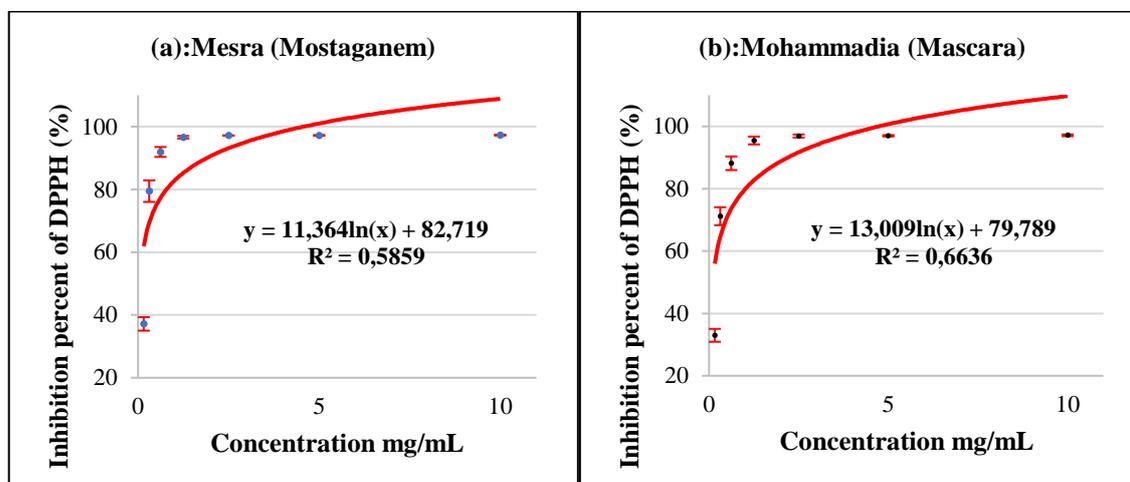


Figure 31 : Pourcentage d'inhibition des radicaux libres DPPH de l'extrait méthanolique des deux extraits de *Pistacia lentiscus L.* (Mesra vs Mohammedia).

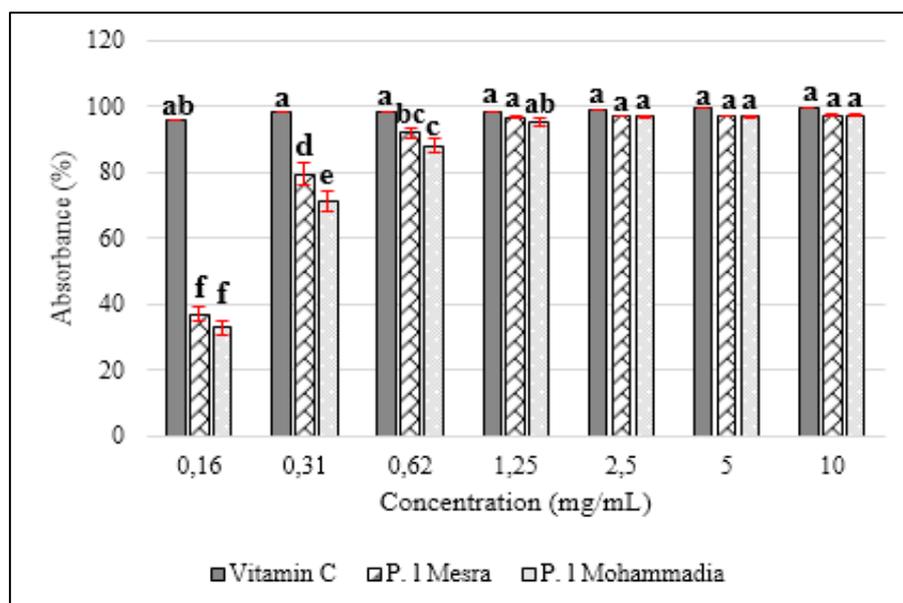
Les tendances logarithmiques d'inhibition de chaque variété (extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus L.* de Mesra et de Mohammedia) et de la vitamine C (standard) ont été montrées à partir des **figures 31.a et 31.b**.

La capacité antioxydante des composés phénoliques résulte du potentiel redox élevé et de la capacité à éliminer les atomes d'électron ou d'hydrogène des radicaux libres, ce qui provoque une rupture des chaînes de réaction, qui génère alors un stress oxydatif (Tsao R et Deng Z, 2004). La valeur IC50 était plus efficace pour l'extrait de Mesra que celui de Mohammedia. Ces résultats étaient conformes aux études précédentes menées au Maroc (0,08 mg/mL) (Mechqoq H et al., 2022), (0,12 mg/mL) à Blida, Algérie (Hemma R et al., 2018), et (0,05 mg/mL) à Sétif, Algérie (Ferradji A, 2011).

Bien que l'activité antioxydante de l'acide ascorbique standard soit plus élevée avec les concentrations les plus faibles (**Fig. 15**), des valeurs relatives ont été enregistrées à partir de la concentration de 1,25 mg/l en utilisant l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus L.* de Mesra et Mohammedia (**Fig. 32**). Ces activités reflètent une influence de certains facteurs tels que le type de solvant et sa polarité ainsi que le système utilisé. Il est donc indispensable de faire un dosage global des différents composés antioxydants

présents dans la plante pour mettre en œuvre les différents mécanismes antioxydants (Wong SP et al., 2006 ; Benmagnhia S et al., 2019).

Statistiquement, les résultats ont montré une différence significative de l'effet antioxydant entre les trois substances (les deux extraits méthanolique de Mohammedia et Mesra et la vitamine C) ($P < 005$). Ainsi, cette comparaison a confirmé que l'acide ascorbique était un antioxydant puissant, souvent classé dans le groupe A. Alors que l'activité antioxydante de l'extrait de *Pistacia lentiscus L.* était majoritairement conforme à la référence conventionnelle (vitamine C) de 0,31 à 10 mg/mL. Aussi, une différence significative ($p < 0,05$) a été enregistrée entre les deux extraits méthanoliques des deux régions de Mohammedia et Mesra. Là où le plus grand pouvoir antioxydant a été enregistré dans l'extrait de Mesra pour les concentrations comprises entre 0,31 mg/mL et 1,25 mg/mL (Fig. 32).



P. I Mesra : Extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* récoltées dans la région de Mesra.
P. I Mohammedia : Extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* récoltées dans la région de Mohammedia.
(a, ab, bc, c, d, e et f : les classes de différenciation d'activité ant-oxydante avec un effetsignificatif entre les concentrations des variétés testées par rapport à la vitamine C) ($P < 0.05$). a vs ab : une différence avec effet significatif à la concentration 1.25 mg/mL entre les deux variété de groupe a (vit C et l'extrait de Mera) par rapport au groupe ab (l'extrait de Mohammedia). a vs bc vs c : les groupes qui représentent le premier effet significatif triple entre les trois substances avec supériorité à la vit C et l'extrait de Mesra, respectivement à 0.62 mg/mL. ab vs f : un effet significatif entre la vit C et les deux extraits au groupe f à la fois pour la concentration la plus inférieure (0.16 mg/mL).

Figure 32 : Activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *P. lentiscus L.* des deux régions comparativement à celle de l'acide ascorbique.

II.3. Toxicité et anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de *P.*

lentiscus

Le rendement de l'extraction méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* pour chaque écotype, l'étude phytochimique qualitative (composition organique) et quantitative (Dosage de polyphénols, de flavonoïdes et de tannins) de l'extrait et l'évaluation de la puissance antioxydante, ainsi que la valeur de la concentration inhibitrice IC50 de chaque extrait parmi les deux variants examinés ont permis de choisir le meilleur extrait pour entamer la partie des activités biologiques (toxicité, effet anti-inflammatoire, antimicrobienne, anti-adhésion et antibiofilm et la productivité des Exopolysaccharides). Selon ces facteurs d'exclusion, l'écotype de Mesra (Mostaganem) a un avantage par rapport à celui de Mohammedia (Mascara).

II.3.1. Evolution de l'effet hémolytique et antihémolytique *in vitro*, de *Pistacia lentiscus* L. de la région de Mesra (Mostaganem)

Dans cette partie, la cytotoxicité est suivie par la fuite d'hémoglobine intracellulaire des globules rouges humains. La **figure 33** présente l'évolution de l'effet hémolytique, (par absorbance), dans un milieu tampon PBS (pH 7.4) contenant une suspension érythrocytaire, incubée à 37°C, et en présence des différentes concentrations (25 mg/mL, 50 mg/mL, 100 mg/mL et 200 mg/mL), d'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* L.

D'après les résultats obtenus, nous avons enregistré des augmentations des absorbances (taux d'hémolyse) durant l'incubation des érythrocytes isolés dans du PBS (pH 7,4). De même, nous avons noté que les absorbances augmentent aussi en fonction des concentrations (25 mg/mL, 50 mg/mL, 100 mg/mL, 200 mg/mL).

La figure 34 représente le taux d'hémolyse, par pourcentage (%) dans un milieu tampon PBS (pH 7.4) contenant une suspension érythrocytaire, incubée à 37°C, en présence des différentes concentrations (25 mg/mL, 50 mg/L, 100 mg/mL et 200 mg/mL) d'extrait méthanoliques de *Pistacia lentiscus* L.

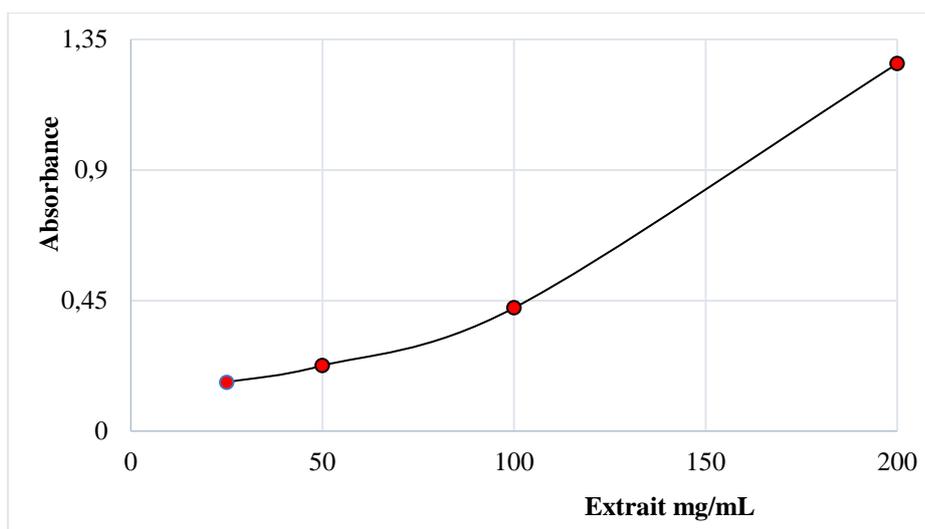
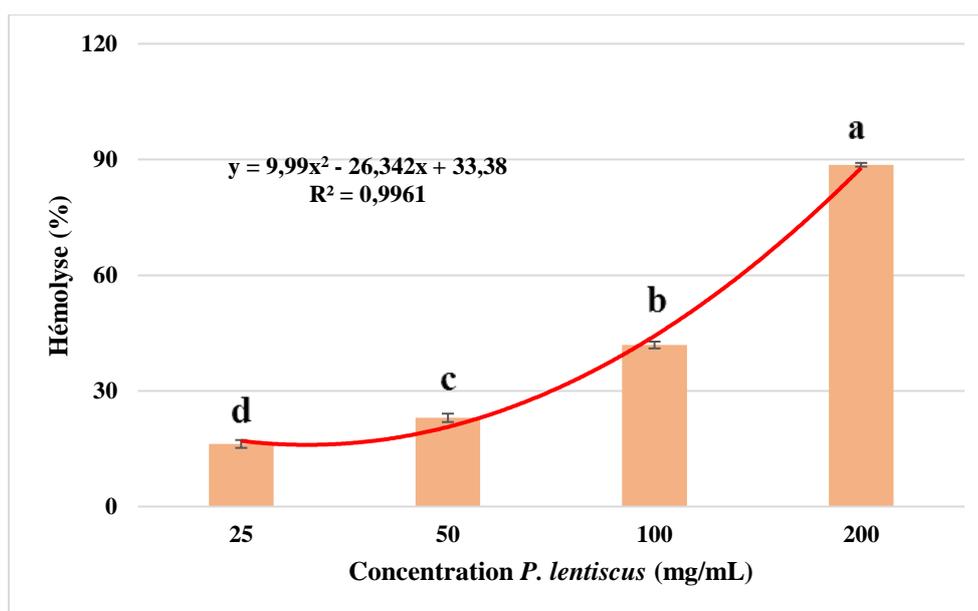


Figure 33 : Evolution de taux d'hémolyse (par absorbance) dans les tubes contenant une suspension érythrocytaire en présence des différentes concentrations d'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus L.*



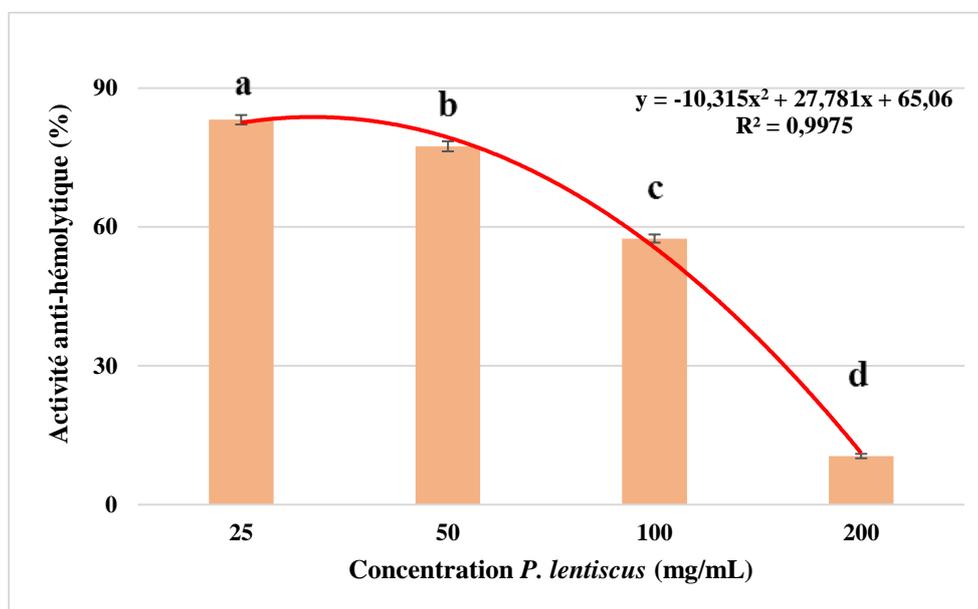
(a, b, c et d : les classes de graduation significative du pourcentage d'hémolyse entre les 4 concentrations de l'extrait de *P. lentiscus* utilisées) ($P < 0.05$).

Figure 34 : Taux d'hémolyse (%) des différentes concentrations de l'extrait.

D'après les résultats (**Fig. 34**), nous avons noté des taux d'hémolyses très bas de l'ordre de (16,64%, 23,02%), pour les concentrations (25, 50 mg/mL respectivement). Ces deux concentrations ne présentent aucune différence significative. On note des taux élevés de l'ordre de (41,9%, 88,64%) à (100 et 200 mg/mL) avec une différence significative ($P < 0.05$).

L'effet hémolytique des feuilles des plantes médicinales a été étudié dans diverses recherches scientifiques. Selon **Hadduchi (2014)**, Le test d'hémolyse réalisé a montré que les quatre espèces (d'*Asteriscus graveolens*, de *Cymbopogon schoenanthus*, de *Panicum turgidum* et de *Pituranthos scoparius*) présentent un effet hémolytique faible. Cependant, les extraits de *Cymbopogon schoenanthus* et de *Panicum turgidum* peuvent être légèrement hémolytiques à des concentrations élevées par rapport à notre plante (**Tanaka et al., 2021**).

L'hémolyse est la destruction des globules rouges peut être causée par des substances naturelles ou synthétiques. Cette activité peut être bénéfique dans certaines conditions médicales, mais elle peut également être toxique en cas d'utilisation inappropriée.



(a, b, c et d : les classes de graduation significative de l'activité antihémolytique entre les 4 concentrations de l'extrait de *P. lentiscus* utilisées) ($P < 0.05$).

Figure 35 : Evolution de pourcentage d'inhibition d'hémolyse (%) des différentes concentrations d'extrait méthanolique.

D'après les résultats représentés dans la **figure 35**, nous avons noté des taux antihémolytiques très bas de l'ordre de (10,5%, 57,5%), pour les concentrations (200 mg/mL, 100 mg/mL respectivement) avec une différence significative ($P < 0.05$). Ce taux est moyennement augmenté (77,43%, 83,17%) pour (50,25 mg/mL) avec une différence significative ($P < 0.05$).

Une étude réalisée par **Sassi et al. (2019)** a examiné l'effet hémolytique et anti hémolytique de l'extrait de feuilles de *Pistacia lentiscus L.* sur les globules rouges de souris qui a démontré une activité hémolytique dose-dépendante et antihémolytique, ce qui signifie que plus la dose est élevée, plus l'activité hémolytique est importante et par contre, plus la concentration est faible, plus l'effet hémolytique est faible. Cependant, l'activité hémolytique de l'extrait était modérée par rapport à celle d'autres plantes ayant des propriétés hémolytiques plus marquées (**Sassi et al., 2019**).

Selon **Adel et al. (2010)**, plus la concentration augmente, plus la toxicité s'accroît. Ceci peut être expliqué par l'épuisement des substances toxiques dans l'extrait.

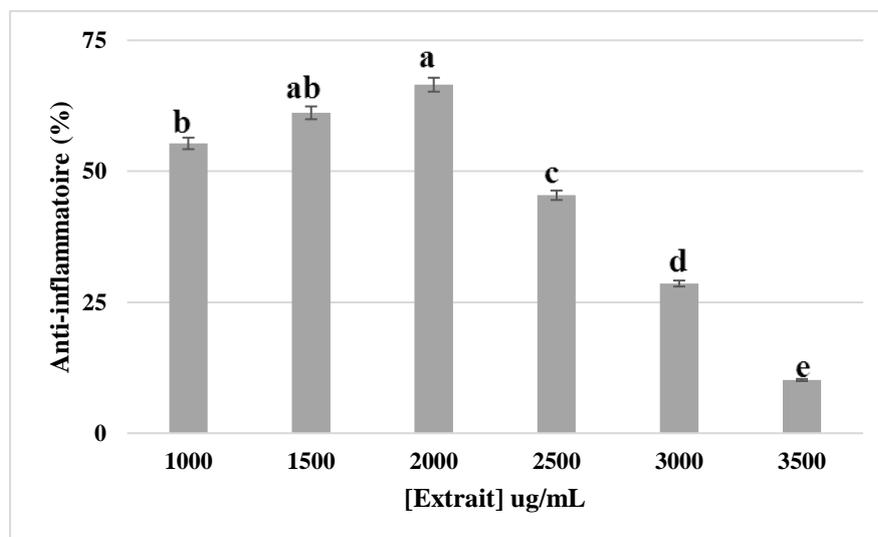
En revanche, une étude plus récente menée par **Abdeddaim et al. (2021)** a examiné l'effet hémolytique de différents extraits de *Pistacia lentiscus L.*, y compris ceux préparés à partir des feuilles, des fruits et de la résine, ainsi que des extraits aqueux et éthanoliques. Les résultats ont montré que tous les extraits testés avaient une activité hémolytique faible à modérée, mais que l'extrait de feuilles avait l'activité hémolytique la plus faible de tous les extraits testés (**Abdeddaim et al., 2021**).

Nos résultats suggèrent que l'extrait de feuilles de *Pistacia lentiscus.* a une activité hémolytique modérée, qui varie en fonction de la préparation de l'extrait, de la dose administrée et des conditions expérimentales.

II.3.2. Résultats de l'évaluation *in vitro*, de l'activité anti inflammatoire de l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* (par Dénaturation de l'ovalbumine)

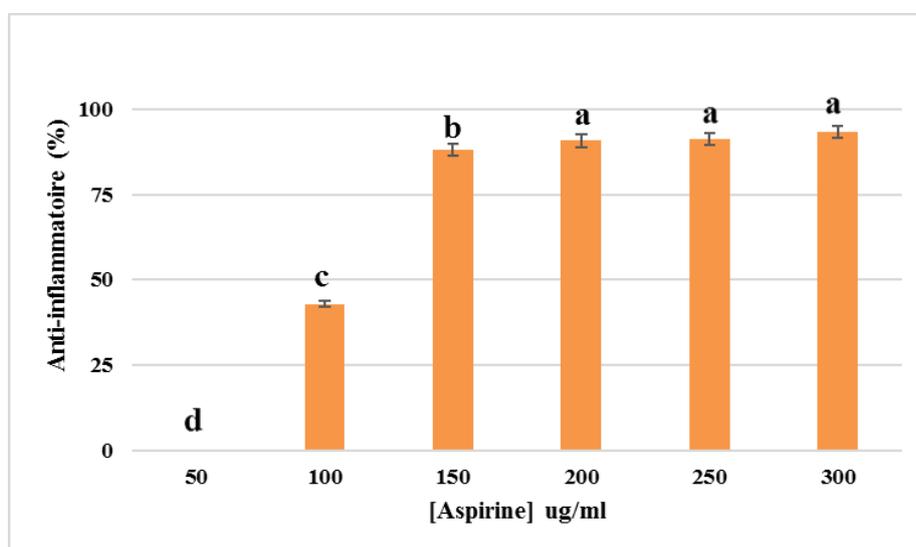
Les résultats de cette étude représentés dans la **figure 36**, révèlent des pourcentages d'inhibitions de la dénaturation de l'ovalbumine par l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus*. Le pourcentage d'inhibition le plus haut marqué 66,53%, est enregistré pour la concentration 2000 µg/mL avec ($P < 0.05$), suivi par un pourcentage de 61,16% avec 1500 µg/mL. Par contre, le pourcentage le plus faible a été obtenu à 3000 µg/mL et 3500 µg/mL avec 28.58 % et 10,16% respectivement (avec une différence significative ($P < 0.05$)) (**Fig. 36**) comparativement au témoin (Aspirine) qui a donné des pourcentages d'inhibition d'environ 42,91 % à une concentration de 100 µg/mL et de

90,81%, 91,39%, 93,39 pour les doses 200, 250 et 300 $\mu\text{g/mL}$ respectivement où aucune différence significative n'a été enregistrée ($P < 0.05$). (Fig. 34).



(a, ab, b, c, d et e : les classes de graduation significative de l'activité anti-inflammatoire entre les 6 concentration de l'extrait de *P. lentiscus* utilisées, avec supériorité a 2000 $\mu\text{g/mL}$) ($P < 0.05$).

Figure 36 : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine par différentes concentrations d'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus*.



(a, b, c et d : les classes de graduation significative de l'activité anti-inflammatoire entre les 4 concentration inférieures de l'aspirine, avec activité anti inflammatoire négative à la concentration 50 $\mu\text{g/mL}$) ($P < 0.05$).

Figure 37 : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine par l'aspirine.

La dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) est une méthode courante

utilisée pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits végétaux, y compris l'extrait des feuilles de *Pistacia lentiscus*.

Dans une étude de **Boubaker et al.,(2009)**, l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de *Pistacia lentiscus* a été évaluée en utilisant la dénaturation de la BSA. Les résultats ont montré une activité anti-inflammatoire significative, en empêchant la dénaturation de la BSA induite par la chaleur (**Boubaker et al., 2009**) et par la présence de peroxyde d'hydrogène et d'agent oxydants (**Jahanban et al., 2017**).

D'après **Boukeloua et al. (2012)** l'activité anti-inflammatoire de différents extraits de *Pistacia lentiscus* en utilisant la dénaturation de la BSA comme modèle *in vitro* montre une activité inhibitrice maximale à une concentration de 100 µg/mL, mais que cette activité diminuait à des concentrations plus élevées. Ces travaux sont en accord avec nos résultats. Aussi, les auteurs ont suggéré que cela pourrait être dû à un effet de saturation des récepteurs ou à une compétition avec d'autres composés présents dans l'extrait à des concentrations plus élevées (**Boukeloua et al., 2012, Bouzena et al., 2016**). Ils suggèrent que l'activité anti-inflammatoire de l'extrait pourrait être liée à son activité antioxydante.

Ces résultats suggèrent que la concentration des composés actifs peut jouer un rôle important dans leur activité biologique, y compris leur activité anti-inflammatoire.

D'après **Sangeetha (2011)**, l'extrait de *Pistacia lentiscus* est capable de contrôler la production d'auto-antigène par l'inhibition de la dénaturation des protéines. L'activité inhibitrice de la dénaturation de l'ovalbumine est peut-être attribuée à la présence de différents composés bioactifs tels que les flavonoïdes et les tannins (**Sangeetha, 2011**).

Ces études *in vitro*, suggèrent que l'extrait de feuilles de *Pistacia lentiscus* peut avoir un potentiel anti-inflammatoire grâce à sa capacité à empêcher la dénaturation de la BSA. Cependant, d'autres études *in vivo*, sont nécessaires pour confirmer ces résultats.

II.3.3. Résultats de l'évaluation *in vivo*, de la toxicité aiguë de l'extrait méthanolique de *P. lentiscus*

II.3.3.1. Toxicité aiguë

L'administration orale d'extraits *Pistacia lentiscus* n'a pas entraîné la mort des

rats dans tous les lots traités. Les observations n'ont révélé aucun signe d'asthénie, de somnolence, d'anorexie, de diarrhée ou de réduction de la mobilité durant la période expérimentale juste pour la concentration élevée. La dose létale 50 (DL50) est donc supposée être supérieure aux doses testées (**Tableau 08**).

Tableau 08 : Résultats de la toxicité aiguë de l'extrait méthanolique de *P. lentiscus L.*

	Dose mg\kg	Nombre des rats morts	Symptômes
Témoin	/	0/6	Rien à signaler
	200 mg\kg	0/6	Rien à signaler
	500 mg\kg	0/6	Rien à signaler
EMPL	800 mg\kg	0/6	Rien à signaler

EMPL : extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*.

II.3.3.2. Poids des organes

L'observation des différents organes après 15 jours de suivi n'a montré aucun changement morphologique des organes des rats traités par l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* aux doses 200 mg/kg jusqu'à 800 mg/kg en comparaison avec les organes des rats non traités que ce soit pour la couleur ou la texture. Aucune différence n'a été observée entre le poids des différents organes des rats traités et ceux des rats témoins (**Tableau 09**).

Tableau 09 : Le poids des différents organes des rats traités par l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus L.*

Poids des organes (g)				
	Dose mg\kg			
Organes	Témoin	200mg\kg	500mg\kg	800mg\kg

Foie	8,97 ± 0,53	9,77 ± 0,81	9,51 ± 0,69	8,79 ± 0,7
Rein	1,7 ± 0,4	1,73 ± 0,29	1,8 ± 0,12	1,7 ± 0,14
Poumons	1,86 ± 0,23	2,12 ± 0,53	1,96 ± 0,3	1,73 ± 0,28
Cœur	0,74 ± 0,2	0,77 ± 0,18	0,62 ± 0,07	0,84 ± 0,09
Rate	0,91 ± 0,1	1,13 ± 0,34	0,92 ± 0,04	0,92 ± 0,24

II.3.3.3. Analyses biochimiques et hématologiques

L'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* de Mesra (Mostaganem) n'a entraîné aucun changement concernant le bilan hépatique (ASAT, ALAT) dans les lots traités aux doses 200 mg/Kg et 500 mg/Kg et 800 mg/kg en comparaison avec le lot témoin. Aucune différence n'a été observée à l'exception de l'enzyme TGO qui a diminué pour les deux lots 200 mg/kg et 500 mg/kg. Une augmentation a été observée pour l'urée chez les rats des trois groupes qui a reçu l'extrait à la dose 200 mg/kg, 500 mg/kg, 800 mg/Kg. Cependant aucun changement n'a été observé pour le taux de la créatinine dans les groupes traités par l'extrait à différentes doses en comparaison avec le lot témoin (Tableau 10).

Tableau 10 : Paramètres biochimiques des rats traités et non traités par l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus*.

BIOCHIMIE				
Paramètre	Témoin	Dose 200 mg/kg	Dose 500 mg/kg	Dose 800 mg/kg
Urée (g/l)	0,24 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,46 ± 0,122
Créatinine (mg/l)	7,7 ± 0,62	8 ± 0,6	7,13 ± 0,77	7,96 ± 1,04
TGO (UI/l)	204,8 ± 19,7	111,46 ± 29	94,9 ± 20,1	216,94 ± 186,04
TGP (UI/l)	195 ± 3,57	106,7 ± 29,4	82,33 ± 3,67	131,03 ± 72,97
IMUNNOLOGIE				
Paramètre	Témoin	Dose 200mg/kg	Dose 500mg/kg	Dose 800mg/kg
CRP (UI)	< 6	< 1	< 1	< 1

Après administration orale de l'extrait méthanolique, un suivi des rats a été mené

pendant 15 jours. D'après les résultats, aucun changement dans le bilan hématologique chez la lignée érythrocytaire (GR, Hémoglobine, Hématocrite, VGM, TCMH, CCMH, IDRC, VPM) n'a été signalé. Une augmentation chez la lignée leucocytaire (GB, PNN, LYMPH, Monocytes, Plaquettes) a été observée chez les groupes de rats traités aux différentes doses par rapport au groupe témoin (**Tableau 11**).

Tableau 11 : Paramètres hématologiques des rats traités et non traités par l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus*.

Paramètres hématologiques				
	Lignée érythrocytaire			
Paramètre	Témoin	Dose 200mg/kg	Dose 500mg/kg	Dose 800mg/kg
Nombre de GR 10⁶/mm³	8,11 ± 0,85	6,68 ± 2,97	6,58 ± 0,56	6,34 ± 0,14
Hémoglobine g/dl	14,5 ± 0,3	14,2 ± 0,1	14 ± 1,1	12,95 ± 0,25
Hématocrite %	39,1 ± 0,6	35,06 ± 1,94	33,75 ± 2,75	33,2 ± 0,9
VGM(fl)	48,2 ± 0,3	52,46 ± 1,34	51,25 ± 0,35	52,35 ± 1,55
TCMH (pg)	17,8 ± 0,4	21,03 ± 0,3	21,4 ± 0,3	20,45 ± 0,85
CCMH (g/dl)	36,9 ± 0,6	40,03 ± 0,87	41,8 ± 0,2	39 ± 0,4
IDR%	13,5 ± 1,2	14,46 ± 1,04	12,06 ± 0,1	12,6 ± 0,01
	Lignée leucocytaire			
Paramètre	Témoin	Dose 200mg/kg	Dose 500mg/kg	Dose 800mg/kg
Nombre de GB 10³/mm³	1,1 ± 0,2	8 ± 1,1	10,3 ± 2	6,65 ± 2,7
	Equilibre leucocytaire			
Paramètre	Témoin	Dose 200mg/kg	Dose 500mg/kg	Dose 800mg/kg
PNN %	39,5 ± 1,2	21,4 ± 3,2	25,6 ± 0,5	21,1 ± 2
PNN 10³/mm³	0,5 ± 0,44	1,73 ± 0,47	2,5 ± 0,01	1,39 ± 0,5

Lymphocytes %	47,7 ± 0,6	67,1 ± 7,4	63,75 ± 6,05	68,3 ± 10,4
Lymphocytes 10³/mm³	0,5 ± 0,1	6,71 ± 0,1	6,7 ± 0,2	4,65 ± 1,45
Monocytes %	12,8 ± 1,3	11,46 ± 2	10,65 ± 1,05	10,6 ± 8,9
Monocytes 10³/mm³	0,1	0,9 ± 0,3	1,1 ± 0,1	0,65 ± 0,15
	Lignée plaquettaire			
Paramètre	Témoin	Dose 200mg/kg	Dose 500mg/kg	Dose 800mg/kg
Plaquette 10³/mm³	828 ± 13,5	1059 ± 147	911,5 ± 41,5	837,5 ± 11,5
vpm (fl)	6,3 ± 0,5	6,23 ± 0,17	6,25 ± 0,5	6,25 ± 0,5

Une étude publiée en 2020 par **Ostovan et al.**, a examiné l'effet d'une dose unique de 5 g/kg d'extrait de *Pistacia lentiscus* chez des rats. Les résultats ont montré qu'il n'y avait pas de mortalité ou de signes de toxicité aiguë chez les rats, et que les doses utilisées n'ont pas eu d'effet remarquable sur les paramètres hématologiques ou biochimiques (**Ostovan et al., 2020**).

En 2022, **Rauf et al.**, a examiné l'effet de doses répétées (100, 200 et 400 mg/kg) d'un extrait de *Pistacia lentiscus* chez des rats pendant 28 jours. Les résultats ont montré que les doses utilisées n'ont pas eu d'effet remarquable sur les paramètres hématologiques ou biochimiques, mais ont entraîné une légère augmentation du poids du foie à la dose la plus élevée (400 mg/kg). La dose létale 50 (DL50) est donc supposée être supérieure aux doses testées (**Rauf et al., 2022**).

La présente étude montre que l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* n'ont entraîné ni la mort ni des changements de comportement des rats qui ont reçu par voie orale en une seule dose des extraits aux concentrations 200mg/kg, 500mg/Kg et 800mg/Kg. Étant donné qu'aucun effet toxique n'a été observé au cours de l'étude de la toxicité aiguë.

Des observations ont révélé l'absence de changements dans le poids des organes,

notamment le cœur, le foie, la rate, les reins et les poumons, indiquant que l'administration de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus L.* n'affectait pas leur croissance normale. Le poids relatif des organes est généralement utilisé comme un indicateur sensible dans les études de toxicité (**Lullmann, 2008**).

L'étude de la toxicité des médicaments et des extraits végétaux nécessite une analyse de la fonction hépatique et rénale, car ces organes sont indispensables à la survie d'un organisme (**Wolf et al., 1972**).

Des analyses hématologiques et biochimiques ont été réalisées pour détecter d'éventuelles altérations de la fonction hépatique et rénale causées par l'ingestion des extraits. L'élévation des niveaux d'ASAT et d'ALAT dans le sang est le résultat de leur libération consécutive à la lésion des cellules hépatiques (**Ahmada et al., 2013 ; Aïssatou et al., 2017**).

Chez les rats traités, une administration aiguë de l'extrait méthanolique à des doses de 200,500 et 800 mg/Kg a entraîné une diminution des niveaux de l'enzyme ASAT. Cette diminution des enzymes hépatiques ASAT et/ou ALAT et/ou PA peut suggérer un effet hépatoprotecteur de la plante, ce qui pourrait expliquer les résultats obtenus. Pour la fonction rénale, aucune différence n'a été observée entre les taux de créatinine et d'acide urique chez les rats témoins et ceux traités. Nos résultats sont en accord avec plusieurs travaux (**Gowda et al., 2010 ; Gregg et al., 2000 ; Mukinda et al., 2007**).

L'analyse des paramètres sanguins est importante car elle donne des informations sur la fonction hématopoïétique (évaluation des cellules de la lignée myéloïde), sur l'apparition d'allergies (études des globules blancs) et sur les effets intravasculaires comme l'hémolyse. Le bilan hématologique n'a montré aucune différence entre les groupes de rats.

Certaines parties de la plante, en particulier les feuilles et les fruits immatures, contiennent des composés potentiellement toxiques, tels que des terpènes, des flavonoïdes et des acides gras insaturés. La toxicité de la plante dépend de plusieurs facteurs, tels que la quantité consommée, la sensibilité individuelle et la méthode de préparation. Il est alors important de noter que la consommation excessive de certaines parties de la plante peut provoquer des effets indésirables tels que des nausées, des vomissements, des douleurs abdominales, des diarrhées.

II.3.3.4. Examen histopathologique des organes des rats

La comparaison d'organes : le foie, les reins, le cœur, la rate, les poumons, l'intestin des rats traités avec les différentes doses de 200 mg/kg, 500 mg/kg, 800 mg/kg par rapport aux témoins sains ont montré des structures hépatiques et rénales bien préservées, aucun signe de lyse cellulaire inhérent à la toxicité possible d'extrait méthanolique des feuilles, aucune lésion organique n'a été observée ou fibrose rénale ou hépatique. Des signes d'hyperémie, probablement dus au sacrifice, ont été observés dans les lots traités et témoins (fig 38).

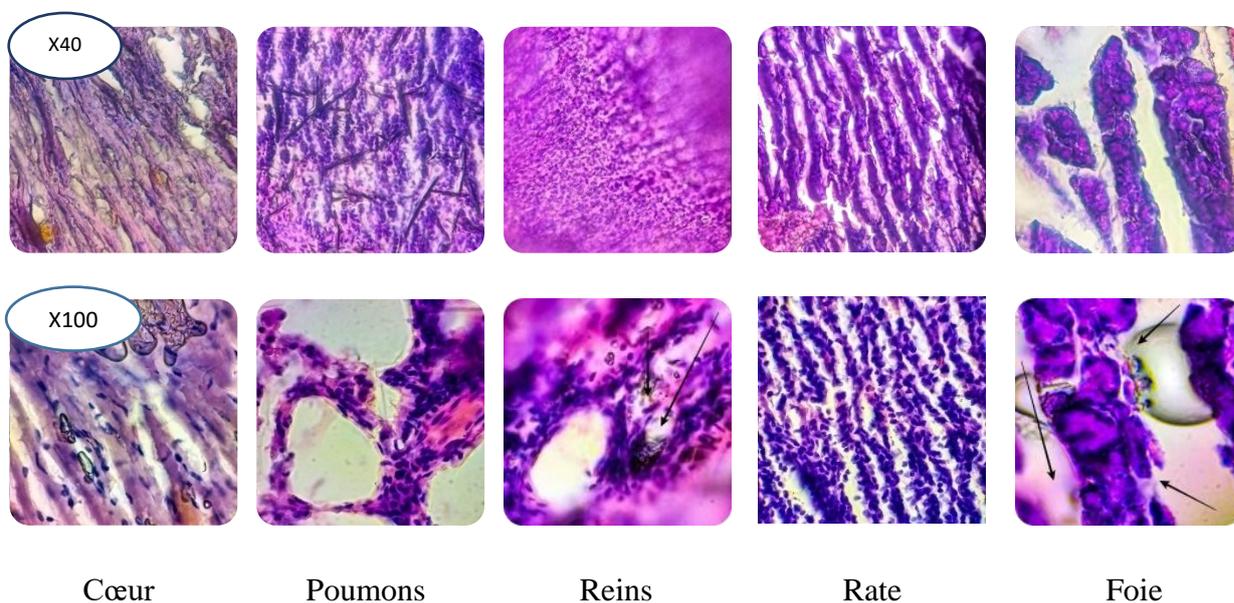


Figure 38 : Histologie des organes des rats traités par l'EMeOH de *Pistacia lentiscus* L. à la dose 200 mg/kg (GX40 ; GX100).

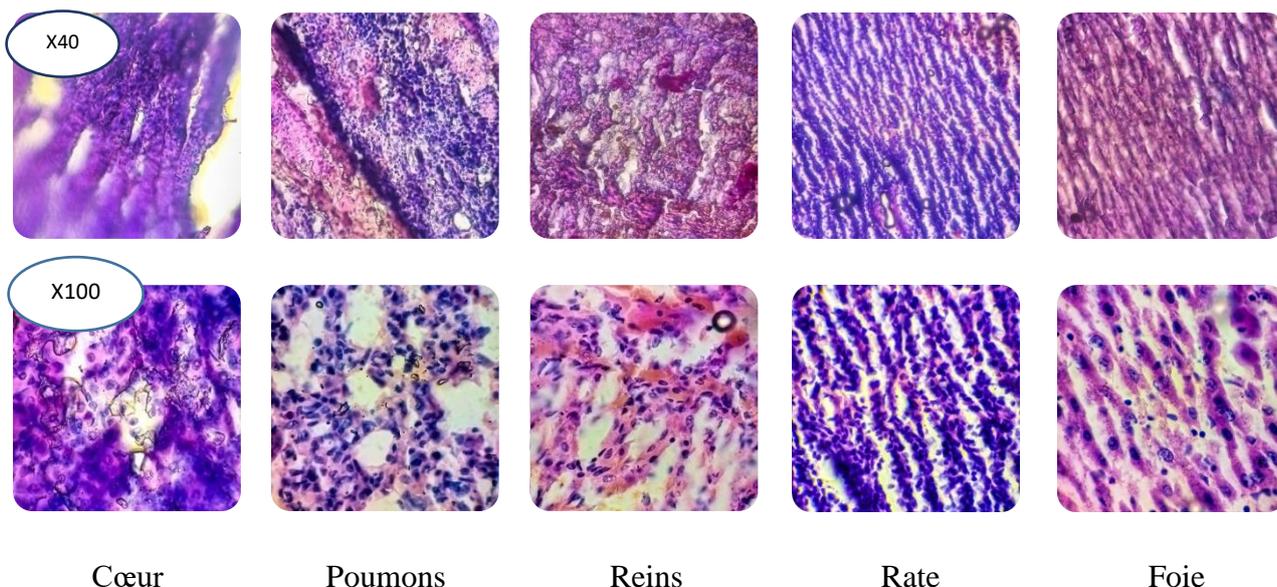


Figure 39 : Histologie des organes des rats traités par l'EMeOH de *Pistacia lentiscus* L. à la dose 500 mg/Kg (GX40 ; GX100).

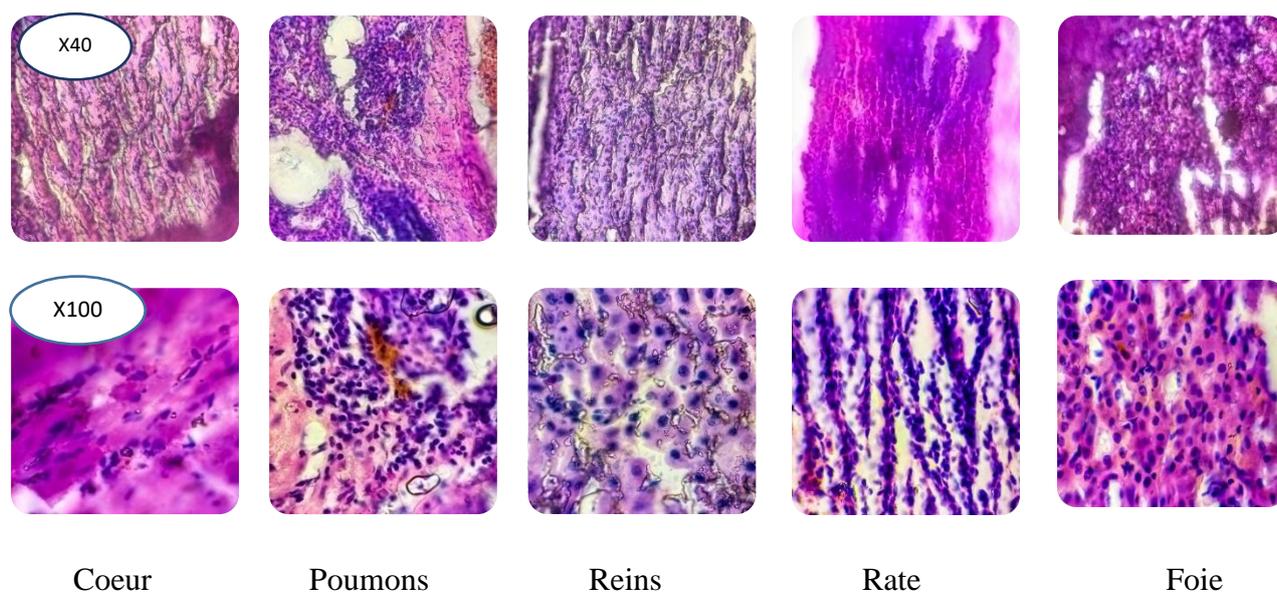


Figure 40 : Histologie des organes des rats traités par l'EMeOH *Pistacia lentiscus* L. à la dose 800 mg/Kg (GX40 ; GX100).

Les organes sur lesquels ont été réalisées les coupes histologiques sont les organes fonctionnels les plus en contact avec les molécules que l'intestin absorbe du milieu extérieur vers la circulation sanguine puis vers le reste des cellules de l'organisme. Aucun effet cytotoxique n'a été observé sur ces coupes, ce qui indique que les doses utilisées (200, 500 et 800mg/kg) n'ont pas atteint le seuil de toxicité de l'extrait méthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* L (fig 38, 39 et 40). Le rôle des cellules

hépatiques est de neutraliser les toxines, qu'elles viennent de l'organisme ou de l'extérieur (détoxification), tandis que le rôle des reins est de purifier le sang et d'éliminer les déchets (Ozer *et al.*, 2008).

II.3.4. Résultats de l'évaluation *in vivo*, de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de *P. lentiscus*

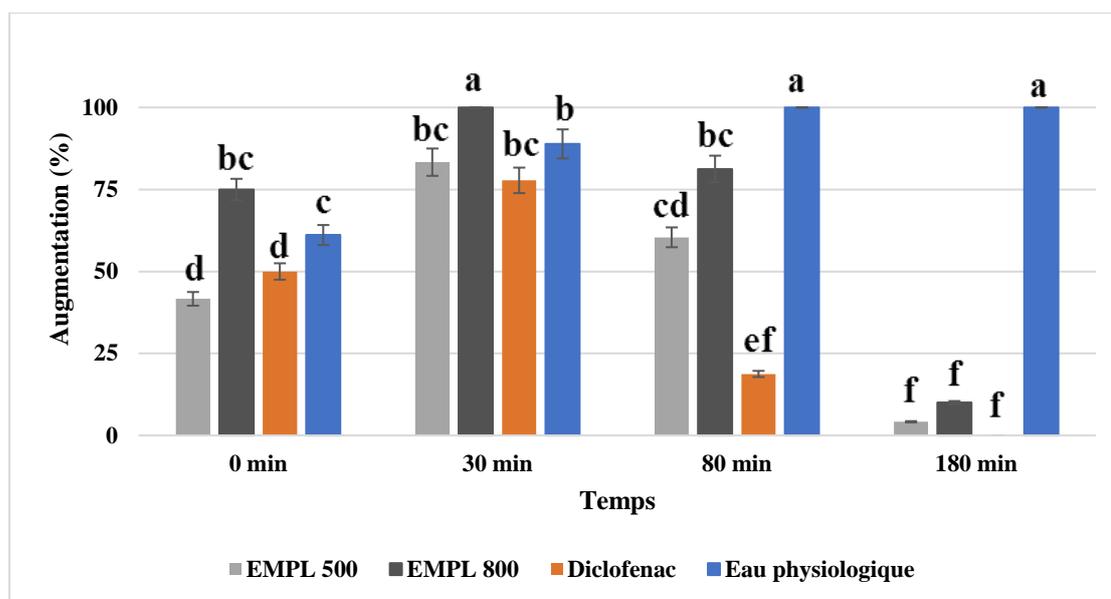
Résultats de l'effet anti-œdémateux de l'extrait méthanolique de *P. lentiscus*

L'étude de l'activité anti-inflammatoire des feuilles de la plante *Pistacia lentiscus* L. a été réalisée sur le modèle de l'œdème de la patte des rats induit par le formol à 1%. Les doses 500 mg/kg et 800 mg/kg ont été administrées par voie intra-péritonéale.

Les résultats obtenus ont été comparés à ceux d'un médicament le diclofénac qui est un anti-inflammatoires non stéroïdiens et à ceux du contrôle eau physiologique stérile. Après l'injection de l'eau physiologique stérile, le formol entraîne une augmentation du volume de la patte des rats de $0,36 \pm 0,07$ mm, $0,46 \pm 0,07$ mm, $0,5 \pm 0,07$ et de $0,56 \pm 0,06$ mm à 0 min, 30 min et 80 min et 180 min, respectivement. Ces valeurs correspondent à des pourcentages d'augmentation des œdèmes respectifs de 61.11%, 88.89%, 100% et 100%. On remarque que l'œdème maximal a été atteint à 80 min (**Fig. 41**).

Après l'injection de l'extrait méthanolique de *P. lentiscus* à une dose de 500 mg/kg, le formol entraîne une augmentation significative du volume de la patte des rats de $0,35 \pm 0,01$, de $0,45 \pm 0,01$, de $0,4 \pm 0,04$ et de $0,26 \pm 0,01$ à 0 min, 30 min, 80 min et 180 min, respectivement, correspondant à des pourcentages d'augmentation des œdèmes respectifs de $41,66 \pm 0,01\%$, et de $83,33 \pm 0,07\%$, et $60,42 \pm 0,03\%$ et de $4,17 \pm 0,04\%$ (**Fig. 41**).

De même pour 800 mg/kg de l'extrait de *P. lentiscus*, l'augmentation du volume de la patte des rats est significative : $0,33 \pm 0,07\%$, de $0,4 \pm 0,01\%$, de $0,36 \pm 0,07\%$ et de $0,22 \pm 0,01\%$ respectivement à 0 min, 30 min et 80 min et 180 min avec des pourcentages d'augmentation des œdèmes respectifs de $75 \pm 0,01\%$, et de $100 \pm 0,01\%$, et $81,25 \pm 0,03\%$ et de $10 \pm 0,04\%$ (**Fig. 41**).



(a, b, bc, c, cd, d, e et f : les classes de graduation significative de l'augmentation de volume de la patte) (P<0.05).

Figure 41 : Pourcentage d'augmentation (AUG%) du volume de la patte des rats.

L'injection du Diclofénac à une dose de 100 mg/kg, une augmentation significative du volume de la patte des rats de $0,3 \pm 0,01\%$, de $0,4 \pm 0,01\%$, de $0,26 \pm 0,07\%$, de $0,1 \pm 0,01\%$ respectivement à 0 min, 30 min et 80 min et 180min, donnant les pourcentages d'augmentation des œdèmes respectifs suivants de $30 \pm 0,01\%$, et de $77,78 \pm 0,07\%$, et $18,75 \pm 0,03\%$ et de 0% (**Fig. 41**).

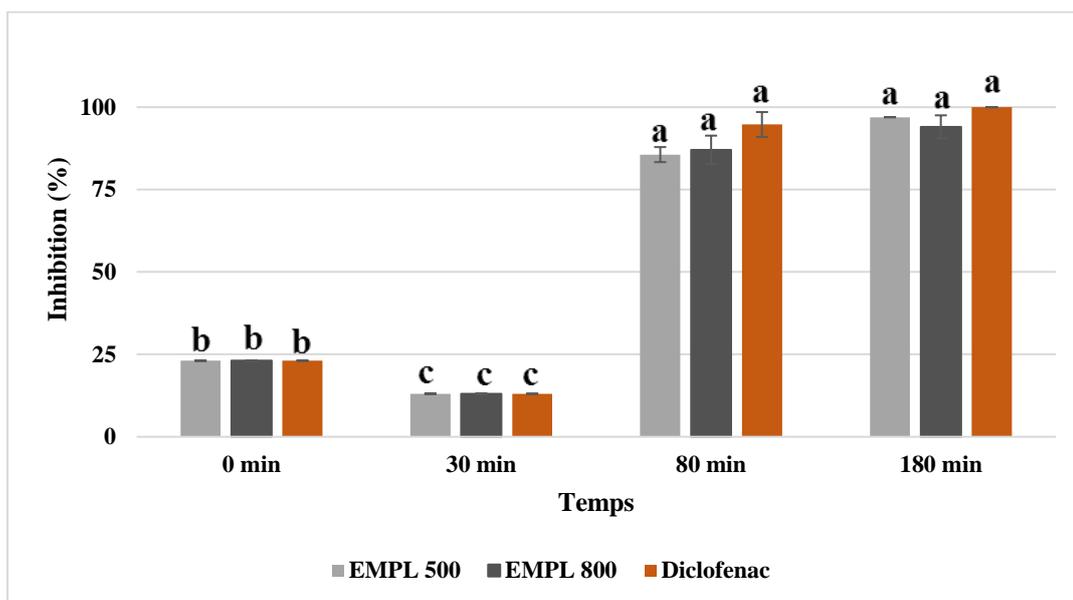
L'évaluation du pourcentage d'inhibition montre que l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* possède une activité anti-inflammatoire.

A 0 min jusqu'aux 180 min l'extrait méthanolique à la dose de 500 mg/kg montre respectivement un pourcentage d'inhibition de $23,07 \pm 0,01\%$, et de $13,05 \pm 0,07\%$, et $85,62 \pm 0,03\%$ et de $96,96 \pm 0,04\%$. À la dose de 800 mg/kg montre respectivement un pourcentage d'inhibition de $23,07 \pm 0,01\%$, et de $13,04 \pm 0,07\%$, et $87,02 \pm 0,03\%$ et de $94,03\%$ avec aucune différence significative (P<0.05). (**Fig. 42**).

Le diclofénac montre un pourcentage d'inhibition de $23,07 \pm 0,01\%$, et de $13,04 \pm 0,07\%$, et $94,75 \pm 0,03\%$ et de 100% respectivement avec aucune différence significative (P<0.05).

Cette inhibition de l'œdème a été moins efficace que ceux obtenus avec diclofénac au cours de la même période (**Fig. 42**). A cet égard, l'extrait méthanolique de feuilles de

Pistacia lentiscus, présente une activité antiinflammatoire.



(a, b, et c : les classes de graduation significative de l'inhibition d'augmentation de la patte) ($P < 0.05$). a vs c : une différence avec effet significatif de l'inhibition entre les deux temps (30 et 80 min). b vs c : une différence avec effet significatif de l'inhibition entre le temps initial (0 min) et 30 min. aucune différence significative entre les 3 variétés (l'extrait à 500 et 800 mg/kg et le diclofenac)

Figure 42 : Pourcentage d'inhibition (INH%) du volume de la patte des rats.

L'injection intrapéritonéale d'un extrait méthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* s'est révélée efficace dans la prévention de l'œdème inflammatoire induit par le formol de manière dose-dépendante (500 et 800 mg/kg).

Cependant, cet effet anti-inflammatoire était faible au stade initial de l'œdème, mais était significatif dans la période ultérieure (180 min). L'œdème de la patte induit par le formol chez le rat implique un certain nombre de médiateurs qui induisent des réponses inflammatoires en deux étapes distinctes (**Garcia et al., 2004**). La phase initiale survient après l'injection d'agents pro-inflammatoires et a été attribuée aux effets de médiateurs tels que l'histamine, la sérotonine et la bradykinine sur la perméabilité vasculaire (**Maity et al., 1998**). La phase de latence, qui résulte d'une production excessive de prostaglandines dans les tissus, est médiée par la cyclooxygénase (COX) (**Gilligan et al., 1994**) et peut persister plus de 5 heures après l'injection de formol (**Gurrero et al., 2001**).

Nos résultats selon la nature observée de l'œdème de la patte induit par le formol suggèrent que l'activité prononcée dans la suppression de la deuxième phase de

l'inflammation peut être due à des médiateurs impliqués dans les stades avancés de l'inflammation. Il se peut que l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* pourrait agir sur l'activité des voies de la cyclooxygénase et de la lipoxygénase (**Gilligan et al., 1994**).

Rappelle que les résultats du screening phytochimique de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* ont révélé la présence de composés poly-phénoliques, de flavonoïdes ainsi que des tanins, et des alcaloïdes ce qui corroborent avec plusieurs études (**Sasidharan et al., 2010**).

Les travaux réalisés avaient confirmé que l'acide gallique et ses dérivés sont responsables de l'inhibition de la fixation du NF- κ B, essentiels pour l'expression des cytokines pro-inflammatoires. Les tanins ont la capacité à inhiber la phospholipase A2, et participent ainsi à l'inhibition des prostaglandines et des leucotriènes, au cours de l'inflammation (**Adla et al., 2022**).

Ces principes actifs notamment les flavonoïdes, exercent un effet inhibiteur sur l'inflammation (**Olaleye et al., 2004 ; Sani et al., 2014 ; Banerjee et al., 2014**) en inhibant la formation des principaux médiateurs pro-inflammatoires via l'inhibition de la cyclooxygénase et la lipoxygénase et à réguler le métabolisme de l'acide arachidonique (**Kim et al., 2004 ; Yoon et Baek, 2005**).

II.4. Résultats de la variation de microbiote intestinal suite au diabète de type 2

L'évaluation microbiologique quantitative et qualitative du microbiote fécal a été réalisée sur deux groupes des volontaires, les diabétiques de type 2 (DT2) par rapport aux sujets sains (ST).

II.4.1. Etude microbiologique qualitative et quantitative

L'étude de la flore fécale a identifié six groupes microbiens, et des différences qualitatives et quantitatives ont été observées entre les deux groupes de personnes choisis, un groupe de sujets diabétiques (DT2) et un second groupe de sujets sains (ST).

II.4.1.1. Résultats de l'évaluation microbienne qualitative des groupes microbiens isolés

Le nombre total de souches isolées a montré une diversité très similaire entre DT2 et HS, en fonction des groupes microbiens isolés. Le nombre moyen de germes isolés était de $15,7 \pm 3,2$ chez les patients DT2, légèrement inférieure à ST ($16,2 \pm 1,14$) (Fig. 43). La variation qualitative de la flore intestinale est influencée par divers facteurs, notamment naturels, environnementaux, nutritionnels (Wu H. et al., 2020 ; Duru M., 2022) et génétiques (Qin J. et al., 2011 ; Al -Muhanna, F.A et al., 2021), qui entraînent des modifications du microbiote intestinal. Des études antérieures ont rapporté des résultats similaires, indiquant que l'abondance et la diversité du microbiote intestinal sont altérées chez les personnes atteintes de diabète de type 2 (Qin J. et al., 2012 ; Larsen N. et al., 2010). Les variations de la flore intestinale pourraient entraîner des troubles métaboliques et une inflammation, fréquents chez les patients diabétiques (Wu H. et al., 2020).

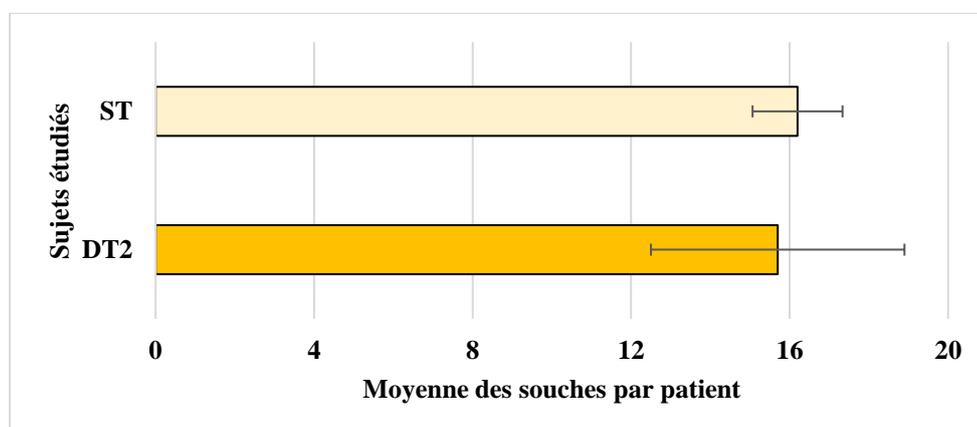
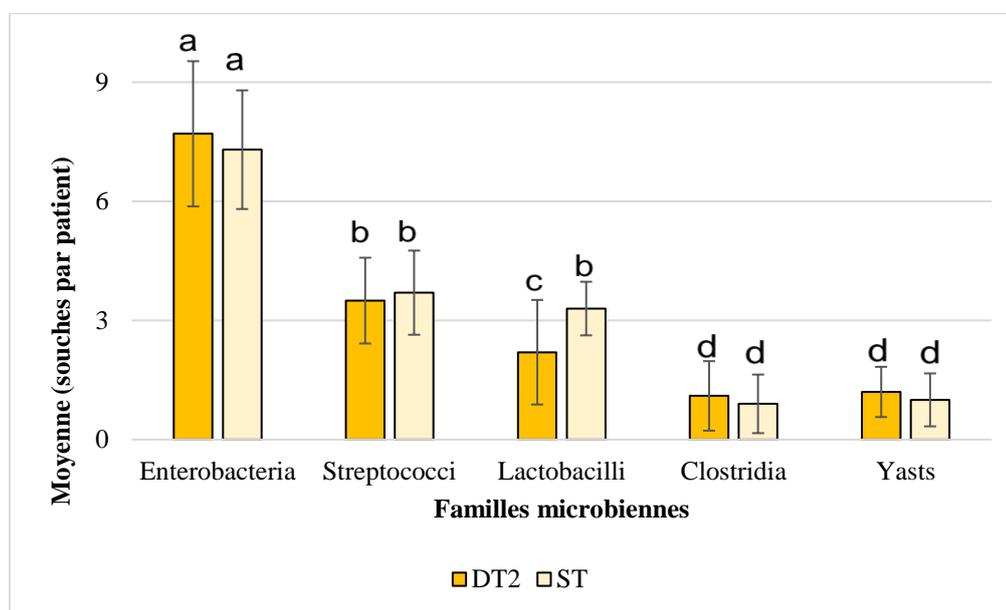


Figure 43 : Nombre moyen des souches pour chaque flore fécale.

Les résultats de l'identification morphologique révèlent (49,45 % et 43,31 %) des bactéries Gram-positives et Gram-négatives chez les patients diabétiques 2, comparativement aux sujets sains avec (45,06 % Gram+ contre 48,76 % Gram-).

Après identification morphologique et enzymatique, cinq familles microbiennes (**Fig 44**) ont été identifiées : des entérobactéries, des streptocoques, des lactobacilles, des clostridiales. Aussi, des levures ont été identifiées chez les microbiotes fécaux des deux groupes étudiés (DT2 et ST). Les patients DT2 portent une diversité en Gram+ par rapport aux patients sains qui possèdent une plus grande diversité de micro-organismes bénéfiques (**Fig 44**), confirmé par des études antérieures (**Aljahdali N. 2022**).



(a, b, c et d : les classes de la différence avec un effet significatif de nombre des isolats en fonctions des groupes microbiens testés) ($P < 0.05$). a vs b vs d : une différence avec effet sinificatif entre les 3 groupe bactériens, entérobactéries ; Streptocoques ; et clostridies. b vs c : un effe significatif entre la moyenne des souches lactobacilles isolées chez les deux groupes des patients (DT2 vs ST). Aucune différence à effet significatif entre la moyenne des souches clostridies et levires isolées chez les deux groupes des patients (DT2 vs ST)

Figure 44 : Diversité qualitative moyenne des familles microbiennes isolées du microbiote fécal chez les deux groupes étudiés (DT2 et ST).

Statistiquement, aucun effet significatif n'a été observé en utilisant la variation qualitative des familles isolées de la flore fécale des deux groupes comme facteurs de comparaison, sauf pour les lactobacilles ; une différence significative a été identifiée

pour les lactobacilles entre les deux types des patients, la diversité dans DT2 diminuant aux deux tiers ($3,3 \pm 1,3$), contrairement à ST ($2,2 \pm 0,7$). Une augmentation au niveau des Entérobactéries ($7,7 \pm 1,9$ et $7,3 \pm 1,4$ pour les DT2 et ST, respectivement) et une réduction des Clostridies ($1,1 \pm$ et $0,9 \pm$ pour les DT2 et ST, respectivement) et des Levures ($1,2 \pm 0,6$ et $1 \pm 0,6$ pour les DT2 et ST, respectivement) ($p < 0,05$) (**Fig 44**).

II.4.1.2. Évaluation quantitative

Les résultats de l'analyse quantitative microbienne chez les deux catégories des volontaires choisis ont été représentés dans la **figure 45** en dessous.

Les groupes microbiens du microbiote fécal étudié ont montré une nette prédominance des Entérobactéries et des Streptocoques avec $\log (8,24 \pm 0,01)$ UFC/g et $\log (7,87 \pm 0,01)$ UFC/g respectivement chez les sujets diabétiques. Alors que chez les sujets sains, les Streptocoques $\log (8,01 \pm 0,01)$ UFC/g étaient plus importants que les Entérobactéries $\log (7,94 \pm 0,01)$ UFC/g.

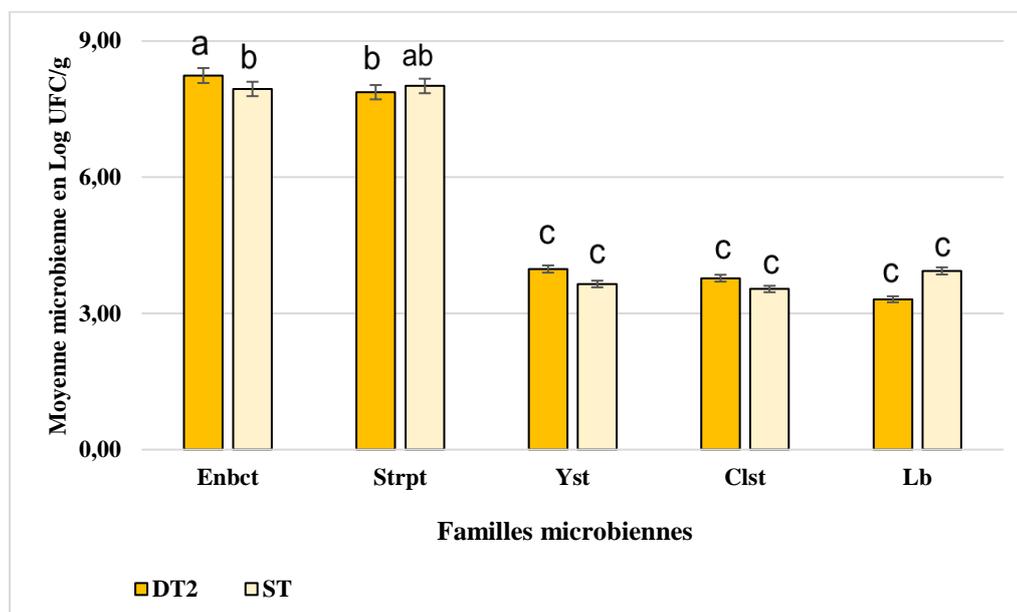
Ces résultats font suite à des études antérieures qui différencient les deux types de microbiote intestinal (**Khan M.T. et al., 2014**). De nombreuses études ont montré que les patients diabétiques présentent des modifications de leur microbiote intestinal, avec une diminution de la proportion de bactéries fonctionnelles et une augmentation de divers pathogènes opportunistes et de certaines bactéries productrices d'endotoxines à Gram négatif (**Larsen N. et al., 2010 ; Zhang Y. et Zhang H., 2013**). Ces changements peuvent affecter la perméabilité intestinale (**Devaraj S. et al., 2013**) et peuvent contribuer à la résistance à l'insuline (**Everard A. et Patrice D., 2013**).

Concernant la flore bénéfique (les lactobacilles), une faible proportion a été enregistrée $\log (3,31 \pm 0,03)$ UFC/g dans le microbiote fécal des sujets DT2 par rapport au groupe contrôle (ST) avec $\log (3,94 \pm 0,02)$ UFC/g ($p < 0,05$). *Lactobacillus* est une bactérie bénéfique qui réside dans le tube digestif en petites quantités et varie selon les espèces (**Delroisse J.M et al., 2008**). Par ailleurs, plusieurs études ont confirmé que certaines souches probiotiques pouvaient moduler l'homéostasie glycémique (**Panwar H. et al., 2012**).

Les niveaux de *Clostridium* et de levures [$\log (3,78 \pm 0,01)$ UFC/g et $\log (3,98 \pm 0,02)$ UFC/g], respectivement, ce sont avérés plus élevés chez le microbiote fécal des

diabétiques de type 2 (DT2) que chez les sujets sains (ST) [$\log (3.54 \pm 0.04)$ UFC/g et $\log (3.65 \pm 0.03)$ UFC/g], respectivement.

Ces résultats sont cohérents avec les recherches précédentes, car de nombreuses espèces de ces micro-organismes ont le potentiel d'affecter négativement les voies métaboliques en produisant des métabolites biologiquement actifs, ce qui peut entraîner diverses infections intestinales. De plus, ces micro-organismes coexistent souvent avec des individus souffrant de troubles métaboliques tels que le diabète de type 2 (Du L., 2022).



(a, ab, b et c : les différentes classes avec un effet significatif de la quantité des isolats) ($P < 0.05$). a vs b : une différence à un effet significatif entre les deux groupes des patients (DT2 vs ST) au niveau de moyenne quantitative des entérobactéries isolées, avec supériorité chez les DT2. ab vs b : une différence à un effet significatif entre les deux groupes des patients (DT2 vs ST) au niveau de moyenne quantitative des streptocoques isolées, avec supériorité chez les ST. aucune effet significatif ni entre les deux groupes (DT2 et ST), ni entre des 3 groupes microbiens (levures, clostridies et lactobacilles) au niveau de la moyenne quantitative de ces groupes.

Figure 45 : Évaluation quantitative microbienne des familles microbiennes (exprimé en Log UFC/g) chez les groupes étudiés (DT2 vs TS).

En revanche, les niveaux de *Salmonella* et de *Shigella* se sont avérés plus élevés chez les diabétiques de type 2 (DT2) $\log (3.90 \pm 0.02)$ UFC/g que chez les témoins sains $\log (3.84 \pm 0,00)$ UFC/g. Cela peut être attribué à des souches opportunistes et nocives

dans le microbiote intestinal des personnes atteintes de troubles métaboliques. (Khan M.T. et al., 2014).

Nous notons statiquement une différence significative entre les entérobactéries, les streptocoques et les groupes microbiens restants, alors qu'aucune différence significative n'a été trouvée entre les lactobacilles, les *Clostridium* et les levures dans la flore fécale des deux groupes de sujets choisis ($p < 0,05$) (Fig 45).

Une liste des souches isolées et identifiées ont été résumées dans le **tableau 12** en dessous, la répétition est le nombre de patients pour chaque groupe (diabétique de type 2 et témoins sains) chez lesquels une souche microbienne particulière est apparue.

Tableau 12 : Nombre de répétition de chaque espèce en fonction de nombre total des patients ($n = 10$).

Personnes Microorganismes	Répétition en		
		Diabétiques de type 2	Sujets sains
Groupe bactérien à Gram -	150	77	73
Entérobactéries	150	77	73
<i>Escherichia coli</i>		10	10
<i>Klebsiella aerogenes</i>		7	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		9	7
<i>Salmonella sp</i>		9	8
<i>Shigella sp</i>		9	6
<i>Klebsiella oxytoca</i>		3	5
Autre Entérobactéries		30	29
Groupe bactérien à Gram +	149	70	79
Streptocoques	72	35	37
<i>Streptococcus bovis</i>		7	8
<i>Streptococcus salivarius</i>		9	7

<i>Streptococcus alactolyticus</i>		6	5
<i>Streptococcus sanguis</i>		2	2
<i>Lactococcus lactis</i>		2	4
Autres Strepto-		9	11
Lactobacilles	55	22	33
<i>Lactobacillus brevis</i>		6	5
<i>Lactobacillus salivarius</i>		5	6
<i>Lactobacillus plantarum</i>		5	6
<i>Lactobacillus acidophilus</i>		2	5
<i>Lactobacillus gasseri</i>		3	6
Autres lactobacillus		1	5
Clostridies	20	11	9
<i>Clostridium sp</i>		11	9
Levures	22	12	10
<i>Candida albicans</i>		7	5
Autres levures		5	5
Total	321	159 isolats	162 isolats

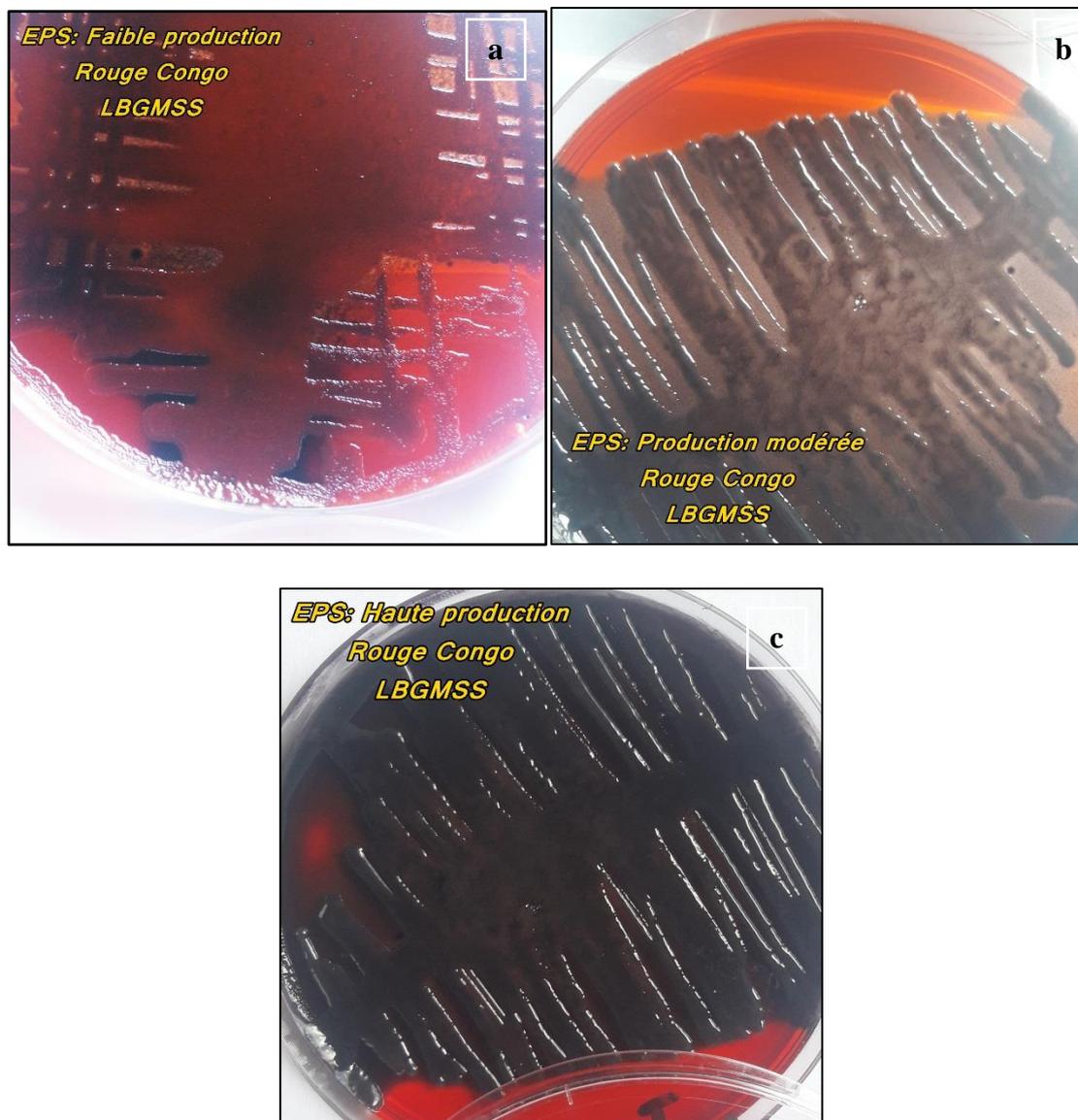
L'aspect macroscopique des espèces identifiées a été représenté dans l'**annexe**.

II.4.2. Production de biofilm par les espèces identifiées et sélectionnées

II.4.2.1. Méthode qualitative

Les aspects microbiologiques selon les colonies et les graduations de la couleur de gélose rouge Congo ont été classées en trois catégories. Les souches avec production faible des EPS ont été observées comme des colonies claires dans une couleur peu transférée du milieu de culture (**Fig. 46.a**). Le deuxième aspect d'observation a pris des colonies grasses sur un milieu plus transféré vers le noir (**Fig. 46.b**) pour représenter les souches avec production modérée des EPS et de biofilm. La troisième catégorie a été

enregistrée sur les isolats avec haute production des EPS, où la couleur des colonies et de gélose rouge Congo a été transférée complètement en noire foncée (Fig. 46.c).



La production des EPS est : (a) = faible, (b) = modérée, (c) = forte.

Figure 46 : Différentes graduations de production des EPS et de biofilm chez les isolats.

Pour déterminer les micro-organismes susceptibles de produire un biofilm, toutes les souches isolées sur gélose au rouge Congo ont été cultivées, on a identifié celles produisant des colonies complètement noires ont été identifiées. Ces résultats sont résumés dans le **tableau 13**.

Tableau 13 : Comparaison des isolats producteurs de biofilm parmi le microbiote fécal de sujets diabétiques et sains.

Groupes microbiens	Souches communes entre DT2 et ST
Les enterobacteries	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella sp</i> , <i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>
Les streptocoques	<i>Streptococcus bovis</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Streptococcus alactolyticus</i>
Les lactobacilles	<i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>
Les clostridies	<i>Clostridium sp</i>
Les levures	<i>Candida albicans</i>

Plusieurs études confirment que diverses espèces microbiennes du microbiote intestinal ont la capacité de produire des biofilms, bien que dans des proportions différentes. La capacité d'attachement de chaque bactérie entre elles et à la surface est déterminée par la nature de la glycoprotéine produite. Par conséquent, la cartographie biogéographique des éléments structurels du microbiote est essentielle pour comprendre de manière exhaustive la dynamique fonctionnelle de cette communauté complexe (Hanne L.P. et al., 2019 ; Hussain A. et al., 2020 ; Sandra L. et al., 2021).

II.4.2.2. Méthode Quantitative

Les résultats présentés dans les **Figure 47.a** et **47.b** ont montré que la plupart des espèces isolées avaient une production moyenne en biofilm. Les *Streptococcus sp* présentaient un potentiel plus élevé de production de biofilm chez les sujets normaux (ST) par rapport aux sujets diabétiques (DT2), tandis que toutes les *Klebsiella sp* isolées de la flore fécale des deux groupes n'ont pas présenté une capacité de production de biofilm élevée (productivité moindre observée dans ST). Toutes les *Salmonella sp* ont produit des biofilms modérés à forts.

Parmi les *Lactobacillus* sp isolées chez les personnes normales ST et les personnes diabétiques DT2, sont considérés comme souches productrices de biofilm à haut rendement, tandis que le taux était plus faible chez les DT2. Les *Candida albicans* s'avère par contre hautement productrices de biofilm chez les deux groupes, la proportion la plus élevée étant observée chez les volontaires sains.

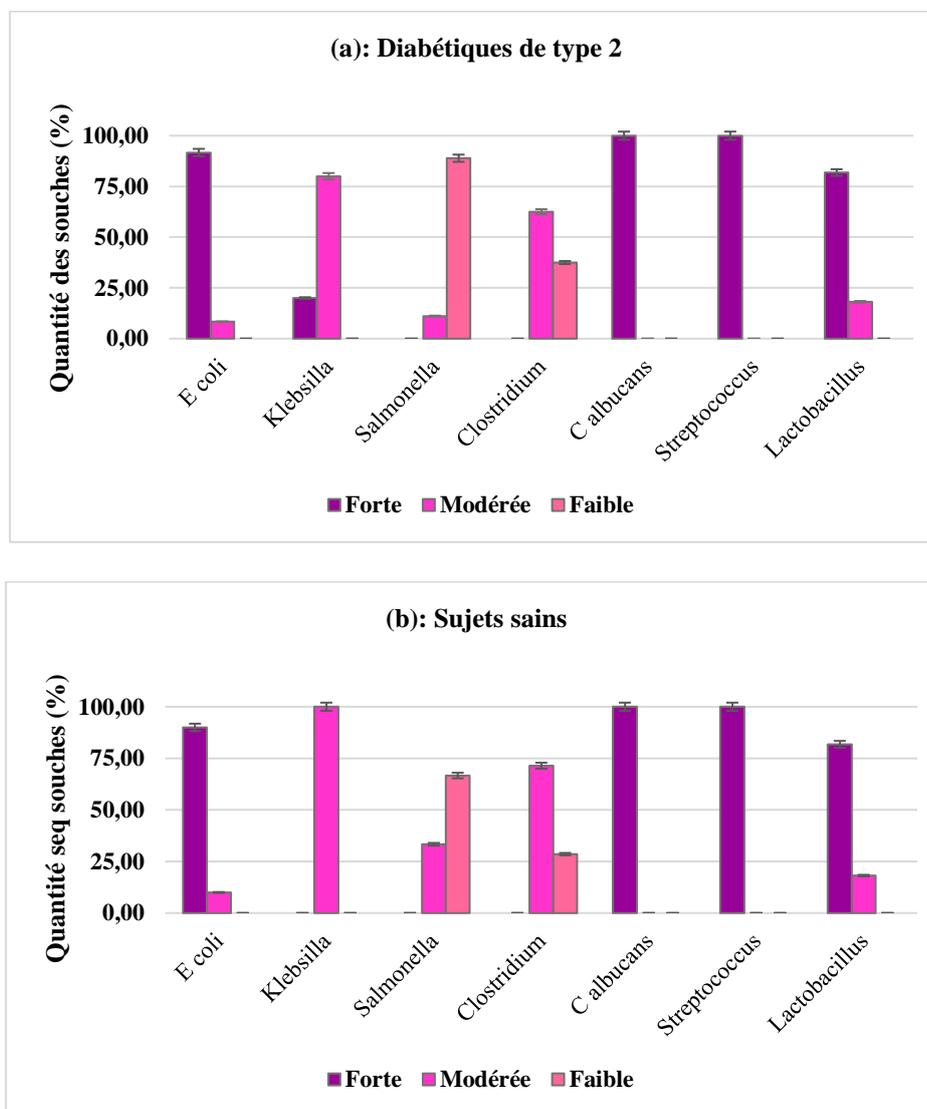


Figure 47 : Capacités de production de biofilm chez les espèces microbiennes isolées et identifiées du microbiote fécal d'individus diabétiques et sains (par la méthode de Stepanovic).

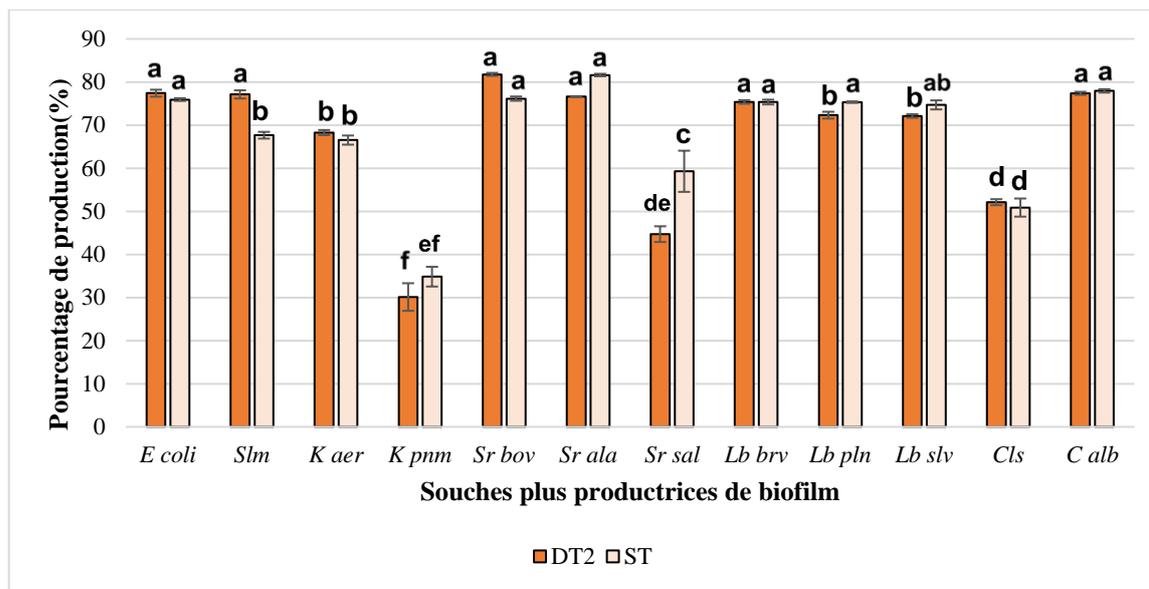
Les interactions entre les micro-organismes et les métabolites secondaires ont été identifiées comme un facteur contribuant aux capacités variables de production de biofilm de différentes souches microbiennes et du microbiote intestinal (Hanne L.P. et al., 2019). Ces métabolites peuvent agir comme inhibiteurs ou stimuli de croissance pour

différentes espèces, affectant ainsi la production de biofilm. De plus, les facteurs génétiques des micro-organismes peuvent varier entre les souches de la même espèce, entraînant des différences dans leurs capacités de production de biofilm (**Pratt L.A. et Kolter P., 1999 ; McCarty S. et al., 2014**). De plus, la nature des nutriments biotiques et abiotiques peut également avoir un impact sur la production de biofilm. Ces nutriments peuvent contenir des éléments moléculaires toxiques ou inhiber la croissance microbienne et la catalyse dans certaines conditions (**Mah T.F.C., O'Toole G.A., 2001 ; Satpathy S. et al., 2016**).

II.4.2.3. Sélection de Souches hyperproductrices de biofilm

L'étude visait à étudier la capacité de production de biofilm de toutes les souches isolées à partir de matières fécales de patients diabétiques de type 2 (DT2) et de sujets sains (ST). La souche la plus productrice de biofilm pour chaque isolat microbien commun dans les matières fécales des deux groupes a été sélectionnée (**Fig.48**).

Les souches de *Streptococcus bovis* avaient la production de biofilm la plus élevée, avec 82,22 % chez ST contre 81,77 % chez DT2, suivi par *Streptococcus alactolyticus* et *Streptococcus salivarius* (76,61 % vs 44,75 % respectivement) chez les patients DT2 par rapport aux patients ST (59,69 % vs 81,61 %, respectivement). *Escherichia coli*, *Salmonella* et *Klebsiella aerogenes* avaient la production de biofilm la plus élevée parmi les entérobactéries facultatives aéro-anaéro chez les patients DT2 (77,43 % vs 15,77 % et 68,27 %, respectivement), comparativement aux sains ST avec (75,93 %, 67,67 % et 66,56 %, respectivement). Une production élevée en biofilm a été enregistrée pour *Lactobacillus brevis* et *Candida albicans*, sans effet significative entre les deux types de microbiote fécal. *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus salivarius* ont révélé une faible production de biofilm (72,33 % vs 72,12 % respectivement) chez les patients DT2 par rapport à ST (74,72 % vs 75,33 %, respectivement). La capacité de production de biofilm chez *Clostridium* et *Klebsiella pneumoniae* a été déterminée à des taux beaucoup plus faibles chez tous les patients sains.



E coli : *Escherichia coli*, *Slm* : *Salmonella*, *K aero* : *Klebsiella aerogenes*, *K pnm* : *Klebsiella pneumoniae*, *Sr bov* : *Streptococcus bovis*, *Sr ala* : *Streptococcus alactolyticus*, *Sr sal* : *Streptococcus salivarius*, *Lb brv* : *Lactobacillus brevis*, *Lb pln* : *Lactobacillus plantarum*, *Lb slv* : *Lactobacillus salivarius*, *Cls* : *Clostridium*, *C alb* : *Candida albicans*.

(a, ab, b, c, d, de, ef et f : différentes classes avec un effet significatif de la production de biofilm en utilisant deux facteurs avec 3 répétitions (souches plus productrices de biofilm pour chaque espèce commune entre les DT2 et les ST)) ($P < 0.05$). a vs b : une différence avec effet significatif entre les DT2 et le ST (une supériorité de production de biofilm à *Salmonella* chez les DT2 contre celle de *Lactobacillus plantarum* chez les ST). ab vs b : un effet significatif major pour *Lactobacillus salivarius* chez les ST. c vs de : une diminution significative à *Streptococcus salivarius* chez les DT2. ef vs f : une diminution significative à *Streptococcus salivarius* chez les DT2. Aucune différence significative entre les souches (*Escherichia coli*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus alactolyticus*, *Lactobacillus brevis* et *Candida albicans* ; et *Klebsiella aerogenes* ; ainsi que *Clostridium sp*), quel ce soit le groupe des patients (DT2 ou ST).

Figure 48 : Sélection des souches hyperproductrices de biofilm pour chaque espèce isolée chez les diabétiques (DT2) et les sains (ST).

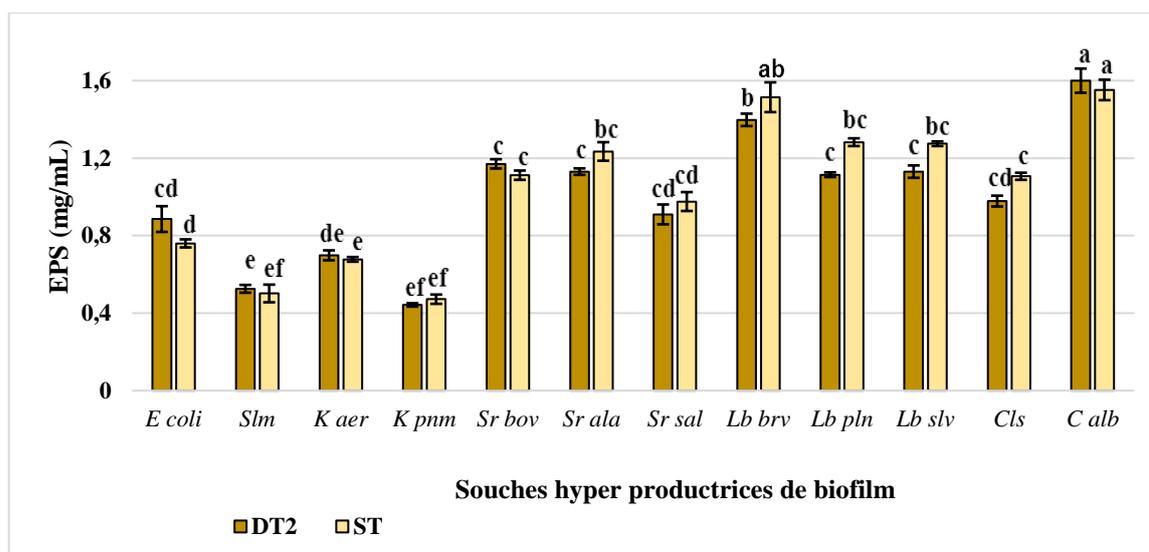
Sur la base de recherches et d'études antérieures, plusieurs facteurs jouent un rôle dans la capacité du micro-organisme à produire un biofilm. Ces facteurs comprennent la composition de la couche externe et sa cohésion avec les autres membres de la même espèce et l'hôte, que diverses molécules et le niveau d'hydrophobicité peuvent influencer. De plus, des facteurs environnementaux externes peuvent avoir un impact positif ou négatif sur cette productivité (Satpathy et al., 2016).

Une différence significative du potentiel de production de biofilm a été observée chez cinq souches (*Salmonella*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus salivarius*) entre les deux microbiotes étudiés. Seule *Salmonella* présentait un potentiel de production de biofilm plus élevé que quatre souches isolées chez des individus diabétiques de type 2. *Streptococcus alactolyticus*, *Lactobacillus brevis* et *Candida albicans* ont été identifiés comme les souches les plus productrices de biofilm, sans être significative dans leur potentiel de production de biofilm observé entre eux.

II.4.3. Quantification des exopolysaccharides (EPS) chez les souches sélectionnées

Les quantités d'exopolysaccharides produites par les souches étudiées sont représentées sur la **Figure 49**. Nos résultats montrent que tous les microorganismes produisent ces molécules mais avec des différences significatives. *Candida albicans* et les bactéries à Gram-positives (*Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Clostridium*) étaient plus productives que les bactéries à Gram-négatives (*Escherichia coli*, *Klebsiella* et *Salmonella*). De plus, la flore dominante du microbiote intestinal de DT2 s'est avérée produire des EPS à des niveaux réduits dans certaines souches à Gram positives (*Lactobacillus salivarius*, *Streptococcus alactolyticus* et *Clostridium*), mais à des niveaux élevés dans certaines souches à Gram négatives (*Escherichia coli*, *Klebsiella aerogenes* et *Salmonella*), par rapport à leurs homologues chez les ST.

Des recherches antérieures ont démontré la présence de polysaccharides et d'autres polymères dans la couche externe des micro-organismes. La densité de ces substances peut différer en fonction de divers facteurs, notamment l'hôte, l'épaisseur de la couche externe, la présence ou l'absence de capsule, l'activité enzymatique et la production de métabolites secondaires.



E coli : *Escherichia coli*, *Slm* : *Salmonella*, *K aero* : *Klebsiella aerogenes*, *K pnm* : *Klebsiella pneumoniae*, *Sr bov* : *Streptococcus bovis*, *Sr ala* : *Streptococcus alactolyticus*, *Sr sal* : *Streptococcus salivarius*, *Lb brv* : *Lactobacillus brevis*, *Lb pln* : *Lactobacillus plantarum*, *Lb slv* : *Lactobacillus salivarius*, *Cls* : *Clostridium*, *C alb* : *Candida albicans*.

(a, ab, b, bc, c, cd, d, de, e et ef : différentes classes avec un effet significatif de la production des EPS en utilisant deux facteurs avec 3 répétitions (souches plus productrices de biofilm pour chaque espèce commune entre les DT2 et les ST)) ($P < 0.05$). ab vs b : diminution significative à *Lactobacillus brevis* chez les DT2. bc vs c : diminution significative à *Streptococcus alactolyticus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius* chez les DT2. c vs cd : diminution significative à *Clostridium* sp chez les DT2. Augmentation significative de production des EPS chez les souches à Gram négative chez les DT2. Aucune différence significative entre les 2 groupes des patients (DT2 ou ST) pour les souches (*Candida albicans* ; *Streptococcus bovis* ; et *Streptococcus salivarius* ; ainsi que *Klebsiella aerogenes*).

Figure 49 : Quantification des exopolysaccharides (mg/mL) chez les souches hyperproductrices de biofilm (DT2 vs ST).

Ces résultats sont cohérents avec les études menées par **François Paul (1986)**, **Read et al. (1987)** et **Jutta Cerning (1990)**. Il convient de noter que la concentration et la composition des EPS microbiens peuvent changer de manière significative dans des conditions de stress, les travaux rapportés par **Konnova et al. (2001)**. Le type de micro-organisme et la composition du milieu de culture peuvent avoir un impact direct sur la production d'EPS, comme cela a été décrit par **Osman et al. (2012)**. **Zisu et Shah (2003)** ont découvert qu'une souche de *Streptococcus* produisait jusqu'à 406 mg/L d'EPS dans un milieu à base de MRS. En revanche, **Vijayendra et al. (2008)** ont observé que la fermentation d'une souche non filante de *Leuconostoc sp* dans un bouillon MRS modifié pendant 72 heures à 22 °C a entraîné la production de 13,8 g/L d'EPS. La quantité d'EPS

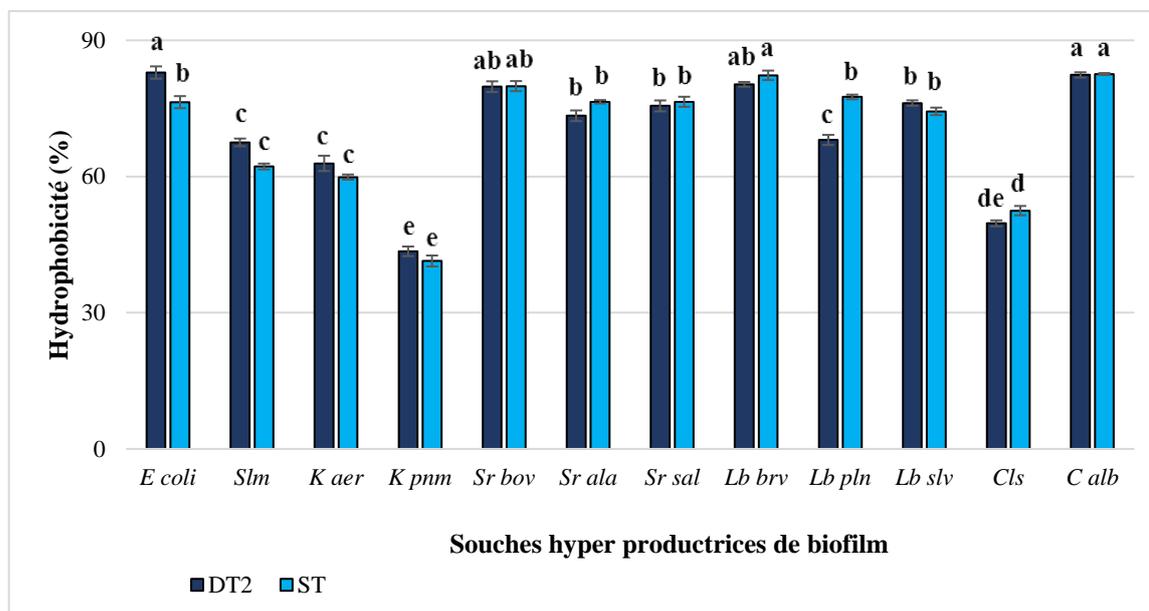
produite par *Lactobacillus sp* peut varier considérablement, allant de 80 mg/L (Khalil et al., 2018) à 1700 mg/L (Van Der Meulen et al., 2007). De nombreuses études antérieures sur les levures ont montré qu'elles contiennent une couche importante de sucres qui les aident à s'adapter rapidement aux environnements extérieurs, notamment pour le processus de reproduction par bourgeonnement. La production d'exopolysaccharides est associée au métabolisme secondaire de la levure, et leur structure ainsi que leurs propriétés physico-chimiques qui dépendent de nombreux facteurs. La composition du milieu de culture, en particulier la source de carbone et d'azote, ainsi que les conditions de culture, le degré d'oxygénation et la température, ont le plus grand impact sur la quantité et les caractéristiques des polymères produits pendant la fermentation. La plupart des souches étudiées jusqu'à présent produisaient de l'EPS dans des milieux contenant des sources de carbone telles que des pentoses, des hexoses, des disaccharides et du triose (Grigorova et al., 1999 ; Cho et al., 2001 ; Poli et al., 2010).

Dans ce travail, l'analyse statistique a révélé une différence significative entre les deux types de microbiote intestinal (DT2 et ST) dans la production d'EPS. Elle était plus faible chez les patients DT2, en particulier les bactéries à Gram-positives prédominantes. *Candida albicans* a été identifié comme la souche la plus productive, tandis que les bactéries à Gram-négatives se sont révélées les moins productives. En comparant les deux groupes de personnes, une différence significative de production d'EPS a été observée pour toutes les souches de *Lactobacillus*, *Streptococcus alactolyticus* et *Clostridium*, avec une productivité plus élevée chez les ST. Cependant, pour *Escherichia coli*, *Klebsiella aerogenes* et *Salmonella*, la productivité était plus élevée chez les patients DT2.

II.4.4. Hydrophobicité membranaire

Une différence a été trouvée dans l'hydrophobicité de la surface microbienne entre les deux microbiotes fécaux des deux groupes étudiés. Les bactéries à Gram-négatives et *Lactobacillus salivarius* isolées chez les patients atteints de diabète de type 2 (DT2) présentaient des niveaux d'hydrophobicité plus élevés que ceux des bactéries de sujets sains (ST). À l'inverse, toutes les souches à Gram positives du microbiote fécal des sujets ST ont montré une augmentation relative de l'hydrophobicité comparativement aux

diabétiques DT2, à l'exception de *Lactobacillus salivarius*. Notamment, *Candida albicans* présentait des niveaux d'hydrophobicité très élevés, dépassant 82 % (Fig 50).



E coli : *Escherichia coli*, *Slm* : *Salmonella*, *K aero* : *Klebsiella aerogenes*, *K pnm* : *Klebsiella pneumoniae*, *Sr bov* : *Streptococcus bovis*, *Sr ala* : *Streptococcus alactolyticus*, *Sr sal* : *Streptococcus salivarius*, *Lb brv* : *Lactobacillus brevis*, *Lb pln* : *Lactobacillus plantarum*, *Lb slv* : *Lactobacillus salivarius*, *Cls* : *Clostridium*, *C alb* : *Candida albicans*.

(a, ab, b, c, d, de, et e : différentes classes avec un effet significatif de l'hydrophobicité membranaire en utilisant deux facteurs avec 3 répétitions (souches plus productrices de biofilm pour chaque espèce commune entre les DT2 et les ST)) (P<0.05). a vs ab : diminution significative à *Lactobacillus brevis* chez les DT2. a vs b : augmentation significative à *Lactobacillus brevis* chez les DT2. b vs c : diminution significative à *Lactobacillus plantarum* chez les DT2. d vs de : diminution significative à *Clostridium sp* chez les DT2. Aucune différence significative entre les 2 groupes des patients (DT2 ou ST) pour les souches (*Candida albicans* ; *Streptococcus bovis* ; *Streptococcus alactolyticus*, *Streptococcus salivarius* et *Lactobacillus salivarius* ; *Salmonella sp* et *Klebsiella aerogenes* ; ainsi que *Klebsiella pneumoniae*).

Figure 50 : Hydrophobicité membranaire des souches hyper productrices de biofilm (DT2 vs ST).

L'hydrophobie cellulaire peut être mesurée par l'angle de contact avec l'eau, comme ça était démontré dans des études antérieures (Mozes N., Rouxhet P.G., 1987). Il a été démontré que l'hydrophobicité joue un rôle essentiel dans la formation de biofilms (Wijesundara N.M., 2022), car la surface microbienne contient de grosses molécules telles que des exopolysaccharides, des glycoprotéines et des protéines qui sont

difficiles à hydrater efficacement en milieu aqueux (Gonzalez E.A. et al., 1988, Kiely L.J., Olson NF, 2000, Vadillo-Rodríguez V., 2005).

Statistiquement, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus* et *Streptococcus* ont une très haute hydrophobicité membranaire.

II.5. Résultats de l'activité antimicrobienne et antibiofilm de *Pistacia lentiscus* L. sur des bactéries sélectionnées

Après une étude comparative des souches les plus productrices de biofilm chez les patients ST et DT2, deux principaux facteurs moléculaires, le premier est la production d'EPS, et le second c'est l'hydrophobicité ont été retenus pour la sélection des souches intéressantes (Fig.51). L'activité antimicrobienne, antibiofilm de l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* ont été étudiées sur certaines souches de la flore dominante du microbiote intestinal des deux groupes (tableau 14).

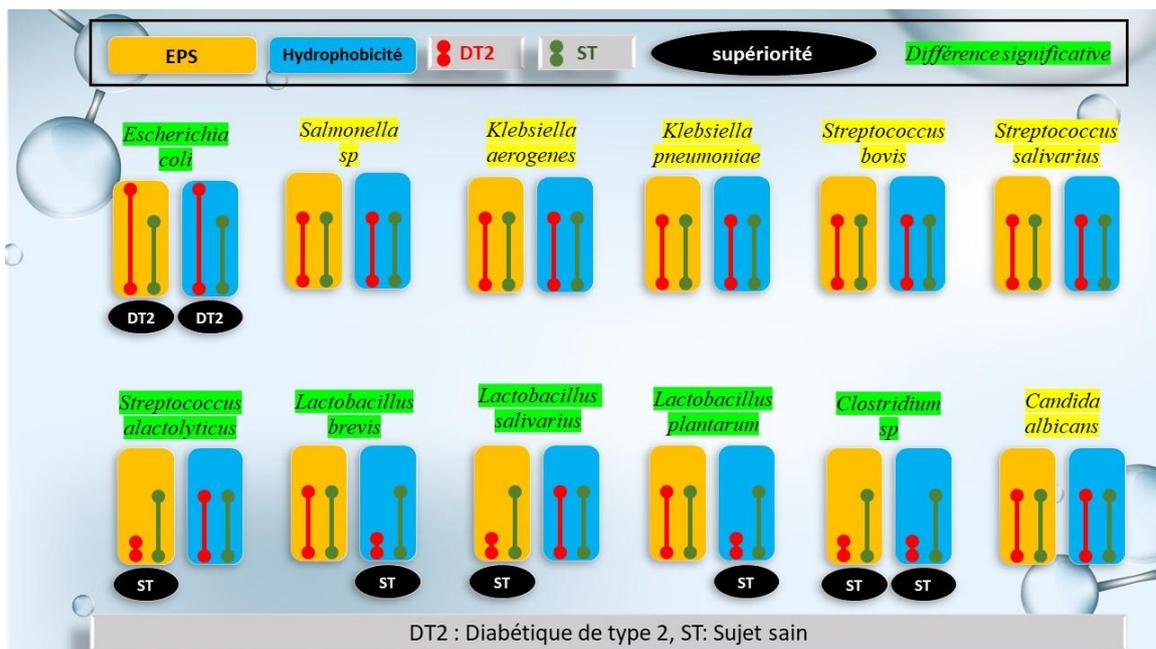


Figure 51 : La Supériorité en production des EPS et en Hydrophobicité des souches (DT2 vs ST).

Tableau 14 : Souches identifiées ayant démontré une supériorité significative en termes d'hydrophobicité et de productivité des exopolysaccharides (EPS) entre les deux types de microbiote (DT2 et ST).

<i>Microorganismes</i>	<i>E coli</i>	<i>Sr ala</i>	<i>Lb brv</i>	<i>Lb pln</i>	<i>Lb slv</i>	<i>Cls</i>
EPS	DT2*	ST*			ST*	ST*
Hydrophobicité	DT2*		ST*	ST*		ST*

DT2* : Une supériorité significative chez les diabétiques de type 2. ST* : Une supériorité significative chez les personnes sains témoins. *E coli* : *Escherichia coli*, *Sr ala* : *Streptococcus alactolyticus*, *Lb brv* : *Lactobacillus brevis*, *Lb pln* : *Lactobacillus plantarum*, *Lb slv* : *Lactobacillus salivarius*, *Cls* : *Clostridium*.

II.5.1. Evaluation de la croissance bactérienne des espèces étudiées après traitement par *Pistacia lentiscus* L.

La **figure 52** illustre la cinétique de croissance bactérienne à différentes concentrations d'extrait méthanolique. Aux valeurs minimales de concentration CMI (2 mg/mL), des différences de croissance bactérienne entre les souches en présence de l'extrait comparativement au témoin ont été observées, à l'exception de *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius* et *Streptococcus alactolyticus* pendant les 2 et 4 premières heures d'incubation. On constate que quelque soit la souche, le profil de la cinétique de la croissance en présence de l'extrait est similaire entre les deux groupes des patients (sains et diabétiques de type 2). Après 8 à 10 heures d'incubation, une diminution significative de la croissance bactérienne a été observée pour toutes les souches en présence de l'extrait, certaines souches présentant des valeurs CFU/mL supérieures à log 6 initiales (par exemple, *Streptococcus* et certaines souches de *Lactobacillus*) et d'autres présentant des valeurs inférieures à log 6 initiales (par exemple, souches *Escherichia coli* et *Clostridium*), isolées de la flore fécale de deux groupes différents (DT2 et ST). En revanche, des concentrations supérieures à 4 mg/mL sont considérées comme un inhibiteur puissant pour toutes les souches, notamment les lactobacilles étudiées, qui a connu une baisse directe de la courbe de croissance après 18 heures d'incubation.

Les résultats suggèrent que l'extrait de *P. lentiscus* pourrait être efficace pour inhiber la croissance de certaines souches bactériennes, mais des recherches supplémentaires seront nécessaires pour déterminer son utilisation potentielle en tant qu'agent antimicrobien.

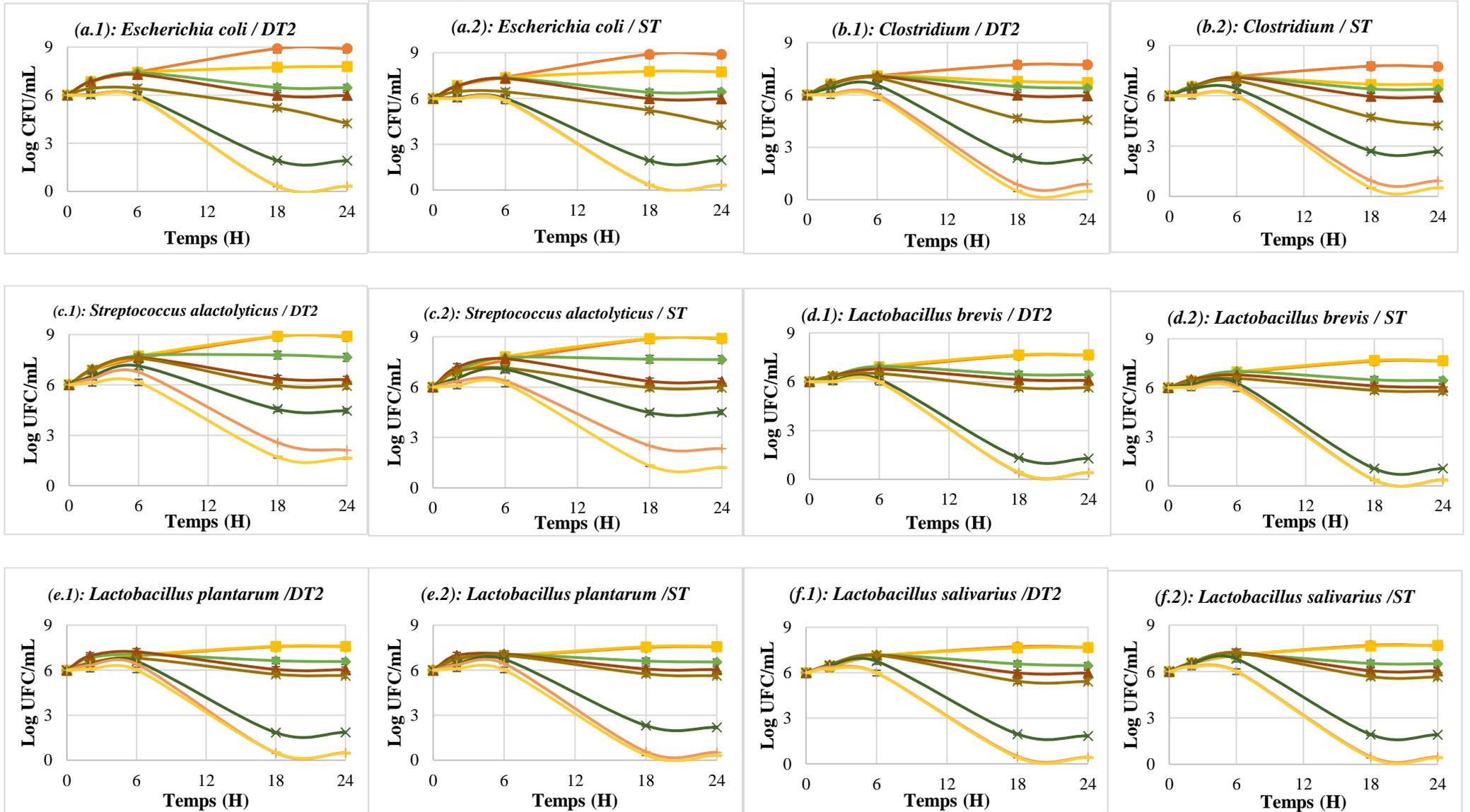
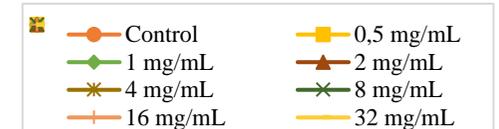


Figure 52 : Evolution de la croissance de souches sélectionnées du microbiote fécal des sujets (DT2 et ST) après traitement par l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus L.*



La cinétique de croissance bactérienne varie en fonction de la souche bactérienne et de sa résistance aux substances biologiquement actives résultant de modifications génétiques (Nikaido H., 2009), ainsi que du mode d'action dans la cellule microbienne. *Pistacia lentiscus L.* a un effet antimicrobien sur différentes souches. Selon Azzouzi Z. et Brahimi H. (2019), la différence de structure de la paroi cellulaire entre les bactéries à Gram-positives et à Gram-négatives et la composition de l'extrait végétal contribuent à son activité antimicrobienne, qui agit comme facteur de croissance chez certaines souches, comme dans le cas de *Streptococcus*(fig. 52c) et *Lactobacillus*(fig. 52d, 52e et 52f) étudiés dans cette recherche, et parfois comme agent antimicrobien comme cela a été constaté chez *Escherichia coli* et *Clostridium*(fig. 52a et 52b). Azzouzi Z. et Brahimi H., en 2019, citent la différence de structure de la paroi cellulaire entre les bactéries à Gram-positives et à Gram-négatives ; de plus, la composition de l'extrait végétal est attribuée à l'activité antimicrobienne. Il existe un effet significatif entre les bactéries dominantes et sous-dominantes chez les DT2 par rapport aux HS à des concentrations de 2 et 4 mg/mL.

II.5.2. Détermination de la CMI et la CMB

Le tableau 15 présente les valeurs de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice), CMB (Concentration Minimale Bactéricide ou Bactériostatique) et le rapport CMI/CMB. L'étude a déterminé que l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* avait une valeur de CMI de 2 mg/mL pour *Escherichia coli* et *Clostridium* (fig.52a et 52b) et de 4 mg/mL pour *Streptococcus alactolyticus* (fig. 52c) et toutes les souches de *Lactobacillus*(fig. 52d, 52e et 52f) étudiées, sauf *Lactobacillus salivarius* dans HS. L'extrait a un effet bactériostatique pour *Clostridium* et *Streptococcus*, et bactéricide pour les autres souches isolées.

Tableau 15 : Valeurs CMI et CMB de l'extrait méthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus L.* des bactéries sélectionnées.

Bactérie	Groupes	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)
<i>Escherichia coli</i>	DT2	2	8
	ST	2	8

<i>Clostridium sp.</i>	DT2	2	16
	ST	2	16
<i>Streptococcus alactolyticus</i>	DT2	4	32
	ST	4	32
<i>Lactobacillus brevis</i>	DT2	4	8
	ST	4	8
<i>Lactobacillus plantarum</i>	DT2	4	8
	ST	4	16
<i>Lactobacillus salivarius</i>	DT2	4	16
	ST	8	16

II.5.3. Estimation du rendement en exopolysaccharides (EPS) avant et après traitement par l'extrait de *P. lentiscus*

L'effet de diverses concentrations de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* sur la production d'EPS par les bactéries étudiées a été illustré sur la **figure 53**. Une réduction significative de la quantité d'EPS a été observée à 2 et 4 mg/mL d'extrait comparativement aux témoins ST et ceci pour toutes les espèces sélectionnées.

Aussi, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum* et *Streptococcus alactolyticus* avaient des teneurs d'EPS plus élevées à la concentration de 2 mg/mL d'extrait de *P. lentiscus* (8,46, 5,21 et 4,41 $\mu\text{g/mL}$ pour DT2 et 9,14, 6,37 et 4,84 $\mu\text{g/mL}$ pour ST) contrairement à *Lactobacillus salivarius* et *Clostridium* avec une teneur plus faible (2,97 et 2,25 $\mu\text{g/mL}$ pour DT2 et 3,83 et 2,61 $\mu\text{g/mL}$ pour ST). *Escherichia coli* avait produit des taux très faibles (0,47 et 0,37 $\mu\text{g/mL}$) chez les deux groupes étudiés, respectivement (DT2 et ST).

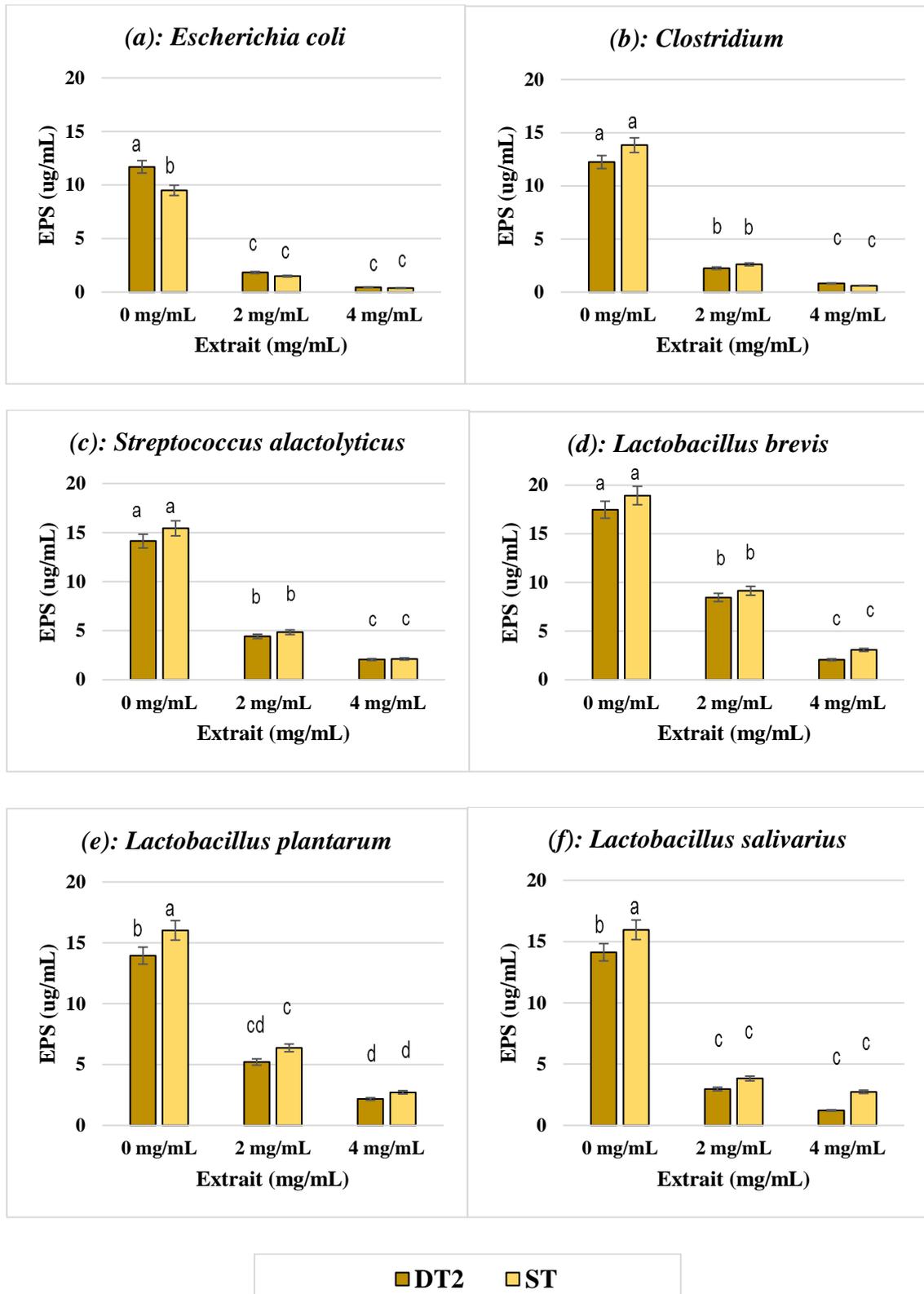


Figure 53 : Production d'EPS par les souches sélectionnées du microbiote fécal des deux groupes étudiés (DT2 et ST) sans et avec traitement par l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus L.*

L'extrait méthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* a été moins efficace contre les bactéries à Gram-positives que contre *Escherichia coli* (Gram-négative) en raison de la paroi bactérienne plus épaisse et de la longue série d'interactions entre les faces externe et interne de la cellule, notamment chez *Lactobacillus* et *Streptococcus*.

Les exopolysaccharides du système reproducteur de ces bactéries (*Lactobacillus* et *streptococcus*) n'a pas été affecté par les métabolites secondaires de *Pistacia lentiscus*, ce qui a retardé leur activité. Ce retard peut être attribué à l'épaisseur de la couche externe de polysaccharides et à d'autres facteurs d'influence. L'identification des déterminants moléculaires chez les cellules microbiennes (enzymes, protéines, transporteurs) est importante car elle définit par les molécules d'origine végétale, d'une part, le risque d'un extrait à être victime d'une interaction cinétique et, d'autre part, sa capacité à modifier la cinétique d'un extrait associé (de manière indépendante, un extrait peut à la fois être victime d'une interaction et générer une interaction entre les molécules produites par la cellule microbienne). Ainsi que les extraits de plantes jouent un rôle efficace dans le contrôle du mouvement des molécules de base impliquées dans la synthèse des éléments principaux ou secondaires du processus de division microbienne. Cet effet varie en fonction de la concentration et de la diversité des composés chimiques présents dans l'extrait de plante (**François Paul, 1986 ; Jutta Cerning, 1990 ; Levêque D., et al., 2010 ; Osman et al., 2012**).

La plupart des bactéries sont recouvertes d'une enveloppe cellulaire qui sert non seulement de barrière physique pour faciliter leur survie et leur tolérance au stress écologique, mais permet également l'adaptation et l'intercommunication avec la niche qu'elles occupent. Pour la plupart des bactéries, la surface externe reste recouverte d'exopolysaccharides (EPS), un réseau polymère composé de chaînes glucidiques. Chimiquement, les mono, di, olégo et polysaccharides reforment une couche moléculaire externe renforcée par liaisons et forces intramoléculaires, où certains composants de l'extrait végétal imposent ce processus d'action (**Brian et al., 2003 ; Navneet K. et Priyankar D., 2023**).

La production et la composition des polysaccharides extracellulaires peuvent être modifiées par les bactéries en réponse à des facteurs environnementaux, tels que le pH, les sources d'azote ou de carbone, soit par des changements dans les voies métaboliques, soit par autorégulation de l'expression des gènes (**Navneet K. et Priyankar D., 2023**).

Selon autres études plus anciennes, les di- et polysaccharides dans le milieu de culture permettent de diminuer l'activité de l'eau (AW) limitant ainsi considérablement l'eau libre dans le milieu de culture. Il s'agit donc d'un stress hydrique qui permet aussi d'augmenter la synthèse des EPS. Il a été montré que la nature de la source de carbone a un effet significatif sur la croissance et la production des EPS par les bactéries. OÙ les particules les plus riches en fonctions d'hydroxyde (-OH), comme les phyto-molécules et les polyphénols, peuvent souvent avoir lieu les interactions aquatiques (**Habimana, 2009 ; Xu et al., 2010**).

Des différences significatives ont été enregistrées dans la quantité d'exopolysaccharides produits par toutes les souches bactériennes sélectionnées. Lorsque celles-ci sont exposées aux deux concentrations (2 et 4 mg/mL) en extrait méthanolique, à l'exception de *Lactobacillus salivarius*.

Toutefois aucune différence significative entre les deux groupes étudiés n'a été obtenue, sauf pour les souches de *Lactobacillus plantarum* à 2 mg/mL de l'extrait, avec ($P \leq 0.05$) où les patients diabétiques (DT2) avaient des niveaux d'EPS inférieurs ($5,21 \pm 0.64 \mu\text{g/mL}$) par rapport aux sujets sains (ST) ($6,37 \pm 0.71 \mu\text{g/mL}$).

D'autre part, on remarque que les deux concentrations choisies en extrait méthanolique de *P. lentiscus* (2 et 4 mg/mL) affecte faiblement la production des exopolysaccharides pour *Streptococcus alactolyticus* (4.41 et 2.05 $\mu\text{g/mL}$, respectivement chez les DT2, et 4.84 et 2.12 $\mu\text{g/mL}$, respectivement chez les ST), suivi par *Lactobacillus brevis* (8.64 et 2.05 $\mu\text{g/mL}$, respectivement chez les DT2, et 9.14 et 3.06 $\mu\text{g/mL}$, respectivement chez les ST) et *Lactobacillus salivarius* (2.97 et 1.22 $\mu\text{g/mL}$, respectivement chez les DT2, et 3.83 et 2.74 $\mu\text{g/mL}$, respectivement chez les ST). Par contre, *Clostridium sp* (2.25 et 0.81 $\mu\text{g/mL}$, respectivement chez les DT2, et 2.61 et 0.59 $\mu\text{g/mL}$, respectivement chez les ST) et *Escherichia coli* (1.83 et 0.44 $\mu\text{g/mL}$, respectivement chez les DT2, et 1.49 et 0.37 $\mu\text{g/mL}$, respectivement chez les ST) avaient produits de très faibles quantités en EPS et ceci comparativement aux témoins (souches contrôle sans traitement).

On peut dire que les concentrations inférieures de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* n'a pas affecté la production d'EPS pour les souches bénéfiques appartenant à microbiote intestinal dominant et sous-dominant (*Lactobacillus*,

Streptococcus et *Clostridium*). Mais il est un bon inhibiteur pour bloquer cette production chez les entérobactéries (*E. coli*).

II.5.4. Evaluation de l'activité anti-adhésion de l'extrait de *P. lentiscus*

L'extrait méthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* L. a montré une activité anti-adhésion significative contre *Escherichia coli* et *Clostridium*, avec des pourcentages supérieurs à 80% (**Fig.54.a** et **54.b**). De plus, à une concentration de 2000 µg/mL, l'extrait a montré une activité anti-adhésion élevée dans le microbiote de DT2 pour *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus salivarius* (**Fig.54.e** et **54.f**). Cependant, à la même concentration, les rapports antiadhérents étaient inférieurs à 70 % pour *Lactobacillus brevis* et *Streptococcus alactolyticus* (**Fig.54.c**).

La flore dominante des patients diabétiques a montré une moindre adhérence dans la plupart des concentrations en extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus*, à l'exception d'*Escherichia coli* et de *Clostridium* (flore potentiellement pathogène), qui présentaient une résistance plus élevée, comme observé chez *Escherichia coli* (**Fig. 54.a**) et une résistance homogène entre les deux souches de *Clostridium* pour les deux groupes étudiés (DT2 et ST) (**Fig.54.b**).

L'activité anti-adhésion a été enregistrée avec des pourcentages très faibles, inférieurs à 6% au plus pour de faibles concentrations de l'extrait inférieures à 250 µg/mL, et aucune résistance n'a été enregistrée pour les deux souches *Streptococcus alactolyticus* et *Lactobacillus salivarius* pour le groupe sain (ST) (**Fig.54.c** et **54.f**).

Les résultats anti-adhésion sont cohérents avec ceux indiquant que les métabolites présents dans les extraits de plantes ont un effet antimicrobien, car ils bloquent les fonctions chimiques microbiennes transmises par la surface des cellules visant à attacher la cellule à la surface de l'hôte. Les EPS d'origine microbienne avec une nouvelle fonctionnalité et des propriétés physico-chimiques reproductibles sont des classes importantes de matériaux polymères. On pense qu'ils protègent les cellules bactériennes de la dessiccation et produisent des biofilms, augmentant ainsi les chances des bactéries de coloniser des niches écologiques particulières (**Vardharajula Sandhya et Ali Sk Z., 2014**).

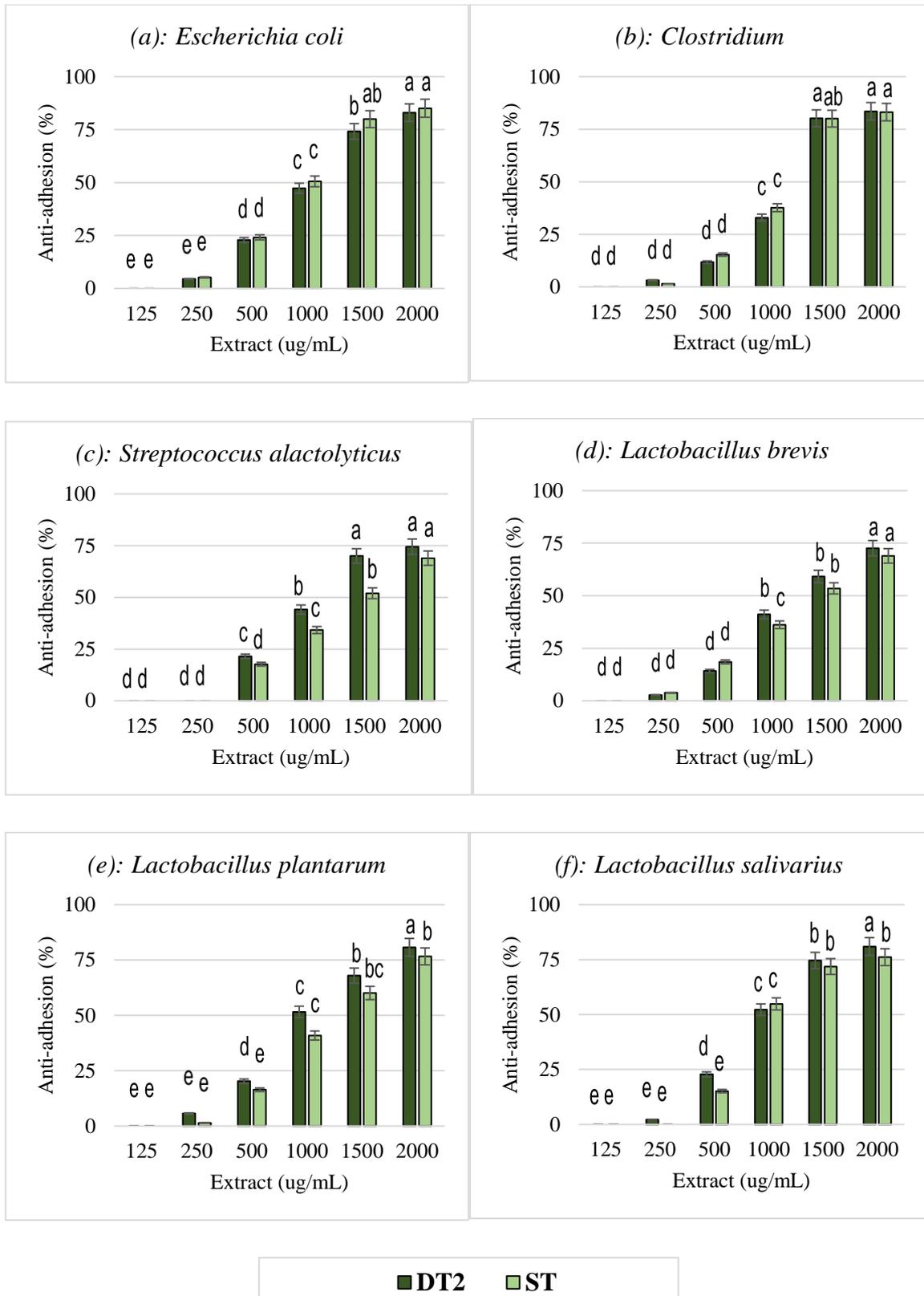


Figure 54 : Activité anti-adhésion de l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* sur les souches les plus productrices de biofilm isolées et sélectionnées du microbiote fécal étudié chez les deux groupes (DT2 vs ST).

La molécule choisie comme adhésif modèle pour cette recherche était le polysaccharide extracellulaire (EPS) sécrété par un groupe microbien de la flore intestinale. Des recherches antérieures menées par d'autres chercheurs ont montré que cette molécule joue un rôle important dans la formation initiale de la couche de conditionnement et pourrait être l'un des principaux déterminants de l'adhésion du biofilm (Navneet K. et Priyankar D., 2023). En plus, les infections intestinales liées aux implants constituent un grave problème de santé publique. En effet, la colonisation de la surface de l'implant par des bactéries contaminantes peut conduire à la formation la première phase de biofilms protégeant les bactéries des défenses immunitaires et des antibiotiques. Afin de diminuer le risque d'infection, une des solutions est de modifier la surface de fixation par un revêtement inhibant l'adhésion bactérienne (revêtement « passif ») ou capable de tuer les bactéries (revêtement « actif »), il s'agit de la dose utilisée d'extraits de plantes riches en métabolites secondaires, qui à leur tour affectent, relativement ou complètement, le processus d'adhésion à la surface, en formant une barrière artificielle, ou en affectant l'activité biologique interne des bactéries. Certains extraits facilitent le processus d'adhésion, car les cellules microbiennes les considèrent comme un facteur de croissance peu riche en métabolites anti-adhésion (Guerrero G. et al., 2008).

Une différence significative entre les concentrations en extrait méthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus a* été retrouvée avec toutes les graduations de la dose utilisée. D'autre part, il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes étudiés DT2 et ST à la concentration la plus élevée (2000 ug/mL) pour *Escherichia coli*, *Clostridium*, *Streptococcus alactolyticus* et *Lactobacillus brevis*. Une différence avec un effet significatif a été déterminée chez les deux espèces de *Lactobacillus* (*Lbplantarum* et *Lbsalivarius*) pour meme concentration (2000 ug/mL). La concentration 500 ug/ml a effectué une activité anti-adhésion avec supériorité significative chez les DT2 pour les souches *Streptococcus alactolyticus*, *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus salivarius*. Cette supériorité a été enregistrée avec la concentration 1000 ug/mL pour *Lactobacillus brevis*, ($p \leq 0.05$)

II.5.5. Evaluation de l'activité antibiofilm de l'extrait étudié

L'activité antibiofilm de l'extrait méthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* L. a été enregistrée avec des pourcentages plus significatifs de 80% pour toutes les souches d'*Escherichia coli* et de *Clostridium* (**Fig.55.a** et **55.b**) à la concentration de 2000 ug/mL, suivi de *Streptococcus alactolyticus* avec des pourcentages inférieurs à 70 % d'effet antibiofilm exercé par l'extrait étudié (**Fig.55.c**).

Les souches de la flore dominante isolées chez les sujets diabétiques (DT2) étaient moins résistantes en termes de production de biofilm dans la plupart des concentrations d'extrait méthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* (**Fig.55.c, 55.d, 55.e** et **55.f**), et une activité homogène a été enregistrée entre les deux souches de *Lactobacillus salivarius* (des 2 groupes) (**Fig.55.f**) pour des concentrations égales ou supérieures à 1000 ug/mL.

Les plus faibles concentrations d'extrait méthanolique de feuilles de *P. lentiscus* inférieures à 250 ug/mL ont enregistré une activité antibiofilm très faible (inférieurs à 5,5 %).

A 250 ug/mL, une résistance totale a été enregistrée chez les deux souches de *Streptococcus alactolyticus* quel que soit le groupe de personne et *Lactobacillus salivarius* en ST (**Fig.55.c** et **55.f**).

Les résultats antibiofilm montrent systématiquement que les extraits de plantes médicinales ont un effet antibiofilm important surtout le cas de *Pistacia lentiscus*. Ils préviennent les agglomérations microbiennes en inhibant les interactions entre les fonctions chimiques portées à la surface des cellules microbiennes qui changent de nature d'une souche à l'autre.

Lors de la formation du biofilm, l'EPS joue un rôle crucial dans la formation d'agrégats de biofilm, une qualité importante de ces grosses molécules responsables du maintien de l'intégrité du biofilm (**Powell et al., 2018**). Selon **Harimawan et Ting (2016)**, une réduction significative de la production d'EPS a été enregistrée lors du traitement avec des extraits de plantes suggérant leur rôle dans la perturbation de la dynamique du biofilm.

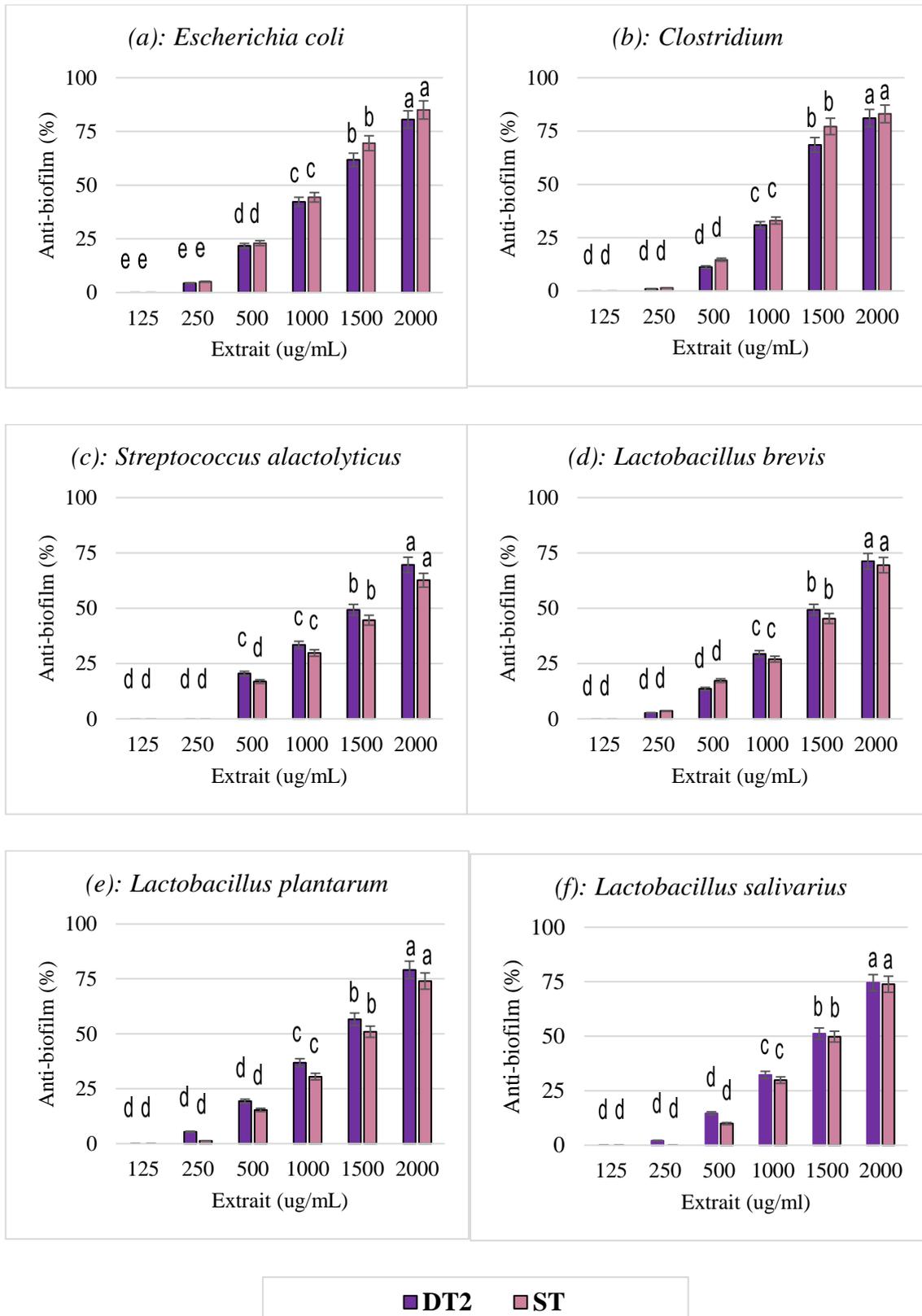


Figure 55 : Activité antibiofilm de l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* sur les souches les plus productrices de biofilm isolées et sélectionnées du microbiote fécal étudié chez les deux groupes (DT2 vs ST).

En plus, dans la nature, les bactéries se développent sur des surfaces abiotiques en formant des biofilms adhérents où elles sont englobées dans une matrice protectrice d'exopolysaccharides appelée glycocalyx. Une fois ce biofilm formé, les bactéries se retrouvent protégées des défenses (immunitaires et des antibiotiques) (**Compoccia D. et al., 2006**). Les biofilms bactériens sont impliqués dans de très nombreuses infections chez l'homme, en particulier les infections intervenant à la suite de l'insertion d'un implant. En effet, l'absence de réponse immunitaire au niveau local dans les tissus entourant l'implant rend plus aisé le développement de l'infection. La formation du biofilm implique dans un premier temps l'adsorption des bactéries et leur adhésion à la surface ciblée, puis la multiplication des bactéries et la production d'exopolysaccharides. Les métabolites secondaires phénoliques et flavonoïdiques soutiennent la fonction immunitaire, car ils empêchent les microbes de se fixer à la surface, de sorte qu'aucun biofilm ne se forme, ce qui conduit à l'arrêt de la production massive des exopolysaccharides (**Guerrero G. et al., 2008**).

Dans notre étude, les souches avec des pourcentages élevés d'EPS ont une haute performance pour résister à l'extrait méthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* alors qu'on remarque un effet anti-adhésion et antibiofilm pour les autres souches. Il existe une relation directe entre le taux d'EPS produit et l'hydrophobicité chez certains micro-organismes de la flore intestinale sous dominante (*Escherichia coli* et *Clostridium sp*).

Statistiquement, nous avons enregistré une différence significative ($p \leq 0.05$) entre les concentrations les plus élevées (1000, 1500 et 2000 $\mu\text{g/mL}$) pour toutes les souches mais pas entre les groupes des personnes, à l'exception pour la concentration 500 $\mu\text{g/mL}$ pour *Streptococcus alactolyticus*, qui n'a pas non plus entraîné de différence par rapport à la concentration de 1000 $\mu\text{g/mL}$ pour le groupe DT2.

L'importance du microbiote intestinal est de plus en plus mise en avant dans de nombreuses pathologies digestives. Des modifications du microbiote existent au cours du diabète, surtout de type 2, avec notamment une diminution des Streptocoques bénéfiques et des Lactobacilles, et une augmentation des entérobactéries et de des clostridies. Ces modifications paraissent favorisées par un apport alimentaire déséquilibré ou lipidique élevé. Les changements dans l'écosystème intestinal pourraient également jouer un rôle via la modification des acides biliaires endo-luminaux qu'ils entraînent. Lorsque des

troubles moteurs intestinaux apparaissent, une pullulation microbienne est souvent détectée (**Wu H. et al., 2015**).

La qualité de la barrière intestinale, notamment sa perméabilité, est essentielle pour que l'interaction entre le milieu luminal et le système immunitaire intestinal se fasse de façon optimale. Une augmentation de la perméabilité intestinale, essentiellement paracellulaire, sous l'action des sécrétions irrégulières de microbiote intestinale en cas de déséquilibre microbien existe dans le diabète, surtout le type 2. Cette perméabilité paracellulaire est mise en cause dans l'apparition du diabète mais également dans celle de la gastroentéropathie du diabétique. Ces anomalies précèdent l'apparition des symptômes digestifs d'un part, et casser l'activité biologique du foie dans la production naturelle d'insuline, à la fois en termes de qualité ou de quantité d'autre part (**De Kort S. et al., 2011**).

La perturbation du microbiote intestinal donne une raréfaction des cellules endocrines et une diminution de leur sécrétion ont été mises en évidence chez les sujets diabétiques. Ces sécrétions hormonales anormales contribuent aux troubles de la motricité et de l'absorption glycémique sanguine (**El-Salhy M. 2002 ; El-Salhy M. et al., 2009**).

Le mauvais équilibre glycémique, qui peut être favorisé par l'existence d'une gastroparésie, est un élément majeur dans la survenue de la gastro-entéropathie diabétique (**Krishnan B. et al., 2013**). L'équilibre glycémique a un effet direct sur la motricité digestive par des mécanismes mal élucidés, au moins partiellement hormonaux. Quand la glycémie s'élève au-dessus de 8 mmol/L (1.26 g/L) la motricité antro-pyloro-duodénale est altérée. L'hyperglycémie contribue également à l'agression des neurones entériques en induisant un stress oxydatif et une apoptose qui affectent les voies métaboliques intracellulaires et le fonctionnement de la glie. Ces effets de l'hyperglycémie contribuent à la fois aux troubles moteurs et sensitifs digestifs observés chez les diabétiques (**Bytzer P. et al., 2002 ; Frokjaer JB. et al., 2007**).

A la lumière de nos résultats les données préalables, nous considérons que la proportion d'EPS produite par le microbiote intestinal a un effet positif immédiat sur la motilité de la paroi externe des bactéries en adhésion et en agrégation lorsqu'il existe une performance biochimique exogène de l'extrait méthanolique de feuilles de *Pistacia*

lentiscus L. Étant donné que la gamme de concentration de l'extrait pour 500 et 1000 µg/mL atteint une activité anti-adhésion et antibiofilm de 50 % (concentrations les plus intéressantes dans notre étude). Cet intervalle des doses de traitement par le *Pistacia lentiscus* permettent de suggérer la restauration et la modulation du microbiote intestinal des sujets atteints ou porteurs de maladies métaboliques. L'effet des métabolites secondaires de l'extrait méthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* a montré une activité biologique plus importante contre les entérobactéries que sur les streptocoques, avec un faible pouvoir antibiofilm contre les bactéries bénéfiques. Ce résultat pourrait constituer une voie de traitement phytothérapeutique et ou préventif permettant le rétablissement du microbiote intestinal chez les patients atteints de diabète de type 2. Plusieurs études viennent confirmer que les métabolites secondaires des extraits de plantes médicinales jouent un rôle important dans la restauration du microbiote intestinal (**Yan H. et al., 2017 ; Zhao L. et al., 2018 ; Pan C. et al., 2019 ; Kaur H. et al., 2021**). La concentration inférieure à 1000 µg/mL de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* donnent des résultats satisfaisants assurant la préservation de la composition du microbiote intestinal, qu'est considéré actuellement selon des études récentes la cause principale de la déclarer directement des maladies métaboliques tel que le diabète.

Les exopolysaccharides bactériens présentent d'excellentes propriétés bioactives, telles que la modulation immunitaire, les effets prébiotiques, les propriétés antioxydantes, antidiabétiques, antivirales, anticancéreuses, antiulcéreuses et anti-gastrite (**Navneet K. et Priyankar D., 2023**). Globalement, nous concluons que l'extrait méthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus L.* avec concentrations variant de 500 à 1000 µg/mL est un facteur de restauration et de modulation du microbiote intestinal des patients diabétiques de type 2 (DT2) vers le caractère sain retrouvé chez les sujets normaux (ST).

Conclusion

Les humains ont besoin d'utiliser des substances naturelles caractérisées par des activités biologiques pratiques. Notre travail de recherche s'est axé sur une plante médicinale *Pistacia lentiscus* L., bien connue en pharmacopée traditionnelle en Algérie, notamment dans la région du Nord-Ouest.

L'étude ethnobotanique a révélé une utilisation répandue de cette plante par les thérapeutes locaux pour traiter diverses affections. Le criblage phytochimique qualitatif et quantitatif de l'extrait méthanolique de *P. lentiscus* des deux variétés de Mesra et Mohammadia (wilaya de Mostaganem et Mascara respectivement), a confirmé la richesse de cette plante en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins s'est révélée un puissant antioxydant avec une IC₅₀ intéressante. Cette plante constitue un potentiel antioxydant prometteur.

L'évaluation *in vitro*, de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. a montré une activité dose-dépendante. Les résultats obtenus *in vivo*, ont démontré également une activité anti-inflammatoire significative, ainsi qu'une absence de toxicité aux doses administrées chez les rats.

Un aspect important de notre étude est son lien avec le microbiote intestinal passant par le microbiote fécal, en particulier chez les patients atteints de diabète de type 2 comparativement aux sujets sains. Le microbiote intestinal diffère d'une personne à l'autre, ce qui lui permet d'influencer la nature des métabolites secondaires qui contrôlent la santé humaine. C'est la raison pour laquelle notre étude a visé à trouver une alternative pour le restaurer naturellement chez les patients atteints de diabète de type 2, qui souffrent d'une augmentation des entérobactéries et d'une diminution des streptocoques et des lactobacilles.

Les exopolysaccharides avec un plus grand pourcentage d'hydrophobicité contrôlent l'adhésion et la formation de biofilm ainsi que la résistance du microbiote intestinal aux agents externes d'activité biologique. Les bactéries à Gram-positives se caractérisent par la production de niveaux inférieurs d'exopolysaccharides, et les bactéries à Gram-négatives qui produisent quantités supérieures chez les personnes atteintes de diabète de type 2.

D'autre part, l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* est très intéressante pour moduler la flore intestinale dominante chez

les patients atteints de diabète de type 2 puisqu'il s'agit d'un puissant anti-adhésion et antibiofilm, notamment contre les bactéries à Gram négatives et le *Clostridium sp* par contre il n'affecte pas la croissance, l'adhésion et la formation de biofilm même à des concentrations modérées pour les bactéries bénéfiques.

Les résultats obtenus confirment l'intérêt de *Pistacia lentiscus* en médecine traditionnelle pour améliorer et assurer l'équilibre microbien intestinal des personnes atteintes de diabète. Cette plante peut être considérée comme un agent antibiofilm naturel prometteur. Elle présente des propriétés bénéfiques non seulement pour les individus diabétiques, mais aussi pour les personnes en bonne santé, en tant que mesure préventive contre les maladies métaboliques.

En perspective, il serait intéressant de :

- ✓ Mener des essais cliniques plus approfondis sur l'utilisation de *Pistacia lentiscus* dans le traitement et la prévention du diabète.
- ✓ Evaluer son efficacité à grande échelle, et déterminer les doses optimales et surveiller les effets secondaires potentiels.
- ✓ Utiliser cette plante dans le secteur pharmaceutique et agroalimentaire, notamment en tant qu'additif dans la fabrication de produits nutraceutiques tels que les produits laitiers. Par exemple, l'incorporation de *Pistacia lentiscus* dans les yaourts afin d'offrir des avantages en tant que traitement curatif pour les diabétiques et en tant que mesure préventive pour les individus prédisposés au diabète.
- ✓ Explorez d'autres applications thérapeutiques potentielles de *Pistacia lentiscus*. Il pourrait avoir un rôle dans la prévention ou le traitement d'autres maladies métaboliques et/ou inflammatoires.
- ✓ Favorisez la collaboration entre les chercheurs en médecine, en biologie, en nutrition, et en industrie pour maximiser l'impact de la recherche sur *Pistacia lentiscus*. Les approches multidisciplinaires sont souvent les plus fructueuses dans le domaine de la santé.

- Abdeddaim S., Moussaoui A., Boudjema A., Kacimi, M., Merah, O., Morsli, A. et Benali, M. 2021. Evaluation of in vitro biological activities of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria. *Journal of Ethnic Foods*, 8, 21. doi: 10.1186/s42779-021-00091-2
- Achili, Imene et benayache, Samir. 2021. Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales algériennes, cas des espèces *Pistacia atlantica* et *Salvia microphylla*. Thèse de doctorat. Université Frères Mentouri-Constantine 1.
- Adebayo, S.A., Dzoyem, J.P., Shai, L.J. 2015 The anti-inflammatory and antioxidant activity of 25 plant species used traditionally to treat pain in southern African. *BMC Complement Altern Med* 15, 159. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0669-5>
- Adewale, O.B., Onasanya, A., Anadozie, S.O., Abu, M.F., Akintan, I.A., Ogbale, C.J., Olayide, I.I., Afolabi, O.B., Jaiyesimi, K.F., Ajiboye, B.O. et Fadaka, A.O. 2016. Evaluation of acute and subacute toxicity of aqueous extract of *Crassocephalum rubens* leaves in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 188: 153– 158.
- Adla, S., Boudjelal, A., & Benariba, N. 2022. *Pistacia lentiscus* L. and its bioactive compounds: A review of their pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 283, 114618.
- Ahmad Khan M.S, Iqbal Ahmad I. 2019. Chapter 1 - Herbal Medicine: Current Trends and Future Prospects. *New Look to Phytomedicine*. Academic Press. 2019:3-13. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814619-4.00001-X>.
- Ahmada, I. et Aïssatou, K. 2013. Evaluation de l'effet hépatotoxique de l'extrait aqueux de la racine de *Cissus populnea* Guill. et Perr. (Vitaceae) chez le rat. *Journal of Applied Biosciences*, 63, 4719-4727.
- Ahmada, M., Lima, C.P., Akowvuaahb, G.A., Ismaila, N.N. Hashima, M.A., Hora, S.Y., Anga, L.F. & Yama, M.F. 2013. Safety assessment of standardized methanol extract of *Cinnamomum burmanni*. *Phytomedicine*, 20: 1124-1130.
- Ahtesham Hussain, AbuZar Ansari, Rizwan Ahmad. 2020. Chapter 4 - Microbial biofilms: Human mucosa and intestinal microbiota. Editor(s): Mukesh Kumar Yadav, Bhim Pratap Singh. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Microbial Biofilms*. Elsevier. 2020. Pages 47-60. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64279-0.00004-9>.
- Aïssatou, D.S., Ngatchic Metsagang, J.T., Dongmo Sokeng, C. et Nijintang, Y. 2017. Anthihyperlipidemic and hypolipidimic properties of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze (Discoreales : Discoreaceae) tuber's aqueous extracts in the rats. *Brizilian Journal of Biological Sciences*, 4(7): 67-80.
- Aïssatou, K., Ahmada, I. et Mamadou, B. 2017. Evaluation de l'effet hépatotoxique de l'extrait aqueux de la racine de *Cissus populnea* Guill. et Perr. (Vitaceae) chez le rat. *Journal of Applied Biosciences*, 110, 10886-10896.
- Ait-Idir N, Bouyoucef H. 2017. Etude de l'activité anti-inflammatoire, in vitro, des extraits des feuilles et des écorces des racines de *Pistacia lentiscus* L. sur la stabilité membranaire du globule rouge. *Mémoire de Master, Université Abderhamen Mira de Bejaia*. 2017;55.
- Alistiqsa F, Bouassab A, Allouch M. 2017. Etude ethnobotanique des plantes médicinales de la région de tanger. Cas de hjarnhal et melloussa. *Int. J. Adv. Res.* 2017;5(11):310-322. Article doi:10.21474/ijar01/5772.
- Al-Muhanna, FA, Dodwell, AK, Al Eleq, AH, Albaker, WI, Brooks, AW, Al-Sultan, AI and Al-Ali, AK, 2021. Analyses du microbiote intestinal des populations saoudiennes pour le type 2 phénotypes liés au diabète révèle une association significative. préirage bioRxiv doi : <https://doi.org/10.1101/2021.10.25.465666>.
- AL-Saghir M.G. and Porter D.M. 2012. Taxonomy revision of the genus *Pistacia* L. (Anacardiaceae). *Amer. J. Pl. Sci.* 2012;(3):24-27. DOI: 10.4236/ajps.2012.31002.
- Alves, A. M. A., Alves, R. C. et Casal, S. 2013. Olive oil phenolic composition: a new analytical approach. *Food Research International*, 50(1), 401-408.

Amandine Everard, Patrice D. Cani. 2013. Diabetes, obesity and gut microbiota. Best Practice and Research Clinical Gastroenterology. Volume 27, Issue 1. 2013. Pages 73-83. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2013.03.007>.

Amandine Everard, Patrice, D. 2013.Cani. Diabetes, obesity and gut microbiota. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology. 27(1), 73-83. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2013.03.007>.

Amarowicz, R., Pegg, R. B. et Rahimi-Moghaddam, P. 2000. Barley seeds as a source of dietary phenolic acids. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(5), 1678-1682.

Ardestani A, YazdanparastR. 2007. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. Food Chemistry. 2007;104(1):21-29. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.066>.

Ardestani, A. and Yazdanparast, R. 2015. Antioxidant and free radical Scavenging potential of *Achillea santolina* Extract. Food chemistry, 104, 21-29

ARIBI, Ibtissem. (2013) Etude ethnobotanique de plantes médicinales de la région du Jijel: étude anatomique, phytochimique, et recherche d'activités biologiques de deux espèces.

ARIF, Tinhinene et TAHIR, Hayet. 2018. Etude de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles de lentisque pistachier (*Pistacia lentiscus*). Thèse de doctorat. Université de Bouira.

Arumugam A, Weng Z, et Talwelkar SS. 2013. Inhibiting cyclooxygenase and ornithine decarboxylase by diclofenac and alpha-difluoromethylornithine blocks cutaneous SCCs by targeting Akt-ERK axis. PLoS One. Nov 8;8(11):e80076. PMID: 24260338.

Atmani, D., Chaher, N., Atmani, D., Berboucha, M., & Lounici, H. 2009. Water extract of *Nigella sativa* seed regulates glucose concentration and improves antioxidant enzyme activities in liver of alloxan-induced diabetic rats. African Journal of Biotechnology, 8(23), 6562-6568.

Atsamo, A.D., Nguenefack, T.B., Datté, J.Y. & Kamanyi, A. 2011.Acute and subchronic oral toxicity assessment of the aqueous extract from the stem bark of *Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae) in rodents.Journal of Ethnopharmacology 134: 697–702.

AUBRY, Pierre. 2012. Intoxications par les plantes toxiques dans les zones tropicales et inter tropicales. Tropic Med, 2012, p. 1-11.

Awadelkareem, A.M., Al-Shammari, E., Elkhalfifa, A.O., Adnan, M., Siddiqui, A.J., Mahmood, D., Azad, ZRAA., Patel, M., Mehmood, K., Danciu, C., Ashraf, S.A. 2022. Anti-Adhesion and Antibiofilm Activity of *Eruca sativa* Miller Extract Targeting Cell Adhesion Proteins of Food-Borne Bacteria as a Potential Mechanism: Combined In Vitro-In Silico Approach. Plants (Basel). 11(5), 610. [doi:10.3390/plants11050610](https://doi.org/10.3390/plants11050610).

Azofeifa, G., Quesada, S., et Brenes, R. 2013. Polyphenol content, in vitro antioxidant activity and chemical composition of extractable oil from seeds of four different avocado ecotypes.Food Chemistry, 139(1-4), 511-516.

Azouaou Kenza, Touazi Kenza, Ayadi Brahim. 2020. contribution a l'étude de la phytothérapie traditionnelle dans la region de tizi-ouzouet a l'étude d'asphodelus tenuifolius cav.

Azzouzi Zineb, Brahimi Halima. 2019. Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne des extraits du *Pistacia lentiscus*. <http://dspace.univ-djelfa.dz:8080/xmlui/handle/123456789/3367>.

Baaisa S., Guettianif Z. 2020. Contribution à l'évaluation de l'activité antioxydante in vivo de différents extraits de la plante médicinale *Pergularia tomentosa* L., Université Mohamed Khider de Biskra. 40p

Bagot Jean-Lionel, Theunissen Ingrid, Mouysset Jean-Loup. 2021. La santé intégrative : définition et exemples de mises en œuvre en oncologie en France. La Revue d'Homéopathie, vol. 12, no 4, p. 215-221.

Balazs I Bodai, Therese E Nakata, William T Wong et Dawn R Clark. 2018. « Lifestyle Medicine: A Brief Review of Its Dramatic Impact on Health and Survival », The Permanente Journal, vol. 22, PMID 29035175, PMID 29035175, PMID 29035175, DOI [10.7812/TPP/17-025](https://doi.org/10.7812/TPP/17-025).

Bammou M, Daoudi A, Slimani I, Najem M, Bouiamrine EH, Ibjibijen J, Nassiri L. 2015. Valorisation du lentisque « *Pistacia lentiscus* L. » : Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. Journal of Applied Biosciences. 2015;86(1):7966. DOI:[10.4314/jab.v86i1.4](https://doi.org/10.4314/jab.v86i1.4)

- Bammou, M., Daoudi, A., Slimani, I., Najem, M., Bouiamrine, E. H., ibijbijen, J., et Nassiri, L. 2015. Valorisation du lentisque [*Pistacia lentiscud L.*] : etude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir antibacterien. *Journal of applied biosciences*, 86, 7966-7975
- Bampouli, A. K., Georgakopoulos, C. D., Tarantilis, P. A., et Polissiou, M. G. 2014. Chemical composition and antioxidant activity of *Pistacia lentiscus L. var. Chia resin and leaves*. *Industrial Crops and Products*, 61, 70-76.
- Banerjee, S., Panda, C. K., Das, S., et Mandal, B. 2014. Anti-inflammatory and antioxidant activity of the methanol extract of the leaves of *Aegle marmelos Correa ex Roxb.* *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 25(2), 223-230.
- Banihani SA. 2021. Effect of diclofenac on semen quality: A review. *Andrologia*. Jun;53(5):e14021. doi: 10.1111/and.14021. Epub 2021 Mar 2. PMID: 33650710.
- Barbouchi M, Elamrani K, El Idrissi M, Choukrad M. 2020. A comparative study on phytochemical screening, quantification of phenolic contents and antioxidant properties of different solvent extracts from various parts of *Pistacia lentiscus L.* *Journal of King Saud University - Science*.2020;(32)1:302-306. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.05.010>.
- BARKAOUI, Houria, ARIOUA, Kheira, MAHFOUDI, Malika. 2022. Comparaison de la Valeur Nutritive entre les Plantes Spontanées et les Plantes Irriguées. Thèse de doctorat. UNIVERSITE AHMED DRAIA-ADRAR.
- Barnes, J., Anderson, L. A., et Phillipson, J. D. 2008. *Herbal medicines*. Pharmaceutical Press
- Barros LV de, Paulino MF, Valadares Filho S de C, Detmann E, Silva FG da, Valente EEL, Lopes SA, Martins LS. 2011. Replacement of soybean meal by cottonseed meal 38% in multiple supplements for grazing beef heifers. *Rev. Bras. Zootec.* 2011;40(4):852-859.
- Barros, L., Cabrita, L., Boas, M. V., Carvalho, A. M. and Ferreira. 2001. I. C. F. R. Chemical, Biochemical and electrochemical assays to evaluate phytochemicals and antioxidants activity of wild plants. *Food chemistry*, 127, 1600-1608. <https://doi.org/10.1016/J.foodchem.2011.02.024>
- Batista EK, Trindade HI, Lira SR, Muller JB, Silva LL, Batista MC. 2016. Atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato etanólico de *Luehea divaricata*. *Rev Bras Pl Med Campinas*;18(2):433-41.
- Baudoux D. 2003. *L'aromathérapie : Se soigner par les Huiles Essentielles*, édition Amyris. 2003;145- 146.
- BAYALA, Bagora. 2016. Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II; Université Ouaga 1 Professeur Joseph Ki-Zerbo (Ouagadougou, Burkina Faso).
- Beddar Wafa Et Gomres Zohra. 2021. Inventaire des plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies de l'appareil respiratoire dans la région de Hammam Dalaa (M'sila, Algérie). Thèse de doctorat. UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA.
- Belfadel FZ.2009. Huile de fruits de *Pistacia lentiscus*. Caractéristiques physicochimiques et effets biologiques. Mémoire présenté pour obtenir le diplôme de Magister en chimie organique, Université Mentouri Constantine, 2009;139.
- Belgacemi Mebarka Et Dou Aicha. 2019. Etude des effets secondaires au cours d'un traitement ethnobotanique par *Ephedra alata DC*.
- Belhattab Rachid. 2018. Composition chimique et propriétés antioxydantes, antifongiques et antiaflatoxinogènes d'extraits de *Origanum glandulosum Desf.* et *Marrubium vulgare L.* (famille des Lamiaceae). Thèse de doctorat.
- Belkazai Widad, Douza Amira, Mabrouk Wafa. 2017. Evaluation de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait de *Pistacia lentiscus L.* de la région de Jijel sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carragénine. Thèse de doctorat. Université de Jijel.
- Bellakhdar J. 1997. *La pharmacopée marocaine traditionnelle : Médecine arabe et savoirs populaires*. Editions le fenec, (Ed.) (Eds.), Ibis Press, Casablanca, Morocco. 1997;764.
- Belloum N., Nani N.2020. Contribution à l'étude phytochimique de racine de *Pergularia tomentosa L.* dans la région d'El Oued. Université Echahid Hamma Lakhdar ELOUED., 60p.

Belmerabet Imene, Benghanem Miyada. 2018. Contribution à l'étude phytochimique, l'évaluation de l'activité antimicrobienne et l'analyse pédologique des extraits de la plante *Pistacia lentiscus* L. récoltée de trois régions. Thèse de doctorat.

Ben Daoued, K, Chouaibi M, Gaout N, Haj O. B and Hamdi S. 2016. Chemical composition and antioxidant activities of cold pressed lentisc (*Pistacia lentiscus* L.) seed oil. *Riv. Grasse*, 2016;(93):31-38.

Ben Douissa Faouzia. 2004. Étude chimique et biologique de *Pistacia lentiscus* L. Thèse de doctorat. Université Joseph Fourier (Grenoble ; 1971-2015).

Benhammou N, Atik Bekkara F. 2009. Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L. de deux stations de la région de Tlemcen (Algérie). H. Greche et A. Ennabili (éd.). Recherches sur les plantes aromatiques et médicinales. Actes du congrès international des 22-24 mars 2007, Mezraoua (Taounate) et Fès, Maroc. 2009;281-285.

Benmagnhia Souhila, Meddah Boumediene, Tir-Touil Aicha, Gabaldón Hernández José Antonio. 2019. Phytochemical analysis, antioxidant and antimicrobial activities of three samples of dried figs (*Ficus carica* L.) From the region of Mascara. *Journal Of Microbiology, Biotechnology And Food Sciences*. 2019;(9)2. <https://office2.jmbfs.org/index.php/JMBFS/article/view/8915>

Benmeggoura Rania, Zerroukhi Asma, et Bouhabila Aziz. 2021. Contribution à l'étude phytochimique et l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques extraits de *Pistacia lentiscus* L de l'Est Algérien.

Bensaid Aicha. 2022. Propriétés anti-oxydants, anti-inflammatoires et antispasmodiques d'*Ocimum basilicum*. Thèse de doctorat. Université de Montpellier.

Bettaoula Aicha, Kouidri Yasmine, et Mostefaoui H. 2017. Etude des composants de la phyllosphère du Pistachier lentisque (*Pistacia Lentiscus* L 1753.) tout au long d'un gradient d'élévation croissant à Médéa. Thèse de doctorat.

Bitsindou M, Bouquet A. 1996. Enquêtes sur la phytothérapie traditionnelle à Kindamba et Odzala, Betti, JL. An ethnobotanical study of medicinal plants among the Baka pygmies in the Dja Biosphere Reserve, Cameroon. *African Study Monographs*. 1996;25(1):1-27.

Boehncke WH, Stalder R, Brembilla NC. 2020. Les cytokines IL-17, une famille en expansion utilisée comme cible pour des thérapies anti-inflammatoires innovantes [Cytokines IL-17, an expanding family used as a target for innovative anti-inflammatory therapies]. *Rev Med Suisse*. 2020 Jan 15;16(676-7):28-30. French. PMID: 31961078.

Bouamoucha Hanane et Benguedouar Lamia. 2021. Investigation in vitro de l'activité antioxydant des extraits des fruits de pistachier lentisque de la région de Jijel dans un modèle mitochondrie hépatique.. Thèse de doctorat. Université-Jijel-.

Boubaker Jihed, Skandrani Ines, Limem Ilef, Bhourri Wissem, Neffati Aicha, Sghaier Mohamed B, Bouhleb Ines, Kilani Soumaya, Ghedira Kamel, Chekir-Ghedira Leila. 2009. *Pistacia lentiscus* L. essential oil inhibits the inflammatory response of human monocytes through differential regulation of NF- κ B and MAPK signaling pathways. *Journal of Ethnopharmacology*, 126(3), 311-318. doi: [10.1016/j.jep.2009.08.025](https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.08.025)

Boudiaf K. 2006. Etude des effets anti-xanthine oxydo-reductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de Magister. Université de Sétif. 2006.

Boudiaf, K. 2009. Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-tumoral, These de doctorat, Université Francois-Rabelais de Tours, p35-45

Boudjouref M, Zerroug MM. 2011. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magister, Université Ferhat Abbes-Setif.

Boufenzar A, Carrasco K, Jolly L, Brustolin B, Di-Pillo E, Derive M, Gibot S. 2021. Potentiation of NETs release is novel characteristic of TREM-1 activation and the pharmacological inhibition of TREM-1 could prevent from the deleterious consequences of NETs release in sepsis. *Cell Mol Immunol*. Feb;18(2):452-460. doi: [10.1038/s41423-020-00591-7](https://doi.org/10.1038/s41423-020-00591-7). Epub 2021 Jan 8. PMID: 33420354; PMCID: PMC8026640.

Bouhlali, E. D., Bammou, M., Sellam, K., Benlyas, M., et Alem, C. 2016. Antioxidant and anti-inflammatory properties of eleven Moroccan date fruit (*Phoenix dactylifera* L.) varieties. *Journal of King Saud University-Science*., 28(3), 235-244.

Boukeloua, A. 2012. Antioxidant and antibacterial activities of *Pistacia lentiscus* L. leaves extracts. *Afr J Pharm Pharmacol.*, 6(11), 789-795. doi: 10.5897/ajpp11.612

Boukerika Samira, Boumimiz Sabahet Hariti Souaad. 2019. Activité antioxydante de *Thymus vulgaris* L., *Cynoglossum creticum* Mill. et d'*Arum italicum* Mill. de la wilaya de Jijel (étude in vitro).. Thèse de doctorat. Université de Jijel.

Bouriche, H. 2016. Évaluation de l'activité antioxydante et étude phytochimique de *Pistacia lentiscus* L. (anacardiées) de la région de Tlemcen.

Bouzenna H, Hfaiedh N et Ben Slima S. 2016. In vitro evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activities of *Pistacia lentiscus* leaf and fruit extracts. *J Med Food.*;19(6):572-577. doi:10.1089/jmf.2016.0010

Brahmi F, Haddad S, Bouamara K, Yalaoui-Guellal D, Prost-Camus E, Pais de Barros J.P, Prost M, Atanasov A.G, Madani K, Boulekbache-Makhlouf L, Lizard G. 2020. Comparison of chemical composition and biological activities of Algerian seed oils of *Pistacia lentiscus* L., *Opuntia ficus indica* (L.) mill. and *Argania spinosa* L. Skeels. *Industrial Crops and Products.*2020;(151):112456. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112456>.

Brian P. Frank, Georges Belfort, Polysaccharides and sticky membrane surfaces: critical ionic effects, *Journal of Membrane Science*, Volume 212, Issues 1–2, 2003, Pages 205-212, ISSN 0376-7388, [https://doi.org/10.1016/S0376-7388\(02\)00502-1](https://doi.org/10.1016/S0376-7388(02)00502-1).

Bruneton, J. 2009. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Paris: Tec et Doc Lavoisier.

BUREAU, L. 2015. Plantes médicinales et compléments alimentaires à base de plantes. *Phytothérapie*, vol. 13, no 5, p. 335-344.

BUREAU, Loïc. 2012. La phytothérapie pertinente. Altal Editions.

Burger, C., Fischer, D.R., Cordenunzi, D.A., Batschauer, A.P.B., Filho, V.C. et Soares, A.R.S. 2005. Acute and subacute toxicity of the hydroalcoholic extract from *Wedelia paludosa* (Acmela brasiliensis) (Asteraceae) in mice. *Journal of Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 8: 370–373.

Bytzer P, Talley N, et al. 2002. GI symptoms in diabetes mellitus are associated with both poor glycemic control and diabetic complications. *Am J Gastroenterol* 2002;97:604-11.

C. Landman, E. Quévrain. 2016. Le microbiote intestinal : description, rôle et implication physiopathologique. *La Revue de Médecine Interne*. Volume 37, Issue 6. 2016, Pages 418-423. ISSN 0248-8663. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2015.12.012>.

Callegari DC, Correa JA, Pires OC, Braga RB, Gimbo AF et de Souza AA. 2015. [Hyperalgesic effect of subarachnoid administration of phentolamine in mice]. *Rev.*

Camara Aboubacar Kadiatou, Keita Tiranké et Tonguino Tamba Gabriel. 2023 Enquête ethnobotanique sur l'utilisation des plantes médicinales dans le traitement des affections bucco-dentaires dans la commune de Kindia en République de Guinée. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*. vol. 21, no 2, p. 107-115.

Can J Physiol Pharmacol. 2022. Adaptive immune cells associate with arteriovenous fistula maturation and failure. Aug 1;100(8):716-727. doi: 10.1139/cjpp-2021-0731. Epub 2022 Jun 7. Erratum in: *Can J Physiol Pharmacol*. 2023 Apr 1;101(4):215. PMID: 35671528.

Cazals N., Leotard S., Etienne C., 2019. Impact de l'antibiogramme ciblé dans le traitement des infections urinaires masculines à Entérobactéries. *Médecine et Maladies Infectieuses*. Volume 49, Issue 4, Supplement. Page S57. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2019.04.146>.

Cazanga V, Hernandez A, Morales B, Pelissier T, Constandil L. 2018. Antinociception induced by copper salt revisited: interaction with ketamine in formalin-induced intraplantar and orofacial pain in mice. *J Oral Facial Pain Headache.*;32(3):247-57

CHABENAT, Hervé et COUIC-MARINIER, Françoise. 2021. L'aromathérapie en infectiologie, un complément de l'antibiothérapie. *Actualités Pharmaceutiques*, vol. 60, no 606, p. 37-39.

Chabou Dina, Rechreche, Hocine et *al.* 2017. Toxicités hépatique et rénale induites par le CPF chez la souris et effets protecteurs de l'extrait brut méthanolique de la plante *Atractylis* sp. Thèse de doctorat. Université de jijel.

Chafiaâ Mehenni, Dina Atmani-Kilani, Stéphane Dumarçay, Dominique Perrin, Philippe Gérardin, Djebbar Atmani. 2016. Hepatoprotective and antidiabetic effects of *Pistacia lentiscus* leaf and fruit extracts. *Journal of Food and Drug Analysis*. Volume 24, Issue 3. 2016. Pages 653-669. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.03.002>.

Chandra, A., Jahangir, T., Kumar, D., Tomar, R. S., et Yadav, S. C. 2012. *Withania somnifera* root extract inhibits lipid peroxidation-induced hemolysis. *Journal of Medicinal Food*, 15(2), 187-195.

Charid I, Kessler M, Darb-Esfahani S, Zemojtel T, Abobaker S, Tyuarets S, Schrauwen S, Atmani-Kilani D, Benaida-Debbache N, Schäfer R, Castillo-Tong D.C, Atmani D, Cherbal F, Amant F, Sehouli J, Kulbe H, Braicu E.I. 2020. Pretreatment with methanolic extract of *Pistacia lentiscus* L. increases sensitivity to DNA damaging drugs in primary high-grade serous ovarian cancer cells. *European Journal of Integrative Medicine*. 2020:37, 101163. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2020.101163>.

Che C.T, George V, Ijinu T.P, Pushpangadan P, Andrae-Marobela K. 2017. Chapter 2 - Traditional Medicine. *Pharmacognosy*. Academic Press. 2017:15-30. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802104-0.00002-0>.

CHEBAT, A., SKALLI, S. et BENKIRANE, R. 2015. Évaluation de risques des événements indésirables liés à l'usage des plantes médicinales chez les enfants atteints de maladies hématologiques et cancéreuses. *Phytothérapie*, vol. 13, no 3, p. 176-184.

CHEBAT, A., SKALLI, S. et ERRIHANI, H. 2014. Étude de prévalence des effets indésirables liés à l'utilisation des plantes médicinales par les patients de l'Institut National d'Oncologie, Rabat. *Phytothérapie*, , vol. 12, no 1, p. 25-32.

Cherbal A, Kebieche M, Madani K, ElAdawi H. 2012. Extraction and valorisation of phenolic compounds of leaves of Algerian *Pistacia lentiscus*. *Asian Journal of Plant Sciences*. 2012;11:131-136.

Cherbal A, Kebieche M, Yilmaz E.M, Aydoğmuş Z, Benzaouia L, Benguessoum M, Benkendidah M, Madani K. 2014. Antidiabetic and hypolipidemic activities of Algerian *Pistachia lentiscus* L. leaves extract in alloxan-induced diabetic rats. *South African Journal of Botany*. 2017;(108):157-162. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.10.024>.

Cherbal, A., et al. 2012. Étude de la composition chimique et des propriétés antioxydantes des extraits de *Cistus creticus* L.

Cheurfa, M. 2015. Caractérisation phytochimique et activité antioxydante de l'extrait de *Pistacia lentiscus* L. (anacardiaceés).

Cheurfa, M. 2015. Composition chimique et activités antioxydantes, antibactériennes et antiprolifératives des huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales algériennes. Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid.

Chevalier N. et Fénelon P. 2017. Perturbateurs endocriniens : responsabilités dans l'obésité et le diabète de type 2 Endocrine disruptors : A missing link in the pandemy of type 2 diabetes and obesity?. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 11(4), 341-346.

Cho D.H, H.J. Chae, E.Y. Kim. 2001. Synthesis and characterization of a novel extracellular polysaccharide by *Rhodotorula glutinis*. *Appl Biochem Biotechnol*, 95 (2001), pp. 183-193, 10.1385/abab:95:3:183

Claude Knauf. 2022. Implication du microbiote dans le dialogue entre intestin et cerveau dans le diabète de type 2. *Médecine des Maladies Métaboliques*. Volume 16, Issue 2. 2022. Pages 141-147. ISSN 1957-2557. <https://doi.org/10.1016/j.mmm.2022.01.007>.

Cosmeticobs, 2023. <https://cosmeticobs.com/fr/articles/zoom-nouveautes-33/le-pistachier-lentisque-4155>.

Costa-Silva, J.H., Lima, C.R., Silva, E.J.R., Araujo, A.V., Fraga, M.C.C.A., Ribeiro, A., Arruda, A.C., Lafayette, S.S.L et Wanderley, A.G. 2008. Acute and subacute toxicity of the carapa guianensis Aublet (Meliceae) seed oil. *Journal of Ethnopharmacology*, 116: 495-500.

D. C. Savage. 1977. MICROBIAL ECOLOGY OF THE GASTROINTESTINAL TRACT. *Annual Review of Microbiology*.P107-133.V 31(1).[Doi: 10.1146/annurev.mi.31.100177.000543](https://doi.org/10.1146/annurev.mi.31.100177.000543).PMID - 334036.

David H. Bergey, John G. Holt, Noel R. Krieg et Peter H.A. Sneath. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore/Philadelphia/Hong Kong etc., Lippincott Williams and Wilkins, 9th ed, 787p. (ISBN 0-683-00603-7).

Davide Campoccia, Lucio Montanaro, Carla Renata Arciola. 2006. The significance of infection related to orthopedic devices and issues of antibiotic resistance, *Biomaterials*, Volume 27, Issue 11, 2006, Pages 2331-2339, ISSN 0142-9612, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.11.044>.

Davis, M. E. & Bredt, N. D. 1994. Renal methods for toxicity, in Hayes AWC (ed) *Principles and Methods of Toxicology*, 3rd ed Raven Press, New York, NY, USA., 871 p.

De Kort S, Keszthelyi D, Masclee AM. 2011. Leaky gut and diabetes mellitus: what is the link? *Obes Rev* 2011;12:449-58.

DELARUE, Laëtitia. 2020. La gemmothérapie au service des troubles de la femme. Thèse de doctorat. Université de Lorraine.

Delazar A, Reid RG, Sarker SD. 2004. GC-MS analysis of the essential oil from the oleoresin of *Pistacia atlantica* var. *Mutica*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2004;40(1):24-27.

Dellai A, Souissi H, Borgi W, Bouraoui A, Chouchane N. 2013. Antiinflammatory and antiulcerogenic activities of *Pistacia lentiscus* L. leaves extracts. *Industrial Crops and Products*.2013;(49):879-882. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.010>.

Dieng Serigne IM, Fall Alioune D, Diatta-Badji K, Sarr A, Sene Ma, Sene Mo, Mbaye A, Diatta W, Bassene E. 2017. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 2017;11(2):768-776.

Djabou A B. 2013. Etude photochimique et activite antimicrobienne, antioxydant, anti hepatotoxique du marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. these : Doctorant : Universite Badji Mokhtar, Annaba

DJAMA, Sara et KAROUR 2020, Tinhinane. Les alcaloïdes: classification, extraction, criblage et activités biologiques. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri.

Djamila Belhachata, Fatiha Aidb. 2017. Lakhdar Mekimenea and Messaouda Belhachata, Phytochemical screening and in vitro antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* berries ethanolic extract growing in Algeria, *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism* 10 273–285 DOI:10.3233/MNM-17169.

DJEDAIA, Mr Salah. 2017. Etude physico-chimique et caractérisation du fruit de la plante lentisque (*Pistacia Lentiscus* L.). UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR-ANNABA,

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.

Duntas LH, Alexandraki KI. 2022. On the Centennial of Vitamin D-Vitamin D, Inflammation, and Autoimmune Thyroiditis: A Web of Links and Implications. *Nutrients*. Nov 26;14(23):5032. doi: 10.3390/nu14235032. PMID: 36501065; PMCID: PMC9736919.

Dwyer DF, Barrett NA, Austen KF. 2016. Immunological Genome Project Consortium. Expression profiling of constitutive mast cells reveals a unique identity within the immune system. *Nat Immunol*. Jul;17(7):878-87. doi: 10.1038/ni.3445. Epub 2016 May 2. PMID: 27135604; PMCID: PMC5045264.

E.A. Gonzalez, J. Blanco, S.B. Baloda, T. Wadström. 1988. Relative cell surface hydrophobicity of *Escherichia coli* strains with various recognized fimbrial antigens and without recognized fimbriae. *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. Series A: Medical Microbiology, Infectious*

Diseases, Virology, Parasitology. Volume 269, Issue 2. 1988. Pages 218-236. [https://doi.org/10.1016/S0176-6724\(88\)80100-7](https://doi.org/10.1016/S0176-6724(88)80100-7)

Eberhart M. S., Ogden C, Engelgau M, Cadwell B, Hedley A. A., Saydah S. H. 2004. « Prevalence of Overweight and Obesity Among Adults with Diagnosed Diabetes - United States, 1988-1994 and 1999-2002 », Morbidity and Mortality Weekly Report, vol. 53, n° 45, novembre 2004, p. 1066-8 (PMID 15549021)

El Atki Y, Aouam I, El Kamari F, Taroq A, Lyoussi B, Taleb M, Abdellaoui A. 2019. Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activities of extracts from *Teucrium polium* growing wild in Morocco. 2019;13(3):777-783. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.04.040>.

Elloumi W, Mahmoudi A, Ortiz S, Boutefnouchet S, Chamkha M, Sayadi S. 2022. Wound healing potential of quercetin-3-O-rhamnoside and myricetin-3-O-rhamnoside isolated from *Pistacia lentiscus* distilled leaves in rats model. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2022;(146): 112574. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112574>.

El-Salhy M, Rauma J. 2009. Low density of ghrelin cells in the oxyntic mucosa correlated to slow gastric emptying in patients with type 1 diabetes. Mol Med Rep ; 2:893-6.

El-Salhy M. 2002. The possible role of the gut neuroendocrine system in diabetes gastroenteropathy. Histol Histopathol ; 17:1153-61.

ENTRED. 2019. Together, let's help improve the health and quality of life of people with diabetes. National Representative Sample of People with Diabetes. French public health.

Fabri RL, Nogueira MS, Braga FG, Coimbra ES, Scio E. 2009. *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial, and antioxidant effects. Bioresource Technol. 2009;100:428-433.

Fahmi, A., Yokus, M. A., Guvenc, I., and Sevimay, C. S. 2013. Effects of environmental conditions on tannin contents of some oak species. Environmental Monitoring and Assessment, 185(6), 4661-4669.

Fátima L. Mota, António J. Queimada, Simão P. Pinho and Eugénia A. Macedo. 2008 Ind. Eng. Chem. Res. 2008, 47, 15, 5182-5189, Publication Date: May 14, 2008 <https://doi.org/10.1021/ie071452o>

Fellah H, Ksouri R, Chaeib K, Karry-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M, Abdellu C. 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organ and their biological activities. Compt. Rend. Biol. 2008;(331):372-379.

Fellah, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., et Abdelly, C. 2008. phenolic composition of cyanara cardunculus L. organes, and their biological activities. Comptes rendu biologies, .331(5),372-379

Fernandes, DECKING, W., ABEGHYAN, S. et ABRAMIAN, P. 2020. MHz-repetition-rate hard X-ray free-electron laser driven by a superconducting linear accelerator. Nature photonics, vol. 14, no 6, p. 391-397.

Fernando SM, Ferreyro BL, Urner M, Munshi L, Fan E. 2021. Diagnostic et traitement du syndrome de détresse respiratoire aiguë. CMAJ. 2021 Jun 21;193(25):E978-E986. French. [doi: 10.1503/cmaj.202661-f](https://doi.org/10.1503/cmaj.202661-f). PMID: 34155054; PMCID: PMC8248466

Ferradji A. 2011. Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*. Mémoire Présenté Pour l'obtention du Diplôme de Magister en Biochimie. Option : Biochimie appliquée. Université Ferhat Abbas de Setif.

Fine Frederic, Vian Maryline Abert et Tixier Anne-Sylvie Fabiano. 2013. Les agro-solvants pour l'extraction des huiles végétales issues de graines oléagineuses. OCL, , vol. 20, no 5, p. A502.

Florence Brian-Jaisson, Annick Ortalo-Magné, Linda Guentas-Dombrowsky, Fabrice Armougom, Yves Blache, Maëlle Molmeret. 2013 Identification of bacterial strains isolated from Mediterranean Sea exhibiting different abilities of biofilm formation. Microbial Ecology. DOI : [10.1007/s00248-013-0342-9](https://doi.org/10.1007/s00248-013-0342-9).

- François Paul, André Morin, Pierre Monsan. 1986. Microbial polysaccharides with actual potential industrial applications, *Biotechnology Advances*, Volume 4, Issue 2, 1986, Pages 245-259, [https://doi.org/10.1016/0734-9750\(86\)90311-3](https://doi.org/10.1016/0734-9750(86)90311-3).
- Frédéric Leroy and Luc De Vuyst. 2016. Advances in production and simplified methods for recovery and quantification of exopolysaccharides for applications in food and health. *Journal of Dairy Science*. Volume 99, Issue 4. 2016. Pages 3229-3238. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9936>.
- Freeman, D.J., Falkiner, F.R., Keane, C.T. 1989. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J Clin Pathol* 42:872-4.
- Frokjaer JB, Andersen SD, et al. 2007. Gut sensations in diabetic autonomic neuropathy. *Pain* 2007;131:320-9.
- FSM. 2019. French Society of Microbiology. Antibigram Committee of the French Society of Microbiology Recommendations 2019 V.2.0 May.
- Gandhi NA, Bennett BL, Graham NM, Pirozzi G, Stahl N, Yancopoulos GD. 2016. Targeting key proximal drivers of type 2 inflammation in disease. *Nat Rev Drug Discov*. 2016 Jan;15(1):35-50. doi: [10.1038/nrd4624](https://doi.org/10.1038/nrd4624). Epub 2015 Oct 16. PMID: 26471366.
- Garcia MD, Fernandez MA, Alvarez A, Saenz MT. 2004. Anti-nociceptive and antiinflammatory effect of the aqueous extract from leaves of *Pimenta racemosa* var. *Ozua* (Myrtaceae). *J. Ethnopharmacol.*, 91(1): 69-73.
- Gardeli C, Vassiliki P, Athanasios M, Kibouris M, Komaitis M. 2008. Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food chemistry*. 2008;107(3):1120-1130.
- Gaubert C. (2018). Image inflammation, lien https://www.sciencesetavenir.fr/sante/systeme-sanguin/inflammation-definition-causes-traitements_120001
- Genwali G, Acharya P, Rajbhandari M. 2013. Isolation of gallic acid and estimation of total phenolic content in some medicinal plants and their antioxidant activity. *Nepl Journal of Science and Technology*. 2013;14(1):95-102.
- Georgé S, Brat P, Alter P, Amiot MJ. 2005. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005;53(5):1370-1373. Doi :[10.1021/jf048396b](https://doi.org/10.1021/jf048396b).
- George, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, M. J. et Reynes, M. 2015. Phenolic compounds and antioxidant activities of white and pink cultivars of *Rhododendron* (Ericaceae) flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(30), 6899-6908.
- George. 2005. *precis de matiere medicinale (Tom3)*. Paris:Masson et cie.
- Ghariani I, Jmili Braham N, Bekir L. 2022. Syndrome de Willebrand acquis : une pathologie rare au diagnostic difficile. *Ann Biol Clin (Paris)*. Mar 1;80(2):119-124. French. doi: [10.1684/abc.2022.1722](https://doi.org/10.1684/abc.2022.1722). PMID: 35766074.
- Gilligan JP, Lovato SJ, Erion MD, Jeng AY. 2022. Modulation of carrageenan-induced hind paw edema by substance P. *Inflammation* 1994, 18(3): 285-292.
- Golubovskaya V, Wu L. 2016. Different Subsets of T Cells, Memory, Effector Functions, and CAR-T Immunotherapy. *Cancers (Basel)*. ;8(3):36. doi:[10.3390/cancers8030036](https://doi.org/10.3390/cancers8030036)
- Gome, A.M.B., Kouakou, K., Toure, A., & Traore, F. 2011. Étude de la toxicité aiguë et subchronique de l'extrait aqueux de *Passiflora foetida* Linn. (Passifloraceae) chez les rats et les souris. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(5): 1777-1789.
- Gonsalves NP, Aceves SS. 2020. Diagnosis and treatment of eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol*. Jan;145(1):1-7. doi: [10.1016/j.jaci.2019.11.011](https://doi.org/10.1016/j.jaci.2019.11.011). PMID: 31910983; PMCID: PMC6986782.
- Govindarajan R, Rastogi S, Vijayakumar M, Shirwaikar A, Rawat AKS, Mehrotra S. 2003. Studies on the antioxidant activities of *Desmodium gangeticum*. *Biol Pharm Bull*. 2003;26:1424-1427.

- Gowda, S., Desai, P. B., Hull, V. V., Math, A. A., Vernekar, S. N., & Kulkarni, S. S. 2010. A review on laboratory liver function tests. *Pan African Medical Journal* , 7(1).
- Gregg, L.V. et Voigt. 2000. *D.V.M..Hematology techniques and concepts for veterinary technicians*.USA: Iowa State University Press p 95-101.
- Grigorova D, K. Pavlova, I. Panchev. 1999. Preparation and preliminary characterization of exopolysaccharides by yeast *Rhodotorula acheniorum* MC. *Appl Biochem Biotechnol*, 81 (1999), pp. 181-191, 10.1385/abab:81:3:181
- Guerrero G, Amalric J, Mutin P.H, A. Sotto, J.-P. Lavigne. 2008. Inhibition de l'adhésion bactérienne et prévention de la formation d'un biofilm : utilisation de monocouches autoassemblées organiques sur des surfaces inorganiques, *Pathologie Biologie*, Volume 57, Issue 1, 2009, Pages 36-43, ISSN 0369-8114, <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2008.07.032>.
- Guillaume Fond. 2018. Le microbiote intestinal gouverne-t-il notre cerveau ?. *Annales Médico-psychologiques, revue psychiatrique*. Volume 176, Issue 8. 2018. Pages 824-830. ISSN 0003-4487. <https://doi.org/10.1016/j.amp.2018.08.017>.
- Guimarães, A.C.; Meireles, L.M.; Lemos, M.F.; Guimarães, M.C.C.; Endringer, D.C.; Fronza, M.; Scherer, R. 2019. Antibacterial Activity of Terpenes and Terpenoids Present in Essential Oils. *Molecules* 2019, 24, 2471. <https://doi.org/10.3390/molecules24132471>.
- Guo-Xiang L et Zai-qun L. 2007. The protective effects of ginsenosides on human erythrocytes agiants hemin-induced hemolysis. *Food and chemical Toxicology* 46:886-892.
- Gupta G, Hersh EV. 2021 Theken KN. Diclofenac: a review for dentists. *Gen Dent*. May-Jun;69(3):15-19. PMID: 33908871.
- Habimana O, Meyrand M, Meylheuc T, Kulakauskas S et Briandet R. 2009. Genetic Features of Resident Biofilms Determine Attachment of *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*. 75 (24): 7814–7821.
- Hamad, I., Delattre, C., Le Calvez, T., Dufour, A., & Niquet-Léridon, C. 2011. Changes in antioxidant activities and phenolic acid concentrations in apple after in vitro gastrointestinal digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(18), 9852-9861.
- Hammoutene A, Rautou PE. 2020. Rôle de l'autophagie des cellules endothéliales sinusoidales du foie dans la stéatohépatite non alcoolique [Role of autophagy in liver sinusoidal endothelial cells in nonalcoholic steatohepatitis]. *Med Sci (Paris)*. 2020 Aug-Sep;36(8-9):700-702. French.doi: 10.1051/medsci/2020140. Epub 2020 Aug 21. PMID: 32821043.
- Hanne L.P. Tytgat, Franklin L. Nobrega, John van der Oost, Willem M. de Vos. 2019. Bowel Biofilms: Tipping Points between a Healthy and Compromised Gut?. *Trends in Microbiology*. Volume 27, Issue 1. 2019. Pages 17-25. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.08.009>.
- Hao Wu, Valentina Tremaroli, Caroline Schmidt, Annika Lundqvist, Lisa M. Olsson, Manuela Krämer, Anders Gummesson, Rosie Perkins, Göran Bergström, Fredrik Bäckhed. 2020. The Gut Microbiota in Prediabetes and Diabetes: A Population-Based Cross-Sectional Study. *Cell Metabolism*. Volume 32, Issue 3. 2020. Pages 379-390.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.06.011>.
- Harimawan, A. et Ting, Y.P. 2016. Investigation of extracellular polymeric substances (EPS) properties of *P. aeruginosa* and *B. subtilis* and their role in bacterial adhesion. *Colloid Surface Biointer*, 146, 459–467. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.06.039>.
- HARRAR, Abdelnacer. 2018. Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de doctorat.
- Harsh Panwar, Hogarehalli Mallappa Rashmi, Virender Kumar Batish, Sunita Grover. 2012. Probiotics as potential biotherapeutics in the management of type 2 diabetes - prospects and perspectives. *Diabetes/Metabolism Reseach and Reviews*. <https://doi.org/10.1002/dmrr.2376>.
- Hemma R, Belhadj S, Ouahchia C, Saidi Fairouz. 2018. Antioxidant activity of *Pestacia lentiscus* extrait. *Revue Agrobiologia*. 2018;8(1):845-852.

Holdeman LV, Good IJ, Moore WE. 1976. Human fecal flora: variation in bacterial composition within individuals and a possible effect of emotional stress. *Appl Environ Microbiol.* 1976 Mar;31(3):359-75. doi: [10.1128/aem.31.3.359-375.1976](https://doi.org/10.1128/aem.31.3.359-375.1976). PMID: 938032; PMCID: PMC169780.

Hutchings M, Morschhauser F, Iacoboni G, Carlo-Stella C, Offner FC, Sureda A, Salles G, Martínez-Lopez J, Crump M, Thomas DN, Morcos PN, Ferlini C, Bröske AE, Belousov A, Bacac M, Dimier N, Carlile DJ, Lundberg L, Perez-Callejo D, Umaña P, Moore T, Weisser M, Dickinson MJ. 2021. Bivalent CD20-Targeting T-Cell-Engaging Bispecific Antibody, Induces Durable Complete Remissions in Relapsed or Refractory B-Cell Lymphoma: A Phase I Trial. *J Clin Oncol.* 2021 Jun 20;39(18):1959-1970. doi: [10.1200/JCO.20.03175](https://doi.org/10.1200/JCO.20.03175). Epub 2021 Mar 19. PMID: 33739857; PMCID: PMC8210975.

IDF, 2021. International Diabetes Federation, IDF Diabetes atlas, 10th ed., <https://diabetesatlas.org/>.

J. Qin, Y. Li, Z. Cai, S. Li, J. Zhu, F. Zhang, S. Liang, W. Zhang, Y. Guan, D. Shen, Y. Peng, D. Zhang, Z. Jie, W. Wu, Y. Qin, W. Xue, J. Li, L. Han, D. Lu, P. Wu, Y. Dai, X. Sun, Z. Li, A. Tang, S. Zhong, X. Li, W. Chen, R. Xu, M. Wang, Q. Feng, M. Gong, J. Yu, Y. Zhang, M. Zhang, T. Hansen, G. Sanchez, J. Raes, G. Falony, S. Okuda, M. Almeida, E. LeChatelier, P. Renault, N. Pons, J.M. Batto, Z. Zhang, H. Chen, R. Yang, W. Zheng, S. Li, H. Yang, J. Wang, S.D. Ehrlich, R. Nielsen, O. Pedersen, K. Kristiansen, J. Wang. 2012. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*, 490 (7418) (2012), pp. 55-60.

Jahanban-Esfahlan A, Modaeinama S, Abasi M, Abbasi MM. 2017. Pistacia lentiscus extract attenuates mechanical hyperalgesia in a rat model of neuropathic pain: involvement of the opioid system. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 7(6), 521-529. PMID: 29184685.

James, O., et I, M, Alewo. 2014. In vitro antihemolytic activity of gymnema sylvestre extracts against hydrogen peroxide (H2O2) induced haemolysis in human erythrocytes. *Am J.Phytomed.Clin.Ther* 2: 861-869.

Jean-Marc Delroisse, Anne-Lise Boulvin, Isabelle Parmentier, Robin Dubois Dauphin, Micheline Vandenberg, Daniel Portetelle. 2008. Quantification of Bifidobacterium spp. and Lactobacillus spp. in rat fecal samples by real-time PCR. *Microbiological Research*. Volume 163, Issue 6. 2008. Pages 663-670. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.09.004>.

Joël Doré, Marie-Christine Multon, Jehan-Michel Béhier, Hervé Affagard, Antoine Andremont, Philippe Barthélémy, Rui Batista, Marc Bonneville, Christophe Bonny, Gwendoline Boyaval, Mathias Chamaillard, Marie-Pierre Chevalier, Magali Cordaillat-Simmons, Fabienne Cournarie, Isabelle Diaz, Elisabeth Guillaume, Cyril Guyard, Evelyne Jouvin-Marche, François-Pierre Martin, David Petiteau. 2017. Microbiote intestinal : qu'en attendre au plan physiologique et thérapeutique ?. *Thérapies*. Volume 72, Issue 1. 2017. Pages 1-19. ISSN 0040-5957. <https://doi.org/10.1016/j.therap.2017.01.001>.

Jorite S. (2015). La phytothérapie, une discipline entre passé et futur : de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel. *Sciences pharmaceutiques*. ffdumas-01188820f

Judith Aron-Wisniewsky, Camille Lefevre, Laure B. Bindels. 2022. Interactions entre les traitements du diabète et le microbiote intestinal : état des connaissances et perspectives. *Médecine des Maladies Métaboliques*. Volume 16, Issue 2. 2022. Pages 148-159. ISSN 1957-2557. <https://doi.org/10.1016/j.mmm.2022.01.004>.

Julkunen-Titto R. 1985. *Phenolic constituents in the leaves of northern willows methods for the analysis of certain phenolics*. *Journal of Agricultural and Food chemistry*. 1985;33(2):213-217. DOI: [10.1021/jf00062a013](https://doi.org/10.1021/jf00062a013).

Julkunen-Titto, R. 1958. Phenolic constituents in the leaves of northern willows methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agriculture and Food chemistry* (1958), Vol.(33), page:213-217.

Jung-Su Lee, Young-Min Bae, Areum Han, Sun-Young Lee. 2016. Development of Congo red broth method for the detection of biofilm-forming or slime-producing Staphylococcus sp., LWT. Volume 73. 2016. Pages 707-714. ISSN 0023-6438. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.023>.

Jutta Cerning. 1990. Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria, EMS *Microbiology Letters*, Volume 87, Issues 1-2, 1990, Pages 113-130. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(90\)90701-Q](https://doi.org/10.1016/0378-1097(90)90701-Q).

- Kabahoum Marwa et LadjalLoubna. 2021. Etat de la recherche scientifique sur les plantes médicinales et la phytothérapie en Algérie. Thèse de doctorat. UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA.
- Kar.B SKR, Karmakar. I Dola.N, K Mazumder.U, K Hadar.P. 2012. Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of Mimusoops leaves. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine:5
- Karasawa MMG, Mohan C. 2018. Fruits as prospective reserves of bioactive compounds: a review. Nat Prod Bioprospect.;8(5):335-46.
- Kenoufi Meriem. 2018. Caractérisation histologique, caryologique, phytochimique et activités biologiques de Senecio giganteus Desf et S. jacobaea L. Thèse de doctorat.
- KERMEZLI, Mohamed, SEDGA, Abdelmalek, et BOUZIDI, Amel. 2020. Contribution à l'étude chimique et alléopathique des espèces Pistacia atlantica Desf. et Pistacia lentiscus L. . Thèse de doctorat.
- Khalil, E.S., Manap, M.Y., Mustafa, S., Amid, M., Alhelli, A.M., & Aljoubori, A. 2018. Probiotic characteristics of exopolysaccharides producing Lactobacillus isolated from some traditional Malaysian fermented foods. CyTA Journal of Food, 16(1), 287–298. <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2017.1401007>.
- Khan, R., Zakir, M., Khanam, Z., Shakil, S., Khan, A.U. 2011. J. Appl. Microbiol. 109 (6), 2151-2159.
- Khelif N., Naam N. 2020. Etude de l'effet des modes de sechage sur le dosage biochimique de quelques plantes spontanées médicinales. Mémoires de master Université Kasdi Merbah Ouargla.
- KHELILI, Khedidja, ZERIZEF, Hadjer. 2020. et GUEDOUA, Zohra. Etude de l'activité biologique de l'extrait de Pistacia lentiscus.
- Kim, H. P., Son, K. H., Chang, H. W., et Kang, S. S. 2004. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. Journal of Pharmacological Sciences, 96(3), 229-245.
- Kiso T, Moriyama A, Furutani M, Matsuda R. et Funatsu Y. 2018. Effects of pregabalin and duloxetine on neurotransmitters in the dorsal horn of the spinal cord in a rat model of fibromyalgia. Eur J Pharmacol.;827:117-24.
- Klaassen, C. D., Casarett, L.J. et Doull, J. 2001. Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, McGraw-Hill Press, New York, NY, USA, 1236 p.
- Koerdt A, Gödeke J, Berger J, Thormann KM, Albers SV. 2010. Crenarchaeal biofilm formation under extreme conditions. PLoS One. 2010. Nov 24;5(11):e14104. [doi: 10.1371/journal.pone.0014104](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014104). PMID: 21124788; PMCID: PMC2991349.
- Kong J, Tian H, Zhang F, Zhang Z, Li J, Liu X, Li X, Liu J, Li X, Jin D, Yang X, Sun B, Guo T, Luo Y, Lu Y, Lin B, Liu T. 2019. Extracellular vesicles of carcinoma-associated fibroblasts creates a pre-metastatic niche in the lung through activating fibroblasts. Mol Cancer. 2019 Dec 3;18(1):175. [doi: 10.1186/s12943-019-1101-4](https://doi.org/10.1186/s12943-019-1101-4). PMID: 31796058; PMCID: PMC6892147.
- Konnova, S.A. Brykova, O.S. Sachkova, O.A. Egorenkova, I.V. Ignatov, V.V. 2001. Protective role of the polysaccharide containing capsular components of Azospirillum brasilense. Microbiology, (Moscow, Russ. Ed.), 70, 436–440. <http://dx.doi.org/10.1023/a:1010434227671>.
- Kordali S, Cakir A, Zengin H, Duru ME. 2003. Antifungal Activities of the leaves of three Pistacia species grown in Turkey. Fitoterapia. 2003;74(1):164-167.
- Krache I, Boussoualim N, Ouhida S, Amraoui N, Baghiani A, Arrar L. 2017. Acute and Chronic Effects of Methanolic Extract of Teucrium pollium on blood parameters and Histopathology of liver and Kidney in Female Rats. Asian Journal of research in medical and Pharmaceutical Sciences, (3): 1-11.
- Krishnan B, Babu S, Walker J, et al. 2013. Gastrointestinal complications of diabetes mellitus. World J Diabetes ; 15:51-63.
- Kwasny SM, Opperman TJ. 2010. Static biofilm cultures of Gram-positive pathogens grown in a microtiter format used for anti-biofilm drug discovery. Curr Protoc Pharmacol. 2010 Sep;Chapter 13:Unit 13A.8. [doi:10.1002/0471141755.ph13a08s50](https://doi.org/10.1002/0471141755.ph13a08s50).
- L. González Arias, D. Fernández, N. Sacristán, R. Arenas, J.M. Fresno, E. Tornadijo. 2013. Enzymatic activity, surface hydrophobicity and biogenic amines production in lactic acid bacteria isolated

from an artisanal Spanish cheese. Academic Journals.Vol.7(19), pp. 2114-2118, May 2013. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.2288>.

L.Joseph Kiely, Norman F Olson. 2000. The physicochemical surface characteristics of *Lactobacillus casei*. Food Microbiology. Volume 17, Issue 3. 2000. Pages 277-291. <https://doi.org/10.1006/fmic.1999.0311>.

Lafargue MC, Aubert S, Rabemiarason N, Vilaine È, Ebel A, Dargelos M, Couturier A, Massy Z, Essig M. 2021. Prise en charge de la nécrose tubulaire aiguë en 2020 [Therapeutics for acute tubular necrosis in 2020]. Nephrol Ther. 2021 Apr;17(2):92-100. French. doi: 10.1016/j.nephro.2020.11.002. Epub 2021 Jan 19. PMID: 33483244.

Lagha S. 2006. Effet des extraits de plantes (*Pistacia lentiscus L.* et *Olea europaea Olea europaea sativa*) et d'un co-produit (grignon d'olive) sur la croissance de *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum* sur *Solanum tuberosum L.* 2006. <http://univ-bejaia.dz/dspace/123456789/10437>

Landau S, Azaizeh H, Muklada H, Glasser T, Ungar ED, Baram H, Abbas N, Marckovics A. 2010. Veterinary parasitology. 2010;173(3-4):280-286.

Larsen, N., Vogensen, F.K., Van den Berg, F.W.J., Nielsen, D.S., Andreasen, A.S., Pedersen, B.K. 2010. Gut Microbiota in Human Adults with Type 2 Diabetes Differs from Non-Diabetic Adults. PLoS ONE 5(2), e9085. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009085>.

Lei Yuan, Mads Frederik Hansen, Henriette Lyng Røder, Ni Wang, Mette Burmølle, Guoqing He. 2020. Mixed-species biofilms in the food industry: Current knowledge and novel control strategies, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 60 (13), 2277-2293, DOI: [10.1080/10408398.2019.1632790](https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1632790)

Leilei Du., Qi Li, Huan Yi, Tingting Kuang, Yi Tang, Gang Fan. 2022. Gut microbiota-derived metabolites as key actors in type 2 diabetes mellitus. Biomedicine & Pharmacotherapy. Volume 149. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112839>.

Leslie A Pratt, Roberto Kolter. 1999. Genetic analyses of bacterial biofilm formation. Current Opinion in Microbiology. Volume 2, Issue 6. 1999. Pages 598-603. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(99\)00028-4](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(99)00028-4).

Leuti A, Fazio D, Fava M, Piccoli A, Oddi S, Maccarrone M. 2020. Bioactive lipids, inflammation and chronic diseases. Adv Drug Deliv Rev. 2020;159:133-169. doi: 10.1016/j.addr.2020.06.028. Epub 2020 Jul 3. PMID: 32628989.

Levêque D., J. Lemachatti, Y. Nivoix, P. Coliat, R. Santucci, G. Ubeaud-Séquier, L. Beretz, S. Vinzio. 2010. Mécanismes des interactions médicamenteuses d'origine pharmacocinétique, La Revue de Médecine Interne, Volume 31, Issue 2, 2010, Pages 170-179, ISSN 0248-8663, <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2009.07.009>.

Liu, T., Zhang, L., Joo, D. et Sun, S. C. 2017. NF-κB signaling in inflammation. Signal Transduction and Targeted Therapy 2017, 2(1), 1-9.

Lizcano, L. J. 2010. Polyphenols and flavonoids: an overview." Handbook of antioxidants: oxidative stress and disease (2010): 319-341.

Longo, L., Vasapollo, G. et Sole, R. D. 2007. Hydroxytyrosol from tyrosol using a laccase bioelectrocatalytic reactor. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 44(1-2), 65-70.

Luka, J., Badau, S.J., Mbaya, A.W., Gadzama, J.J. & Kumshe, H.A. 2014. Acute toxicity study and effect of prolonged administration (28 days) of crude ethanolic root extract of *Diospyros mespiliformis* Hochst (Ebenaceae) on clinical, haematological and biochemical parameters of albino rats. Journal of Ethnopharmacology (2014).. 153 (1), 268–273.

Lullmann, H. . Pharmacologie et toxicologie. De Boeck Supérieur. 2008.

Magalhães FE, Batista FL, Serpa OF, Moura LF, Lima MD et da Silva AR. 2018. Orofacial antinociceptive effect of *Mimosa tenuiflora* (Willd.)Poir.et.Biomed Pharmacother. 2018;97:1575-85.

- Mahamat, Oumar & Tidjani, Abdelsalam & Savadogo, Aly & Mahamat, Abdelrahim & Somda, Marius & Traore, Alfred. 2013. ISOLEMENT ET CARACTERISATION DES BACTERIES PRODUCTRICES DES BIOFILMS ISSUES DES PRODUITS ALIMENTAIRES. Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale. 7. 187-210.
- Maity TK, Mandal SC, Mukherjee PK. 1998. Studies on anti-inflammatory effect of Cassia tora leaf extract (fam leguminosae). Phytother. Res. 1998, 12(3): 221223.
- Manish T, Rema S. 2006. Preliminary studies on *Stevia rebaudiana* leaves: Proximal composition, mineral analysis and phytochemical screening. Journal of Medical sciences. 2006;(6):321-326.
- Maurer, Éric. 2014. Etude du rôle des étapes initiales d'adhérence des plaquettes sanguines et du flux pulsatile dans l'agrégation plaquettaire.
- Maxia A, Sanna C, Frau MA, Piras A, Karchuli MS, Kasture V. 2011. Anti-inflammatory activity of *Pistacia lentiscus* essential oil: involvement of IL-6 and TNF-alpha. Natural product communications. 2011;6(10):1543-1544.
- McNicol ED, Ferguson MC, Schumann R. 2018. Single-dose intravenous diclofenac for acute postoperative pain in adults. Cochrane Database Syst Rev. 2018 Aug 28;8(8):CD012498. [doi: 10.1002/14651858.CD012498.pub2](https://doi.org/10.1002/14651858.CD012498.pub2). PMID: 30153336; PMCID: PMC6353087.
- Mebirouk-Boudechiche, L., Boudechiche, L. et Chemmam, M. 2015. Estimation de la biomasse foliaire fourragère de *Pistacia lentiscus* et *Calycotome spinosa*, arbustes des subéraies en Algérie. 2015.
- Mechqoq H, Hourfane S, El Yaagoubi M, El Hamdaoui A, Msanda F, Almeida J.R.G.dS, Rocha J.M and El Aouad N. 2022. Phytochemical Screening, and In Vitro Evaluation of the Antioxidant and Dermocosmetic Activities of Four Moroccan Plants: *Halimium antiatlanticum*, *Adenocarpus artemisiifolius*, *Pistacia lentiscus* and *Leonotis nepetifolia*. *Cosmetics* 2022.9:(5)94. <https://doi.org/10.3390/cosmetics9050094>.
- MEDDOUR, Rachid, SAHAR, Ouahiba, et BABKAR, Amina. 2022. Savoirs locaux sur les plantes spontanées chez les populations de la wilaya de Tamanrasset (Sahara Central, Algérie). *VertigO*, 2022, vol. 22, no 1, p. 1-30.
- Mehenni C, Atmani-Kilani D, Dumarçay S, Perrin D, Gérardin P, Atmani D. 2016. Hepatoprotective and antidiabetic effects of *Pistacia lentiscus* leaf and fruit extracts. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2016;(24)3:653-669. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.03.002>.
- Meixian Tang, Chen Chen, Jieru Zhu, Harry R. Allcock, Christopher A. Siedlecki, Li-Chong Xu. 2021. Inhibition of bacterial adhesion and biofilm formation by a textured fluorinated alkoxyphosphazene surface. *Bioactive Materials*. Volume 6, Issue 2, 2021, Pages 447-459, doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.08.027.
- M'hiri, N. 2015. Extraction et caractérisation des composés phénoliques et flavonoïdiques de la plante *Marubium vulgare L.*
- Michel Duru. 2022. Microbiote intestinal et santé : une nécessaire refonte de notre système agro-alimentaire. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. Volume 57. Issue 1. 2022. Pages 18-27. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2021.10.006>.
- Mikhliid H. Almutairi, Mohamed M.I. Helal. 2021. Exopolysaccharide production from isolated *Enterobacter* sp. strain ACD2 from the northwest of Saudi Arabia. *Journal of King Saud University - Science*. Volume 33, Issue 2. 2021. 101318. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.101318>.
- Miranda J.J.M. 2021. Chapter 7 - Medicinal plants and their traditional uses in different locations. *Phytomedicine*. Academic Press. 2021:207-223. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824109-7.00014-5>.
- Missoun F, Bouabedelli F, Benhamimed E, Baghdad A, and Djebli N. 2017. Phytochemical study and antibacterial activity of different extracts of *Pistacia lentiscus L.* collected from Dahra region west of Algeria. *J Fundam Appl Sci*. 2017;9(2): 669-684. doi: <http://dx.doi.org/10.4314/jfas.v9i2.4>.
- Mohammedi, Z. 2013. Activité antimicrobienne de la *Pistacia lentiscus L.* Thèse de doctorat, Université d'Oran, Algérie.

Moreira Joana, Gomes Luciana, Whitehead Kathryn, Lynch Stephen, Tetlow Louise, Mergulhão Filipe. 2017. Effect of surface conditioning with cellular extracts on *Escherichia coli* adhesion and initial biofilm formation. *Food and Bioproducts Processing*.104. 10.1016/j.fbp.2017.03.008.

Morin L, Savale L, Pham T, Colle R, Figueiredo S, Harrois A, Gasnier M, Lecoq AL, Meyrignac O, Noel N, Baudry E, Bellin MF, Beurnier A, Choucha W, Corruble E, Dortet L, Hardy-Leger I, Radiguer F, Sportouch S, Verny C, Wyplosz B, Zaidan M, Becquemont L, Montani D, Monnet X. 2021. Four-Month Clinical Status of a Cohort of Patients After Hospitalization for COVID-19. *JAMA*. 2021. Apr 20;325(15):1525-1534. doi: [10.1001/jama.2021.3331](https://doi.org/10.1001/jama.2021.3331). Erratum in: *JAMA*. 2021 Nov 9;326(18):1874. PMID: 33729425; PMCID: PMC7970386.

Muhammad Tanweer Khan, Max Nieuwdorp, Fredrik Bäckhed. 2014. Microbial Modulation of Insulin Sensitivity. *Cell Metabolism*. 20 (5), 753-760. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.07.006>.

Mukinda, J. T., & Syce, J. A. 2007. Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* (2007), 112(1), 138-144.

Murray M.T, Nowicki J.2020. 207 - Peptic Ulcer—Duodenal and Gastric. *Textbook of Natural Medicine (Fifth Edition)*. Churchill Livingstone. 2020;(e2):1683-1688. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-43044-9.00207-7>.

N. Mozes, P.G. Rouxhet. 1987. Methods for measuring hydrophobicity of microorganisms. *Journal of Microbiological Methods*. Volume 6, Issue 2. 1987. Pages 99-112. [https://doi.org/10.1016/0167-7012\(87\)90058-3](https://doi.org/10.1016/0167-7012(87)90058-3).

Namoune, Hacène et Bensalem, Ghada. 2017. L'huile de lentisque (*Pistacia Lentiscus L.*) dans l'est Algerien. 2017.

Naouar M.S, Zouiten Mekki L, Charfi L, Boubaker J, Filali A. 2016. Preventive and curative effect of *Pistacia lentiscus* oil in experimental colitis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*.2016;(83):577-583. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.07.021>.

Navneet Kaur, Priyankar Dey. 2023. Bacterial exopolysaccharides as emerging bioactive macromolecules: from fundamentals to applications, *Research in Microbiology*, Volume 174, Issue 4, 2023, 104024, ISSN 0923-2508, <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2022.104024>.

Negi, P. S. et Kumar, M. 2007. Tannins : Biosynthesis, classification and ecological roles. *Frontiers in plant science* 2017, 8, 1977.

Nella Lerš, Igor Stojiljković, čeljko Trgovčević, Smilja Kalenić, Erika Salaj-mic. 1990. Determination of Plasmid-associated Hydrophobicity of *Yersinia enterocolitica* by the Salting-out Test. *Zentralblatt für Bakteriologie*. Volume 273, Issue 3. 1990. Pages 313-318. [https://doi.org/10.1016/S0934-8840\(11\)80434-2](https://doi.org/10.1016/S0934-8840(11)80434-2).

Nesreen Aljahdali. 2022. The contribution of gastrointestinal microbiota in the existence of type 2 diabetes in Saudi Arabia: Current information and perspectives. *Saudi Journal of Biological Sciences*. Volume 29, Issue 6. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103286>.

Nicolas JF. 2001. Mécanismes d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie* 2001, 128(6-7), 757-761.

Nikaido H. 2009. Multidrug resistance in bacteria. *Annual review of biochemistry*, 78, 119–146. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.78.082907.145923>.

Niluni M. Wijesundara, Song F. Lee, H.P. 2022. Vasantha Rupasinghe. Carvacrol inhibits *Streptococcus pyogenes* biofilms by suppressing the expression of genes associated with quorum-sensing and reducing cell surface hydrophobicity. *Microbial Pathogenesis*. Volume 169.2022. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105684>.

Nostro A, Cannatelli MA, Crisafi G, Musolino AD, Procopio F, Alonza V. 2004. Modification of hydrophobicity, in vitro adherence and cellular aggregation of *Streptococcus mutans* by *Helychrysum italicum* extract. *Lett. Appl. Microbiol*. 38:423-427.

Nsambu Mukondwa, Muhigwa Bahananga et Rubabura Kituta. 2014. Evaluation in vitro de l'activité insecticide des alcaloïdes, saponines, terpénoïdes et stéroïdes extraits de *capsicum frutescens*

- l.(solanaceae) contre antestiopsis orbitalis ghesquierei, insectes ravageurs des cafeiers [evaluation in vitro activity of insect alkaloid, saponins, terpenoids or steroids extracts capsicum frutescens l.(solanaceae) against antestiopsis orbitalis ghesquierei, pests of coffee trees]. International journal of innovation and applied studies, 2014, vol. 8, no 3, p. 1231.
- Olaleye, M. T., Akinmoladun, A. C. 2004. Ogunboye, A. A., & Akindahunsi, A. A. Flavonoids from Tetracarpidium conophorum. Journal of Natural Products 2004, 67(11), 1913-1917.
- OMS. 2022. Journée mondiale du diabète. [Journée mondiale du diabète 2022 | OMS | Bureau régional pour l'Afrique \(who.int\)](#).
- Osman Mohammed El-Anwar, El-Shouny Wagih, Talat Ragdah, El-Zahaby Heba. 2012. Polysaccharides production from some pseudomonas syringae pathovars as affected by different types of culture media. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2012 : 1 (5) 1305-1318.
- Ostovan M, Anbardar MH, Khazraei H, Fazljou SMB, Khodabandeh Z, Shamsdin SA, Araj Khodaei M, Torbati M. 2001. The Short-Term Effects of Pistacia Lentiscus Oil and Sesame Oil on Liver and Kidney Pathology of Rats and Human Cancer Cell Lines. Galen Med J. 2020 Dec 29;9:e2001. [doi: 10.31661/gmj.v9i0.2001](#). PMID: 34466622; PMCID: PMC8343819.
- Ouedraogo Salfo, Yoda Jules, Traore et Tata Kadiatou. 2021. Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 2021, vol. 15, no 2, p. 750-772.
- Ozer, J., Ratner, M., Shaw, M., Bailey, W., & Schomaker, S. 2008. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. Toxicology, 245(3) 2008, 194-205.
- Pablo Hernández-Alonso, Daniel Cañueto, Simona Giardina, Jordi Salas-Salvadó, Nicolau Cañellas, Xavier Correig, Mònica Bulló. 2017. Effect of pistachio consumption on the modulation of urinary gut microbiota-related metabolites in prediabetic subjects. The Journal of Nutritional Biochemistry. Volume 45. Pages 48-53. ISSN 0955-2863. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.04.002>.
- Pachi V.K, Mikropoulou E.V, Gkiouvetidis P, Siafakas K, Argyropoulou A, Angelis A, Mitakou S, Halabalaki M. 2020. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of Chios mastic gum (Pistacia lentiscus var. Chia, Anacardiaceae): A review. Journal of Ethnopharmacology. 2020;(254):112485. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112485>.
- Parejo I, Codina C, Petrakis C, Kefalas P. 2000. Evaluation of scavenging activity assessed by Co(II)/EDTA-induced luminal chemiluminescence and DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) free radical assay. Journal of Pharmacology and Toxicology Methods. 2000;44:507-512.
- Pasquier C. 1995. L'explosion oxydative chez les polynucléaires neutrophiles : de la biochimie à la physiopathologie. Médecine/Sciences 1995, 11(12), 1292-1300.
- Patrice Debré, Jean-Yves Le Gall. 2014. Le microbiote intestinal. Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine. Volume 198, Issue 9. 2014. Pages 1667-1684. ISSN 0001-4079. [https://doi.org/10.1016/S0001-4079\(19\)31175-6](https://doi.org/10.1016/S0001-4079(19)31175-6).
- Pavithra PS, Sreevidya N, Verma RS. 2009. Antibacterial activity and chemical composition of essential oil of *Phamburissionis*. Journal of Ethnopharmacology. 2009;124(1):151-153.
- Pavithra, P.S., Sreevidya, N. et Verma, R.S. 2009. Antibactériale et activité antioxydante de l'extrait méthanolique d'*Evolvulus nummularius*. Indian journal of pharmacology (2009), 41 (5), 233.
- Pedreira Adrián, Vázquez José A., García Míriam R. 2022. Kinetics of Bacterial Adaptation, Growth, and Death at Didecyltrimethylammonium Chloride sub-MIC Concentrations. Frontiers in Microbiology. Sec. Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy. Volume 13 - 2022 | <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.758237>.
- Pérez-Codesido S, Allali D, Seebach J, Harr T. 2023. Allergologie : ce qui a changé en 2022 [Allergology: what's new in 2022]. Rev Med Suisse. 2023 Feb 1;19(812):196-198. French. [doi: 10.53738/REVMED.2023.19.812.196](#). PMID: 36723646.
- Perez-Gurrero C, Herrera MD, Ortiz R, De Sotomayor MA, Fernandez MA. 2001. pharmacological study of *Cecropia obtusifolia* Betrol aqueous extract. J. of Ethnopharmacol. 2001, 76(3): 279-284.

- Philip Domenico, Dana L. Diedrich, Burke A. Cunha. 1989. Quantitative extraction and purification of exopolysaccharides from *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Microbiological Methods*. Volume 9, Issue 3. 1989. Pages 211-219. [https://doi.org/10.1016/0167-7012\(89\)90038-9](https://doi.org/10.1016/0167-7012(89)90038-9).
- Plyuta V., Zaitseva J., Lobakova E., Zagorskina N., Kuznetsov A., Khmel I. Effect of plant phenolic compounds on biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Apmis*. 2013;121:1073–1081. doi: 10.1111/apm.12083.
- Poli A, Anzelmo G, Tommonaro G, Pavlova K, A. Casaburi A, Nicolaus B. 2010. Production and chemical characterization of an exopolysaccharide synthesized by psychrophilic yeast strain *Sporobolomyces salmonicolor* AL₁ isolated from Livingston Island, Antarctica. *Folia Microbiol*, 55 (2010), pp. 576-581, [10.1007/s12223-010-0092-8](https://doi.org/10.1007/s12223-010-0092-8)
- Popovici C, Saykova ., Tylkowski B. 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*. 2009;(4):8.
- Powell, L.C., Pritchard, M.F., Ferguson, E.L., Powell, K.A., Patel, S.U., Rye, P.D., Sakellakou, S.M., Buurma, N.J., Brilliant, C.D., Copping, J.M., Menzies, G.E., Lewis, P.D., Hill, K.E., & Thomas, D.W. 2018. Targeted disruption of the extracellular polymeric network of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by alginate oligosaccharides.npj *Biofilm Microbiome*, 4, 13. <http://dx.doi.org/10.1038/s41522-018-0056-3>.
- Propper DJ, Balkwill FR. 2022.Harnessing cytokines and chemokines for cancer therapy.*Nat Rev Clin Oncol*. 2022 Apr;19(4):237-253. doi: 10.1038/s41571-021-00588-9. Epub 2022 Jan 7. PMID: 34997230.
- Q. Li, C.C. Zhao, Y.S. Zhang, H. Du, T. Xu, X.M. Xu, J. Zhang, T.T. Kuang, X.R. Lai, G. Fan, Y. Zhang. 2020. ¹H NMR-based metabolomics coupled with molecular docking reveal the anti-diabetic effects and potential active components of *Berberis vernae* on type 2 diabetic rats. *Front. Pharmacol.*, 11 (2020), p. 932, [10.3389/fphar.2020.00932](https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00932).
- Raad H, Derkawi RA, Tlili A. 2019. Belambri SA, Dang PM, El-Benna J. Phosphorylation of gp91phox/NOX2 in Human Neutrophils. *Methods Mol Biol*. 2019;1982:341-352. doi: 10.1007/978-1-4939-9424-3_21. PMID: 31172483.
- Ramaiah S.K. 2011. Preclinical safety assessment: current gaps, challenges, and approaches in identifying translatable biomarkers of drug-induced liver injury. *Clinics in Laboratory Medicine* 2011, 31 (1): 161–172.
- Ramya Iyer, S.K. Tomar, Suman Kapila, Jiju Mani, Rameshwar Singh. 2010. Probiotic properties of folate producing *Streptococcus thermophilus* strains. *Food Research International*, Volume 43, Issue 1, 2010, Pages 103-110, ISSN 0963-9969, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.011>.
- Rauf A, S. Al-Awthan Y et Muhammad N. 2022. Pharmacological Investigation of Genus *Pistacia*.*Natural Medicinal Plants* 2022.*IntechOpen*. DOI: 10.5772/intechopen.97322.
- READ, R.R. COSTERTON, J.W. 1987. Purification and characterization of adhesive exopolysaccharides from *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens*. *Canadian Journal of Microbiology*, 33, 1080-1090. <http://dx.doi.org/10.1139/m87-189>.
- Rehab Meriem. 2020. Plantes utilisées pour les maladies bucco-dentaires dans la région de Sétif (Algérie): Aspects ethnobotanique. 2020. Thèse de doctorat. UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA.
- Retamozo S, Brito-Zerón P, Sisó-Almirall A, Flores-Chávez A, Soto-Cárdenas MJ, Ramos-Casals M. 2021.Haemophagocytic syndrome and COVID-19. *Clin Rheumatol*. 2021 Apr;40(4):1233-1244. doi: [10.1007/s10067-020-05569-4](https://doi.org/10.1007/s10067-020-05569-4). Epub 2021 Jan 3. PMID: 33389315; PMCID: PMC7778844.
- Ricciardi A, Clementi F. 2000. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Structure, production and technological applications. *Italian J. Food Sci.*, 1 (2000), pp. 23-45.
- Ricciardi A, Parente E, Crudele M.A, Zanetti F, Scolari G, Mannazzu I. 2002. Exopolysaccharide production by *Streptococcus thermophilus* SY: Production and preliminary characterization of the polymer. *J. Appl. Microbiol.*, 92 (2002), pp. 297-306.

Richard Guillonnet, Claudine Baraquet, Alexis Bazire, Maëlle Molmeret. 2018. Multispecies Biofilm Development of Marine Bacteria Implies Complex Relationships Through Competition and Synergy and Modification of Matrix. *frontiers in Microbiology*. doi: 10.3389/fmicb.2018.01960.

Risako Kishimoto, Narumi Kato, Mayuka Koike, Naoki Iwashita, Yoshiichi Takagi, Tomoki Fukuyama. 2021. Topical treatment with mastic (resin from *Pistacia lentiscus*) elicits anti-inflammatory and anti-pruritic responses by modulating keratinocyte activation in a mouse model of allergic dermatitis. *Phytotherapy Research*. 2021;(91): 153679. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153679>.

Robert Jacques. 2007. Les nouveaux traitements de l'arthrose. *Phytothérapie*, 2013.

Rodriguez-Perez C, Quirantes-Piné R, Amessis-Ouchemoukh N, Madani K, Segura-Carretero A, Fernández-Gutierrez A. 2013. A metabolite-profiling approach allows the identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2013;77:167-174.

Rohazila, M.H., Nazlina, I. and Yaacob W.A. 2014. Anti-biofilm and Anti-adherence Activities of Sub fraction 18 of *Melastoma malabathricum* towards *Streptococcus mutans*. *AIP Conference Proceedings* 1614,557. DOI: 10.1063/1.4895261.

Romani A, Pinelli P, Galardi C, Mulinacci N, Tattini M. 2002. Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus* L. *Phytochemical Analysis*. 2002;13:79-86

Rosenbauer Frank et Tenen Daniel G. 2007. Transcription factors in myeloid development: balancing differentiation with transformation. *Nature Reviews Immunology*, 2007, vol. 7, no 2, p. 105-117.

Saidi Maya Khalla Abdennour. 2022. Contribution à l'étude ethnobotanique des Plantes Médicinales utilisées de la région de Guelma (Est Algérien). 2022.

Saidi, Asma. 2018. Effets des extraits de *Pistacia lentiscus* L. sur l'activité de l'élastase et sur le chimiotactisme des neutrophiles humains activés. 2018. Thèse de doctorat.

Samah, Boushaba, Medkour, Boulaassal Soumia. 2021. Activité cicatrisante de l'huile de «*Pistacia lentiscus* L.». 2021. Thèse de doctorat. university center of abdalhafid boussouf-MILA.

Sandra L. Arias, Ilana L. Brito. 2021. Biophysical determinants of biofilm formation in the gut. *Current Opinion in Biomedical Engineering*. Volume 18. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cobme.2021.100275>.

Sangeetha R. 2011. Activity-guided isolation of bioactive compounds from *Aegle marmelos* and evaluation of their anti-inflammatory activity. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2011; 2(3): 633-641.

Sani, I., Ameh, D. A. et Danjuma, N. M. 2014. Anti-inflammatory activity of the methanol leaf extract of *Pterocarpus santalinoides* (Fabaceae) in rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 2014, 25(2), 217-222.

Sara McCarty, Eleri M. Jones, Simon Finnegan, Emma Woods, Christine A. Cochrane, Steven L. Percival. 2014. Chapter Eighteen - Wound Infection and Biofilms. Editor(s): Steven L. Percival, David W. Williams, Jacqueline Randle, Tracey Cooper. *Biofilms in Infection Prevention and Control*. Academic Press. 2014. Pages 339-358. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397043-5.00018-9>.

Sara Saouli. 2019. Taxonomies et principes actifs des plantes médicinales. 2019. Thèse de doctorat. Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila.

Sasidharan S, Nilawaty R, Xavier R, Latha LY, Amala R. 2010. Wound Healing Potential of *Elaeis guineensis* Jacq Leaves in an Infected Albino Rat Model. *Molecules*, 2010. 15(5): 3186-3199.

Sassi A.B., Harzallah H., Guerfel M., El Arem A. et Laouini D. 2019. *In vitro* hemolytic activity and phytochemical screening of *Pistacia lentiscus* L. extracts. *Toxicology Reports*, 6, 439-444. doi: 10.1016/j.toxrep.2019.04.001.

Scheen AJ. 2022. Les médicaments anti-inflammatoires : des anciens classiques aux biothérapies et inhibiteurs de JAK [Anti-inflammatory drugs : from old classical ones to biotherapies and JAK inhibitors]. *Rev Med Liege*. 2022 May;77(5-6):399-409. French. PMID: 35657200.

Schlesier K., Harwat M., Bhm V., Bitsch R. 2002. Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods, *Free Radical Res*, 36(2); 177-87.

- Schmied C. 2023. Nicht-steroidale Antirheumatika und kardiovaskuläres Risiko [Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs and Cardiovascular Risk]. *Praxis (Bern 1994)*. 2023 Jan;112(1):16-21. German. doi: [10.1024/1661-8157/a003948](https://doi.org/10.1024/1661-8157/a003948). PMID: 36597690.
- Schnyder A, Brüngger B, Blozik E. 2022. Verschreibung von nicht-steroidalen Antirheumatika: Analyse von Abrechnungsdaten der OKP [Frequency of Prescription of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs: Analysis of Compulsory Health Insurance Billing Data]. *Praxis (Bern 1994)*. 2022 Apr;111(5):274-282. German. doi: [10.1024/1661-8157/a003854](https://doi.org/10.1024/1661-8157/a003854). PMID: 35414249.
- Schofield, P., Mbugua, D.M., and Pell, A.N. 2001. Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1-2), 21-40.
- Schuster S, Cabrera D, Arrese M, Feldstein AE. 2018. Triggering and resolution of inflammation in NASH. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018 Jun;15(6):349-364. doi: [10.1038/s41575-018-0009-6](https://doi.org/10.1038/s41575-018-0009-6). PMID: 29740166.
- Sehaki C, Jullian N, Ayati F, Fernane F, Gontier E. 2023. A Review of Pistacia lentiscus Polyphenols: Chemical Diversity and Pharmacological Activities. *Plants (Basel)*. 2023 Jan 7;12(2):279. doi: [10.3390/plants12020279](https://doi.org/10.3390/plants12020279). PMID: 36678991; PMCID: PMC9866577.
- Sen T.; Nag C. A. K. 1991. Antiinflammatory evaluation of Pluchea indica root extract. *J. of Ethnopharmacology*, 33: 135-141.
- Serge, B. 1985. Révision accélérée en biochimie clinique. Paris : Maloine (1985), 384 p.
- Shep D, Khanwelkar C, Gade P, Karad S. 2019. Safety and efficacy of curcumin versus diclofenac in knee osteoarthritis: a randomized open-label parallel-arm study. *Trials*. 2019 Apr 11;20(1):214. doi: [10.1186/s13063-019-3327-2](https://doi.org/10.1186/s13063-019-3327-2). PMID: 30975196; PMCID: PMC6460672.
- Shiromizu CM, Jancic CC. 2000). $\gamma\delta$ T Lymphocytes: An Effector Cell in Autoimmunity and Infection. *Front Immunol*. 2018 Oct 16;9:2389. doi: [10.3389/fimmu.2018.02389](https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02389). PMID: 30386339; PMCID: PMC6198062.
- Singh N, Baby D, Rajguru JP, Patil PB, Thakkannavar SS, Pujari VB. 2019. Inflammation and cancer. *Ann Afr Med*. 2019 Jul-Sep;18(3):121-126. doi: [10.4103/aam.aam_56_18](https://doi.org/10.4103/aam.aam_56_18). PMID: 31417011; PMCID: PMC6704802.
- Singh P, Kongara K, Harding D, Ward N, Dukkipati VS et Johnson C. 2018. Comparison of electroencephalographic changes in response to acute electrical and thermal stimuli with the tail flick and hot plate test in rats administered with opiorphin. *BMC Neurol*. 2018;18(1):43
- Singh, N., Singh, N. K. et Singh, R. K. 2014. Chemical composition, functional properties and processing of carrot—a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(8), 1429-1443.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 1999;152-178. doi: [10.1016/s0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)99017-1).
- Singleton, V.L et Rossi, J.R. 1965. Colourimetry of total phenols with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* (1965).16, 144-158.
- Soehnlein O, Libby P. 2021. Targeting inflammation in atherosclerosis - from experimental insights to the clinic. *Nat Rev Drug Discov*. 2021 Aug;20(8):589-610. doi: [10.1038/s41573-021-00198-1](https://doi.org/10.1038/s41573-021-00198-1). Epub 2021 May 11. PMID: 33976384; PMCID: PMC8112476.
- Soumya Satpathy, Sudip Kumar Sen, Smaranika Pattanaik, Sangeeta Raut. 2016. Review on bacterial biofilm: An universal cause of contamination. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. Volume 7. 2016. Pages 56-66. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.05.002>.
- Sridevi Devaraj, Peera Hemarajata, James Versalovic. 2013. The Human Gut Microbiome and Body Metabolism: Implications for Obesity and Diabetes, *Clinical Chemistry*, 59 (4), 617–628. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2012.187617>.
- Steinke JW, Wilson JM. 2016. Aspirin-exacerbated respiratory disease: pathophysiological insights and clinical advances. *J Asthma Allergy*. 2016 Mar 10;9:37-43. doi: [10.2147/JAA.S88739](https://doi.org/10.2147/JAA.S88739). PMID: 27022293; PMCID: PMC4790533.

- Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Bonaventura, G.D., Djukić, S., Cirković, I. 2007. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *Apmis*. **115**, 891–899. [doi:10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x)
- Suzuki K. (2019). Chronic Inflammation as an Immunological Abnormality and Effectiveness of Exercise. *Biomolecules*. 2019 Jun 7;9(6):223. doi: 10.3390/biom9060223. PMID: 31181700; PMCID: PMC6628010.
- Swetha, T.K., Pooranachithra, M., Subramenium, G.A., Divya, V., Balamurugan, K., Pandian, S.K. 2019. Umbelliferone Impedes Biofilm Formation and Virulence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus epidermidis* via Impairment of Initial Attachment and Intercellular Adhesion. *Front Cell Infect Microbiol*. 18 (9), 357. [doi:10.3389/fcimb.2019.00357](https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00357).
- Tahri Nabila, El-Basti Abdelkrim et Zidane, Lahcen. 2012. Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la province de Settat (Maroc). *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 2012, vol. 12, no 2, p. 192-208.
- Talbi H, Boumaza A, El-Mostafa K, Talbi J, Halali A. 2015. Evaluation de l'activité antioxydante et composition physico-chimique de la *Nigella sativa L.* (Evaluation of antioxidant activity and physico chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa L.*). *Mater. Environ. Sci*. 2015;6(4):1111-1117.
- Tanaka N et Kashiwada Y. 2021. Phytochemical studies on traditional herbal medicines based on the ethnopharmacological information obtained by field studies. *J Nat Med*. 2021 Sep;75(4):762-783. [doi: 10.1007/s11418-021-01545-7](https://doi.org/10.1007/s11418-021-01545-7). Epub 2021 Jul 13. PMID: 34255289; PMCID: PMC8397699.
- Tarabet Amatou Allah et Toumi Nesrine. 2017. Contribution à l'étude ethnopharmacologique des plantes médicinales utilisées par voie externe en Kabylie. 2017.
- Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M. et El-Elimat, T. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*, 104(4), 1372-1378.
- Thabaut A. and Durosoir J.L. 1979. L'Antibiogramme : Méthodes classiques et Méthodes automatisées. *Médecine et Maladies Infectieuses*. Volume 9, Issue 9. 1979. Pages 490-495. [https://doi.org/10.1016/S0399-077X\(79\)80006-2](https://doi.org/10.1016/S0399-077X(79)80006-2).
- Thaís Dias Lemos Kaiser, Eliezer Menezes Pereira, Kátia Regina Netto dos Santos, Ethel Leonor Noia Maciel, Ricardo Pinto Schuenck, Ana Paula Ferreira Nunes. 2013. Modification of the Congo red agar method to detect biofilm production by *Staphylococcus epidermidis*, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. Volume 75, Issue 3. 2013, Pages 235-239, ISSN 0732-8893, <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.11.014>.
- Thien-Fah C Mah, George A O'Toole. 2001. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends in Microbiology*. Volume 9, Issue 1. 2001. Pages 34-39. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(00\)01913-2](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(00)01913-2).
- Tomaino, A., Martorana, M., Arcoraci, T., Monteleone, D., Giovinazzo, C. et Saija, A. 2010. Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio (*Pistacia vera L.*, variety Bronte) seeds and skins. *Biochimie*, 92(9), 1115-1122.
- Toussiro E, Gallais-Sérézal I, Aubin F. 2022. The cardiometabolic conditions of psoriatic disease. *Front Immunol*.(2022) Sep 8;13:970371. [doi: 10.3389/fimmu.2022.970371](https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.970371). PMID: 36159785; PMCID: PMC9492868.
- Treas E. et Evans W.C. 1987). *Pharmacognosie*, Billiaire Tindall. London 13th ed, pp: 61-6.
- Trease GE, Evans WC. 1987. *A text book of Pharmacognosy*. Tindal, Oxford: ELSB/Bailliere; 1987.
- Tsao R., Deng Z. 2004. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *J. Chromatogr. B*, 2004, 812:85–99. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2004.09.028>

- Upadhaya SD, Song JY, Park MA, Seo JK, Yang L, Lee CH, Cho KJ, Ha JK. 2012. Isolation, screening and identification of Swine gut microbiota with ochratoxin a biodegradation ability. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2012 Jan;25(1):114-21. doi: [10.5713/ajas.2011.11104](https://doi.org/10.5713/ajas.2011.11104). PMID: 25049486; PMCID: PMC4092918.
- Valdes C, Bustos G, Martinez JL, Laurido C. 2018. Antinociceptive antibiotics-loaded into solid lipid nanoparticles of prolonged release: measuring pharmacological efficiency and time span on chronic monoarthritis rats. *PLoS One.* 2018;13(4):e0187473.
- Van Der Meulen, R., Grosu-Tudor, S., Mozzi, F., Vaningelgem, F., Zamfir, M., De Valdez, G.F., & De Vuyst, L. 2007. Screening of lactic acid bacteria isolates from dairy and cereal products for exopolysaccharide production and genes involved. *International Journal of Food and Microbiology*, 118, 250–258. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.014>.
- Vardharajula Sandhya and Ali Sk Z. 2014. Exopolysaccharide production by drought tolerant bacillus spp. And effect on soil aggregation under drought stress. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences.* 2014 : 4 (1) 51-57. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2014.4.1.51-57>.
- Vaya J, Mahmood S. 2006. Flavonoid content in leaf extracts of the fig (*Ficus carica L.*), carob (*Ceratonia siliqua L.*) and pistachio (*Pistacia lentiscus L.*). *Biofactors.* 2006;28:169-175.
- Vieira A. 2010. A comparison of traditional anti-inflammation and anti-infection medicinal plants with current evidence from biomedical research: Results from a regional study. *Pharmacognosy Res.* 2010 Sep;2(5):293-5. doi: [10.4103/0974-8490.72326](https://doi.org/10.4103/0974-8490.72326). PMID: 21589754; PMCID: PMC3093038.
- Vijayendra, S. V. N. – palanivel, G., – mahadevamma, S. – tharanathan, R.N. 2008. Physico-chemical characterization of an exopolysaccharide produced by a non-ropy strain of *Leuconostoc* sp. CFR 2181 isolated from dahi, an Indian traditional lactic fermented. *Carbohydrate Polymers*, vol. 72, 2008, no. 5, p. 300- 307.
- Villar A, Sanz MJ, Payo M. 1987. Hypotensive effect of *Pistacia lentiscus L.* *Int J Crude Drug Res.* 1987;25:1-3.
- Virginia Vadillo-Rodríguez, Henk J. Busscher, Henny C. van der Mei, Joop de Vries, Willem Norde. 2005. Role of lactobacillus cell surface hydrophobicity as probed by AFM in adhesion to surfaces at low and high ionic strength. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* Volume 41, Issue 1. 2005. Pages 33-41. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2004.10.028>.
- Wei Y, Kim J, Ernits H et Remick D. 2021. The Septic Neutrophil-Friend or Foe. *Shock.* 2021 Feb 1;55(2):147-155. doi: 10.1097/SHK.0000000000001620. PMID: 32769816.
- WHO. 2016. World Diabetes Report of World Health Organization.
- Williams, R. O., Feldmann, M. et Maini, R. N. 2008. Anti-TNF therapy: past, present and future. *International Immunology*, 20(7), 813-818.
- Wolf, P. L. et Pugh, E. N. 1972. The liver and kidney in drug toxicity. *Clinics in laboratory medicine* 1972, 1(3), 555-568.
- Wong S.P., Leong L.P., Koh J.H.W. 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chem.* 2006, 99: 775-783. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.058>.
- Wood J.E., Senthilmohana S.T. et Peskinb A., 2002. Antioxidant activity of procyanidin-containing plant extracts at different pHs. *Food Chemistry*, 77(2): 155–16.
- Wu H, Tremaroli V, Backhed F. 2015. Linking microbiota to human diseases: a systems biology perspective. *Trends in Epidemiol Metabolism*; doi.org/10.1016/j.tem.2015.09.011.
- Wu, S. B. 2005. Phenolic constituents and antioxidant properties of Rheum species. *Journal of Food and Drug Analysis*, 13(4), 381-388.
- X.M. Xu, H. Yi, J.S. Wu, T.T. Kuang, J. Zhang, Q. Li, H. Du, T. Xu, G.H. Jiang, G. Fan. 2021. Therapeutic effect of berberine on metabolic diseases: both pharmacological data and clinical evidence. *Biomed. Pharmacother.*, 133 (2021), Article 110984, [10.1016/j.biopha.2020.110984](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110984).

Xiao Yang, Jiali Zhou, Huige Shao et Bi Huang. 2022 « Effect of an Intermittent Calorie-restricted Diet on Type 2 Diabetes Remission: A Randomized Controlled Trial », *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, DOI [10.1210/clinem/dgac661](https://doi.org/10.1210/clinem/dgac661).

Xu R, Ma S, Wang Y, Liu L et Li P. 2010. Screening, identification and statistic optimization of a novel exopolysaccharide producing *Lactobacillus paracasei* HCT. *African Journal of Microbiology Research*. 4(9) :783-795.

Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Baldassano RN, Anokhin AP, Heath AC, Warner B, Reeder J, Kuczynski J, Caporaso JG, Lozupone CA, Lauber C, Clemente JC, Knights D, Knight R, Gordon JI. 2012. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 2012 May 9;486(7402):222-7. doi: [10.1038/nature11053](https://doi.org/10.1038/nature11053). PMID: 22699611; PMCID: PMC3376388.

Yong Zhang, Heping Zhang. 2013. Microbiota associated with type 2 diabetes and its related complications. *Food Science and Human Wellness*, 2 (3-4),167-172. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2013.09.002>.

Yoon, W. J., & Baek, S. J. 2005. Molecular targets of dietary polyphenols with anti-inflammatory properties. *Yonsei Medical Journal* 2005, 46(5), 585-596.

Zhang S, Qu X, Tang H, Wang Y, Yang H, Yuan W, Yue B. 2021. Diclofenac Resensitizes Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* to β -Lactams and Prevents Implant Infections. *Adv Sci (Weinh)*. 2021 May 3;8(13):2100681. doi:[10.1002/advs.202100681](https://doi.org/10.1002/advs.202100681). PMID: 34258168; PMCID: PMC8261494.

Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chem*, (2007). 64(4): 555-59.

Zhishen J, Mengcheng T, Jianming10 Wu. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry. Analytical, Nutritional and Clinical Methods Section*. March 1999;64(4):555-559.

Zhong J et Shi G. 2019. Editorial: Regulation of Inflammation in Chronic Disease. *Front Immunol*. 2019 Apr 12;10:737. doi: [10.3389/fimmu.2019.00737](https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00737). PMID: 31031750; PMCID: PMC6473051.

Zhu X, Zhu J. 2020. CD4 T Helper Cell Subsets and Related Human Immunological Disorders. *Int J Mol Sci*. 2020 Oct 28;21(21):8011. doi:[10.3390/ijms21218011](https://doi.org/10.3390/ijms21218011). PMID: 33126494; PMCID: PMC7663252.

Zisu, S. P. – shah, M. J. 2003. Effects of exopolysaccharide producing strains of *Streptococcus thermophilus* on technological and rheological properties of set-type yoghurt. *International Dairy Journal*, vol. 13, 2003, no. 11, p. 1344-1352.

Zitouni A, Belyagoubi-Benhammou N, Ghembaza N, Toul F, Atik-Bekkara F. 2016. Assessment of phytochemical composition and antioxidant properties of extracts from the leaf, Stem, fruit and root of *Pistacia lentiscus L.* *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 2016;08:627-633.

Zitouni, A., Henchiri, C., Bouhlel, I., Smaoui, S., Mahjoub, M. A., Casabianca, H. et Hosni, K. 2016. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of *Pistacia lentiscus* seed kernel extracts. *Industrial Crops and Products*, 83, 355-363.

Annexes



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université Mustapha Stambouli de Mascara
Vice rectorat de la formation supérieure de troisième cycle, l'habilitation universitaire, la recherche scientifique, et la formation supérieure de Post-graduation

Faculté de Science Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie

FICHE D'EXPLOITATION CLINIQUE

Les informations personnelles et analytiques d'individu volontaire :

- Anonyme N° : (ou Nom et Prénom)
- Numéro et type d'échantillon : *(Diabétique, Obèse ou Normal)
- Sexe : Homme, Femme.
- Age : ans, entre 30ans - 50 ans.
- Taille : cm, Poids :Kg, (IMC=)
- Taux de glycémie à jeun : g/l (Valeur Max :g/l)

Les informations thérapeutiques et cliniques liées à l'échantillonnage :

Q1..Avez-vous des informations d'avance sur les microorganismes de notre tube digestif ?

Oui, Non,

Q2..Prenez-vous des tisanes à base de Plantes ? Oui, Non

Q3.. Prenez-vous un régime aliment Oui, Non Complément alimentaire

Q4..Avez-vous amélioré de votre santé après avoir utilisé ce processus alimentaire ?

Oui Non *

Q5..Pour quelle circonstance vous avez choisi ce régime ? Thérapie, Prévention

Q6..Vous voulez traiter quelle maladie dans ce processus ?

Diabète, Obésité, HTA, Anémie, Autres maladies, Prévention

Q7..Avez-vous déjà ressenti la douleur au niveau de votre tube digestif ? Oui, Non

Q8..Avez-vous d'autres symptômes sont apparus dans votre état sanitaire? Aucune

Fièvre, Diarrhée, Vertiges, Allergie, Vomissement, Autres symptômes

Q9..Quel est le nombre de repas que vous faites par jour ?

Q10.. Quel est le type de repas que vous preniez ?

Sucré, Protéique, Lipidique, Végétale, Animale, Equilibré



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université Mustapha Stambouli de Mascara
Vice rectorat de la formation supérieure de troisième cycle, l'habilitation universitaire, la recherche scientifique, et la formation supérieure de Post-graduation

Faculté de Science Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie

FICHE D'EXPLOITATION ETHNOBOTANIQUE

Anonyme N° : Region (Wilaya) :

Age : ans Sexe : M ou F

Q1.. Comme experts de terrain, Quelle votre option professionnelle ?

- Phytothérapeute // Herboriste // Tradipraticien.

Q2.. Avez-vous des informations préalables sur la plante de *Pistacia lentiscus* (Darw)?

- Oui ou Non.

Q3.. Pour quel but utilisez-vous la plante de *Pistacia lentiscus* ?

- Thérapeutique // Préventive // Cosmétique // Gout alimentaire.

Q4.. Quelle partie de la plante utilisez-vous dans vos techniques ?

- Feuilles // Fruits // Partie aérienne // Resins

Q5.. Quelle est la saison (mois) préférée pour la récolte ?

- Le ou les mois :

Q6.. Utilisez-vous le séchage pour préparer l'état d'usage de la plante ?

- Oui (état sec) // No (état frais)

Q7.. Quel mode d'emploi de la plante vous utilisez ?

- Tisane // Poudre // Huiles essentielles // Huiles grasses // Extraits.

Q8.. Quel mode d'administration vous appliquez pour utiliser les préparations de la plante ?

- Orale // Massage // Rinçage // Badigeonnage.

Q9.. Vous suivez quelles habitudes d'application de *Pistacia lentiscus* dans vos procédures ?

- Infusion // décoction // Inhalation // Usage externe.

Q10.. Quelles sont les maladies traitées d'après l'administration de *Pistacia lentiscus* ?

- Par la voie digestive :
- Par la voie respiratoire :
- Par la voie externe :

Q11. Comment vous expliquez l'utilisation cosmétique de *Pistacia lentiscus* ?

-

Appareillage et verreries

Les travaux ont été menés dans quatre directions intégrées, clinique, microbiologique, biochimique et phyto-thérapeutique. Pour cette base, une très large gamme de dispositifs techniques a été utilisée pour obtenir des résultats modernes et précis. On mentionne, par exemple, mais sans s'y limiter, les spectrophotomètres de UV visible en deux types ; de cuvettes et de microplaques, l'ultracentrifugeuse ensemble d'appareils de stérilisation, un groupe d'appareils analytiques qui déterminent la qualité de santé du volontaire, une série d'appareils qui assurent l'étude microbiologique et biochimique, en plus de la grande quantité de verrerie et d'objets classiques utilisée dans le travail.

Réactifs et milieux de culture

De nombreux milieux de culture ont été utilisés, notamment en ce qui concerne l'étude microbiologique. De nombreux réactifs largement utilisés avec divers degrés d'impact sur la santé et la pratique ont été traités pour assurer une étude biochimique complète. Chimiquement, la plupart des concentrations utilisées dans notre étude ont été préparées intermédiairement pour assurer l'exactitude des résultats.

Composition des milieux liquides et gélosés utilisés

○ **Milieu MRS**

La dose pour un litre de **Man, Rogosa, Sharpe** est :

Peptone	10g/L
Extrait de viande	8g/L
Extrait de levure.....	4g/L
Dextrose.....	10g/L
Glucose	10g/L
Tween 80	1mL/L
Citrate d'ammonium	2g/L
Acétate de sodium trihydraté	5g/L
Hydrogénophosphate de potassium	2g/L
Sulfate de magnésium heptahydraté	0.2g/L
Sulfate de magnésium tétrahydraté	0.05g/L

Ajouter 10g/L d'agar pour préparer une gélose.

Ajuster le pH à 6.2 +- 0.2 à 25 °C (après autoclavage).

Autoclavage à 120°C durant 20minutes.

Pour les lactobacilles ajuster le pH à 5.4 avec l'acide acétique. Autoclaver 20 min à 120 min.

○ **Milieu gélose esculine**

Peptone	10 g/L
Esculine	01g/L
Citrate de fer ammoniacal	01g/L
Gélose	20g/L

pH = 7, Stérilisation 20 min à 120 °C.

○ **Milieu Clark et Lubs**

Peptone	7g
Phosphate dipotassique	5g
Glucose	5g
Eau distillée	1000ml

pH = 7, autoclaver 20 min à 120°C

○ **Milieu de dilution (peptone-sel)**

NaCl	8.5g/L
Peptone	1g/L
Eau distillée	1000 ml

Autoclavage durant 15 min à 121°C.

○ **Gélose nutritif (GN)**

Peptone	5g/L
Extrait de viande	1g/L
Extrait de levure	2g/L
NaCl	5g/L

Ajouter 15g/L d'agar pour préparer une gélose.

Ajuster le pH à 6.2 +- 0.2 à 25 °C (après autoclavage).

Autoclavage à 120°C durant 20minutes.

○ **Tampon phosphate salin (PBS : Phosphate Buffered salin)**

Chlorure de sodium	8g/L
Chlorure de potassium	0.2g/L
Phosphate disodique	1.42g/L
Phosphate monopotassique	0.24g/L

Autoclavage classique, 20 min à 120 °C.

○ **Milieu Chapman**

NaCl	10g/L
Extrait de viande de bœuf	1g/L
Mannitol	10g/L
Rouge de phénol	0.25g/L
Agar	12g/L

pH = 7.4

○ **Citrate de Simmons (gélose)**

Citrate de sodium.....	2g/L
NaCl	5 g/L
Sulfate de magnésium	0.2g/L
Phosphate monoammonique	1g/L
Phosphate bipotassique	1g/L
Bleu de bromothymol	0.08g/L
Agar	15g/L

pH = 7.2

○ **Clark et Lubs (bouillon)**

Peptone	5g/L
Glucose	5g/L
Hydrogénophosphate	5g/L

pH = 7.5

○ **TSI**

Peptone	15g/L
Extrait de viande	3g/L
Extrait de levure	3g/L
Peptone pepsique de viande	5g/L
Glucose	10g/L
Lactose	10 g/L
Saccharose	10g/L
Rouge de phénol	0.024g/L
NaCl	5g/L

Sulfate de fer	0.2g/L
Thiosulfate de Sodium	0.3g/L
Agar	11g/L

Ajuster le pH à 7.5 +- 0.2 à (après autoclavage).

Autoclavage à 120°C durant 20 minutes.

○ **Eosin Methylene Bleu**

Pour chaque 1000 mL de milieu EMB :

Peptone (quelconque)	10g
Lactose	5g
Saccharose	5g
Hydrogénophosphate de potassum	2g
Eosinase Y	400mg
Bleu de méthylène	65 mg

Ajouter 13.5g d'Agar pour préparer une gélose.

Ajuster le pH à 7.2 +- 0.2 à 25 °C (après autoclavage).

Autoclavage à 120°C durant 20minutes.

○ **Gélose Salmonella Shigella**

La composition pour chaque 1000 mL :

Peptone	5g
Extrait de viande	5g
Lactose	10g
Citrate de sodium	10g
Citrate de fer	1g
Sels biliaires	8.5 g
Vert brillant	3.3mg
Rouge neutre	25 mg
Thiosulfate de sodium	8.5 g

Ajuster le pH à 7 +- 0.2

Ajouter 12g d'agar pour obtenir une gélose SS.

La préparation dissous par ébullition durant 30 minutes.

○ **Milieu MacConkey**

Pour chaque 1000 mL de milieu :

Peptone pancréatique de géltine	17g
Peptone pancréatique de caséine	1.5g
Peptone peptique de viande	1.5g
Lactose	10g
Chlorure de sodium	5g
Sels biliaires	1.5g
Rouge neutre	30mg
Violet de gentiane	1mg.

Ajuster le pH à 7.1 +/- 0.2

Ajouter 12g d'agar pour obtenir une gélose SS.

Autoclavage à 121°C durant 15 minutes.

○ **Milieus M17**

Dosage pour un litre de milieu :

Tryptophane	2.5g
Peptone pancréatique de soja	5g
Peptone peptique de viande	2.5g
Extrait de viande	5g
Extrait autolytique de levure	2.5g
Béta-Glycérophosphate de sodium	19g
Sulfate de magnésium	0.25g
Lactose	5g
Acide ascorbique	0.5g

Ajuster le pH à 7.1 +/- 0.2

Ajouter 15g d'agar pour obtenir une gélose M17.

Autoclavage à 115°C durant 20 minutes.

○ **Milieu de VF**

Pour 1L de Viande Foie préparé :

Base viande foie 30g

Glucose 2g

Ajuster le pH à 7.4 +- 0.2

Ajouter 6g d'agar pour obtenir une gélose VF.

Autoclavage à 121°C durant 20 minutes.

○ **Milieu BEA**

Dosage pour 1 L de Bile Esculine Azoture préparé :

Peptone 17g

Peptone pepsique de viande 3g

Extrait de levure 5g

Esculine 1g

Citrate de sodium 1g

Citrate de fer ammoniacal 0.5g

Bile de boeuf déshydratée 10g

Azoture de sodium 0.25g

Chlorure de sodium 5g

Ajuster le pH à 7.1 +- 0.2

Ajouter 13g d'agar pour obtenir une gélose BEA.

Autoclavage à 121°C durant 15 minutes.

○ **Bouillon coeur cervelle**

Pour préparer un litre de BHI :

Protéose-peptone 10g

Infusion de cervelle de veau 12.5g

Infusion de coeur de boeuf 0.5g

Glucose 2g

Chlorure de sodium 5g

Hydrogénophosphate de sodium 2.5g

Ajuster le pH à 7.4 +- 0.2

Autoclavage à 121°C durant 15 minutes.

○ **DMSO**

Le diméthylsulfoxyde noté aussi DMSO est un solvant polaire organosulfuré, aprotique, de formule C₂H₆OS ou (CH₃-CO-CH₃), il se présente comme un liquide incolore.

Les tests d'identification :

- ✓ **Examen macroscopique**
- ✓ **Coloration de Gram**

C'est une coloration différentielle basée sur la composition pariétale permettant de distinguer entre les deux groupes bactériens, les Gram positif et les Gram négatif ainsi de déterminer la forme (cocci ou bacille) et le mode de regroupement (Aminetou et al., 2008).

- ✓ **Coloration au bleu de méthylène**

Cette coloration était réalisée pour les champignons afin de déterminer leur aspect microscopique (Aminetou et al., 2008).

- ✓ **Identification enzymatique**

- **Test de la catalase**

Principe

En présence d'oxygène moléculaire, certaines réactions métaboliques conduisent à la formation d'eau oxygénée. La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée en eau et oxygène.

Technique

Déposer sur une lame de verre une ou deux gouttes d'eau oxygénée à 10 volumes. Prélever à l'aide de l'effilure d'une pipette pasteur un fragment de colonie et dissocier la culture dans l'eau oxygénée.

Lecture

La présence d'une catalase se traduit, en quelques secondes, par la formation de bulles d'oxygène (Joffin, et al, 2001).

- **Test de l'oxydase**

Principe

L'oxydase est une enzyme respiratoire catalysant une réaction d'oxydoréduction impliquant une molécule de dioxygène (O₂) comme accepteur d'électron. On dit qu'une bactérie est oxydase positive (+) si un fragment de culture est capable d'oxyder le NNdiméthyl-paraphénylène-diamine (PDA) en semi-quinone (rose violacé). Cytochrome oxydase NN-diméthyl-paraphénylène-diamine. Dérivé semi-quinone (Incolore) (rose violacé)

Technique

Sur une lame, on a déposé avec une pipette Pasteur une colonie dans une goutte de NNdiméthyl-paraphénylène-diamine en suspension.

Lecture

S'il y a apparition d'une couleur rose violette, la bactérie possède une oxydase. Si la suspension reste incolore, la bactérie ne possède pas l'oxydase (Joffin, et al, 2001).

✓ **Identification biochimique**

Pour confirmer la caractérisation morphologique et enzymatique, nous avons passé aux tests biochimiques, nous avons suivi les étapes Galerie biochimique classique décrites cidessous. On prend une colonie bien isolée et on ensemence les différents milieux de la galerie classique.

○ **Milieu Three Sugar Iron (TSI)**

La gélose TSI (Triple Sugar Iron) permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène.

Principe

Les fermentations sucrées se traduisent par une acidification du milieu de culture indiquée par un virage de couleur au jaune. Les germes qui fermentent le lactose ou le saccharose font le virage de couleur de la pente du tube au jaune. Les germes qui fermentent que le glucose font le virage de couleur du culot du tube au jaune. Les germes qui ne fermentent aucun des trois sucres ne modifient pas la couleur du milieu. La production manifeste dans le culot par l'apparition d'une coloration noire de sulfure de fer qui est due à la réduction du thiosulfate en présence de citrate ferrique. La production de gaz (hydrogène, dioxyde de carbone) résultant des fermentations sucrées se traduit par l'apparition de bulles ou bien par la fragmentation de la gélose (Murray. B et al, 1999).

Technique

A partir d'une colonie prélevée d'un milieu d'isolement sélectif, ensemencer le culot par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées. Il est nécessaire d'utiliser des cultures pures prélevées au centre de colonies bien isolées, sinon les réactions croisées rendent l'identification impossible à réaliser. Incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture

La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux :

Fermentation de glucose : Culot rouge : glucose non fermenté ; Culot jaune : glucose fermenté.

Fermentation du lactose et/ou du saccharose : Pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés ; Pente inclinée jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s).

Production de gaz : Apparition de gaz dans le culot.

Formation d'H₂S : Formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.

○ **Milieu mannitol mobilité**

Principe

Fermentation du mannitol : Les bactéries mannitol positive acidifient le milieu qui vire au jaune (teinte du rouge de phénol en milieu acide). Ce milieu convient beaucoup plus aux bacilles à gram négatif fermentatif.

Réduction des nitrates et production de gaz : Les nitrates sont réduits en nitrites puis en N₂ par le nitrate réductase. La production du gaz sera révélée par l'apparition de bulles.

Étude de la mobilité : Les bactéries très mobiles peuvent se déplacer dans la gélose molle.

Technique

À partir d'une colonie prélevée d'un milieu d'isolement sélectif, nous avonsensemencé le milieu par piqûre centrale. Incubation à 37°C pendant 24 heures (Joffin, et al, 2001).

Lecture

Culture dans tout le milieu la souche mobile ; Culture dans le milieu la souche est immobile ; Le milieu devenu jaune la souche est mannitol positive. Le milieu rouge la souche est mannitol négative ; Apparition des bulles la souche est gaz positive.

Annexes 3 : Résultats (tableau brut)

- **Galerie API (Appareils et Procédés d'Identification)**

API 20E / API 50CH / API Strep / API Staph / ID Yest.

Utilization le de site UPBM le Lab pour la lecture.

<https://lab.upbm.org/identifieur/>

Résultats de l'évaluation quantitative et qualitative de microbiote fécale chez les Diabétiques de type deux et les Normaux :

A. Dénombrement :

Milieu	EMB	10 ⁶	M17	10 ⁶	MRS	10 ²	Chapman	10 ²	VF	10 ²	Sabaouroud	10 ²	SS	10 ²
DT2														
D01	29,27	6	33,82	6	0		23,36	2	20,27	2	22,09	2	23,91	2
D02	220,9	6	29,27	6	5,36	2	16,73	2	0		31,18	2	21,82	2
D03	30,09	6	24,64	6	12,43	2	129,1	2	17,27	2	123,73	2	20,18	2
D04	336,4	6	22,09	6	0		39	2	26,73	2	30,82	2	20,27	2
D05	312,7	6	34	6	20,36	2	189,1	2	33,45	2	330	2	210,9	2
D06	337,3	6	325,5	6	22,27	2	22,73	2	5,54	2	137,3	2	0	
D07	217,3	6	12,64	6	3,18	2	0		295,5	2	29,09	2	26,82	2
D08	14,55	6	23,7	6	108,2	2	119,1	2	0		125,5	2	29,91	2
D09	221,8	6	229,1	6	0		32,45	2	161,5	2	0		198,2	2
D10	23,73	6	20	6	28,36	2	22,91	2	31,09	2	127,3	2	242,7	2
M	174,404	6	75,476	6	20,016	2	59,448	2	59,135	2	95,701	2	79,471	2
e type	136,747246 3	6	108,956605 4	6	32,6750949	2	62,9910831 1	2	95,4363188 8	2	98,1412756 6	2	96,0259038 5	2

ST														
N01	28,82	6	29,73	6	26,64	2	6,73	2	0	0	12,64	2		
N02	20,27	6	98,09	6	253,6	2	8,13	2	19,27	2	32,09	2	18,45	2
N03	29,73	6	25,45	6	2,82	2	33,27	2	16,45	2	18,3	2	25,13	
N04	30,82	6	27,64	6	4,64	2	7,18	2	23	2	0	224,5	2	
N05	175,5	6	30,73	6	0	15,55	2	31,27	2	33,55	2	16,55	2	
N06	30,73	6	222,7	6	137,3	2	22	2	176,4	2	29,91	2	29	2
N07	223,6	6	248,2	6	0	12,55	2	19,67	19,45	2	0			
N08	27	6	17,36	6	211,8	2	0	29,64	2	10,45	2	319,1	2	
N09	20,55	6	150,9	6	216,4	2	226,4	2	0	19,36	2	11,82	2	
N10	292,7	6	116,4	6	11,64	2	29,18	2	30,82	2	282,7	2	27,45	2
M	87,972	6	96,72	6	86,484	2	36,099	2	34,652	2	44,581	2	68,464	2
e type	102,334211 8	6	86,3671823	6	105,899474 7	2	67,6840654 9	2	51,0701132	2	84,5194374	2	109,793580 8	2

B. Diversité microbienne chez les volontaires (DT2 et HS)

Echantillon	D01	D02	D03	D04	D05	D06	D07	D08	D09	D10	N01	N02	N03	N04	N05	N06	N07	N08	N09	N10
Entérobactéries	10	6	8	7	10	10	8	5	7	6	8	7	5	9	10	6	8	7	6	7

Streptocoques	3	2	3	5	5	3	4	4	2	4	4	3	5	3	3	5	2	5	3	4
Lactobacilles	2	2	3	3	2	3	0	4	3	0	4	4	3	3	3	4	3	3	4	2
Clostridies	1	0	2	2	1	0	1	2	2	0	1	0	2	1	0	1	1	1	0	2
Levures	2	1	2	2	1	1	1	1	1	0	1	2	0	0	1	1	2	1	1	1
Total	18	11	18	19	19	17	14	16	15	10	18	16	15	16	17	17	16	17	14	16

Résultats de la production des EPS et Biofilms dans la gélose RC et dans les puits de VG par les microorganismes isolés.

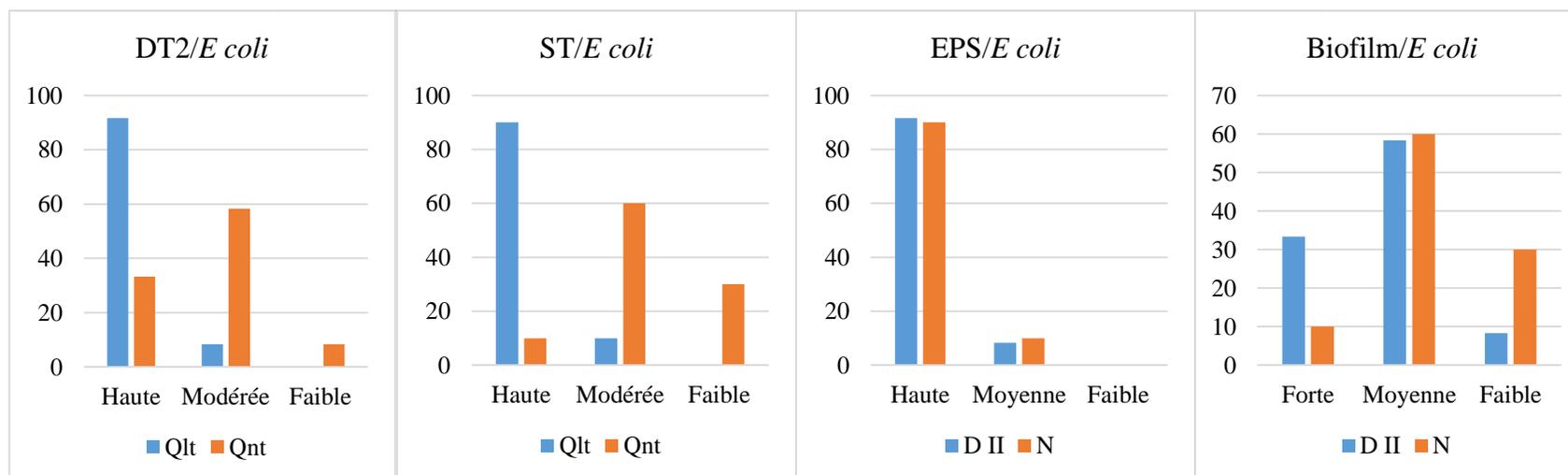
RG : gélose rouge Congo (pour déterminer la qualité de biofilms produite par un microorganisme à la base des EPS produits = EPS).

VG : violet de gentiane (pour déterminer la quantité de biofilms produite par un microorganisme = Biofilm).

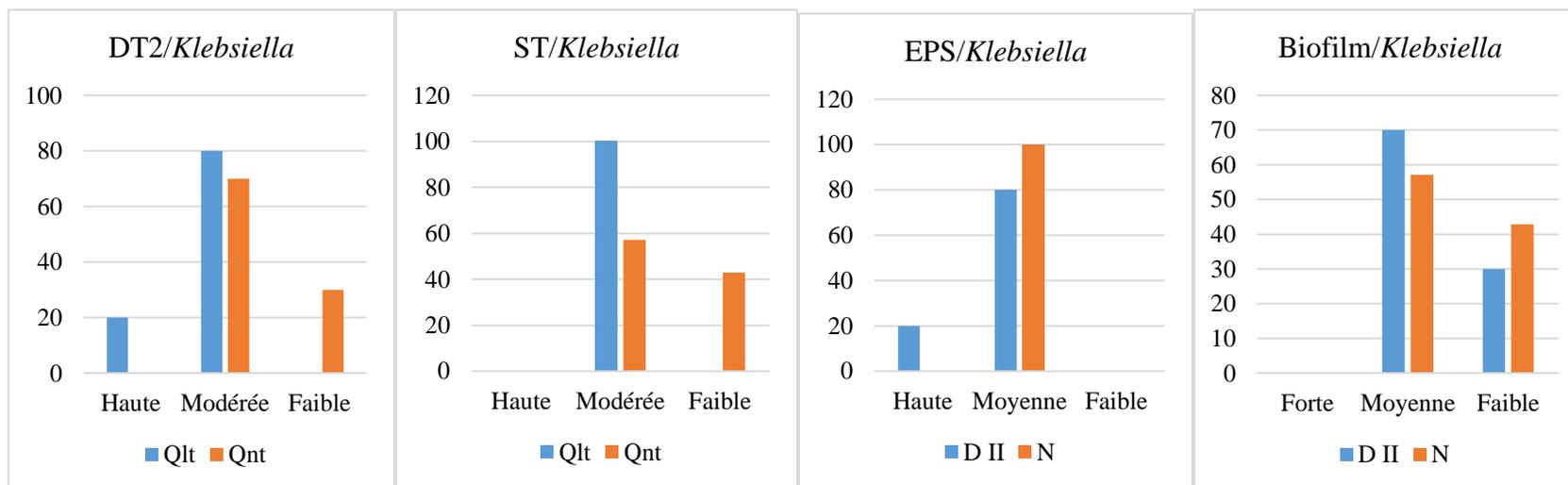
DII : Diabétiques de type 2 (DT2).

N : Normaux (ST).

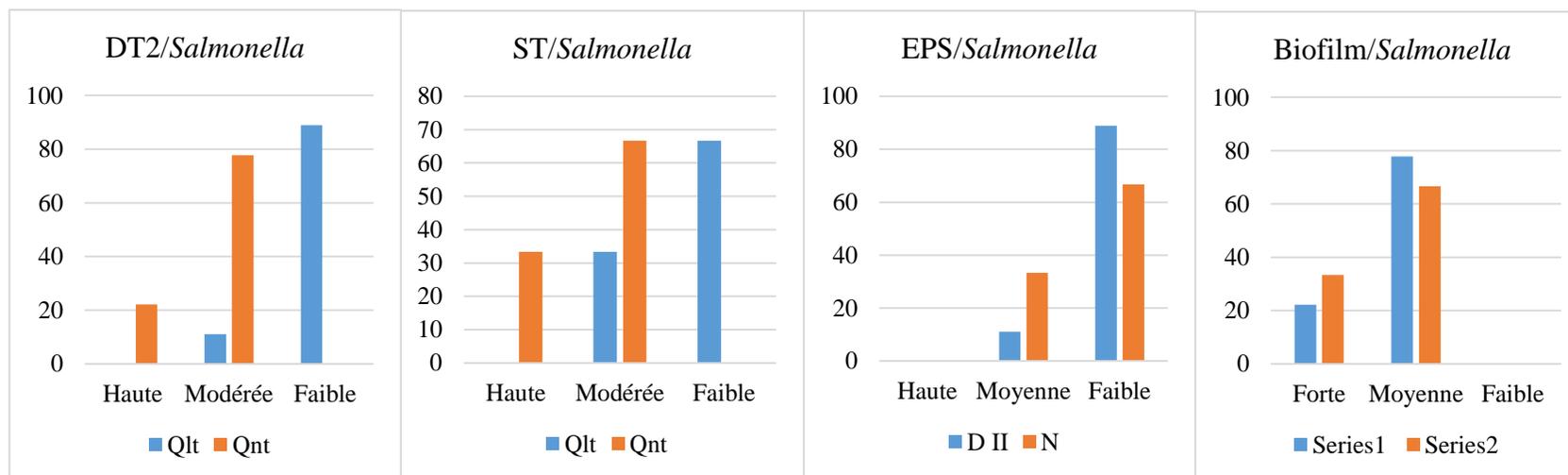
E coli					
DT2	(Qlt) RC	(Qnt) VG	ST	(Qlt) RC	(Qnt) VG
Haute	91,67	33,33	Haute	90,00	10,00
Modérée	8,33	58,33	Modérée	10,00	60,00
Faible	0,00	8,33	Faible	0,00	30,00



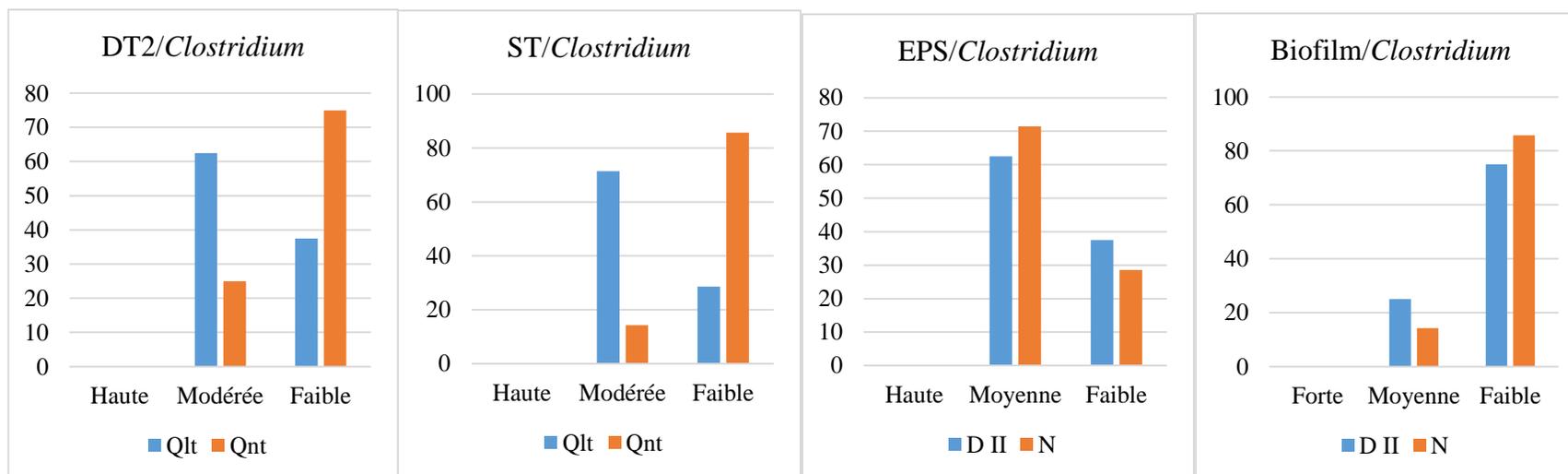
Klebsiella					
DT2	(Qlt) RC	(Qnt) VG	ST	(Qlt) RC	(Qnt) VG
Haute	20,00	0,00	Haute	0,00	0,00
Modérée	80,00	70,00	Modérée	100,00	57,14
Faible	0,00	30,00	Faible	0,00	42,86



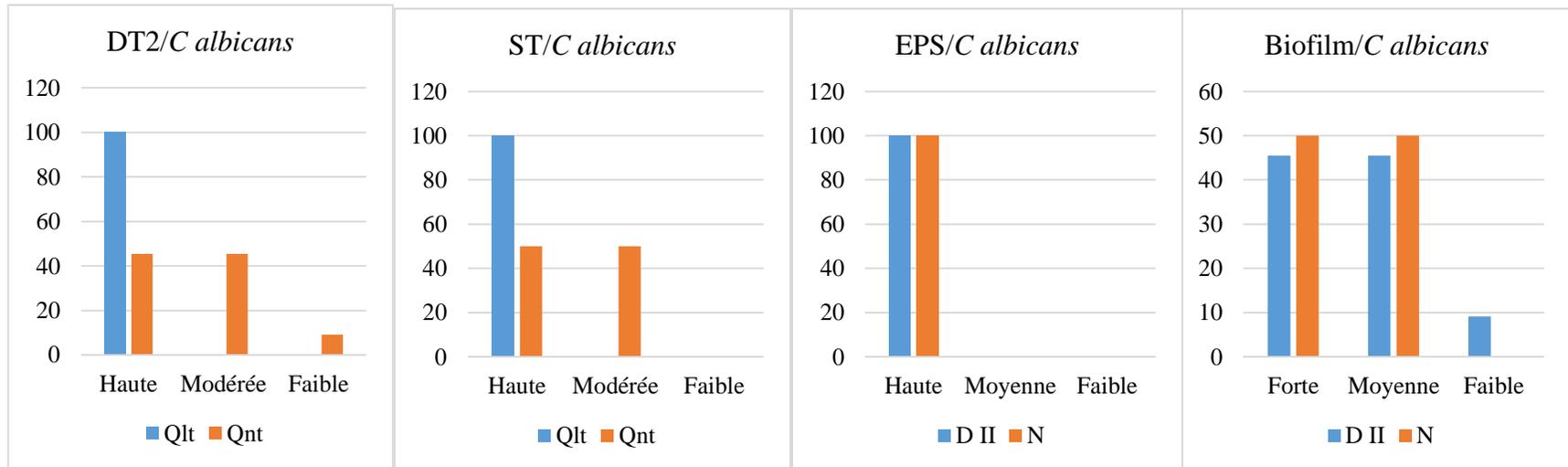
Salmonella					
DT2	(Qlt) RC	(Qnt) VG	ST	(Qlt) RC	(Qnt) VG
Haute	0,00	22,22	Haute	0,00	33,33
Modérée	11,11	77,78	Modérée	33,33	66,67
Faible	88,89	0,00	Faible	66,67	0,00



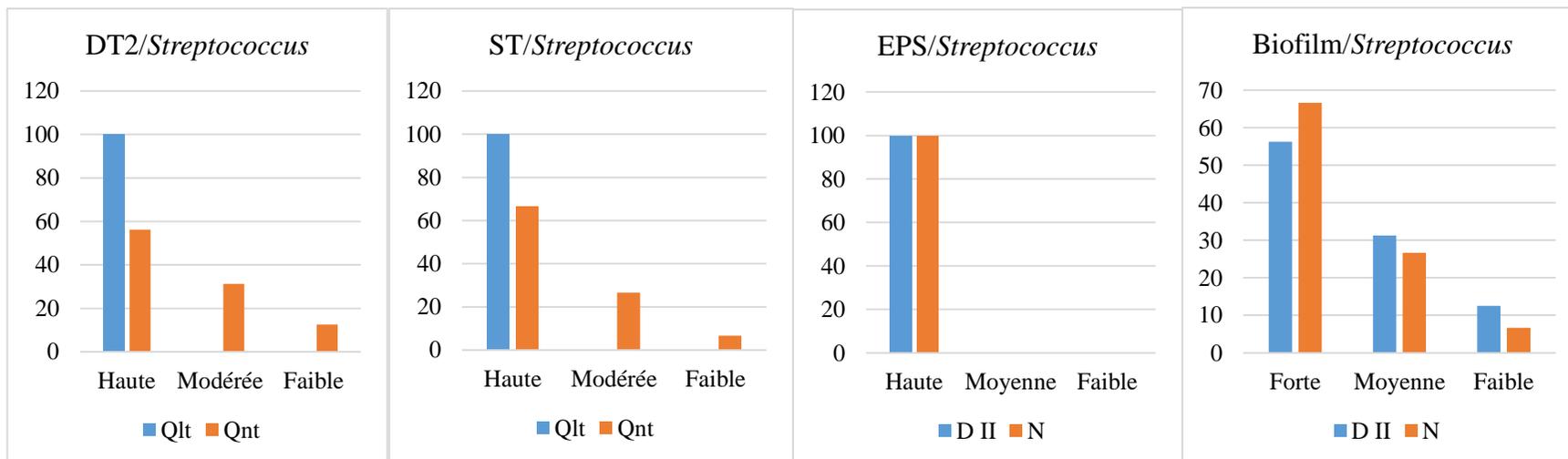
Clostridium					
DT2	(Qlt) RC	(Qnt) VG	ST	(Qlt) RC	(Qnt) VG
Haute	0,00	0,00	Haute	0,00	0,00
Modérée	62,50	25,00	Modérée	71,43	14,29
Faible	37,50	75,00	Faible	28,57	85,71



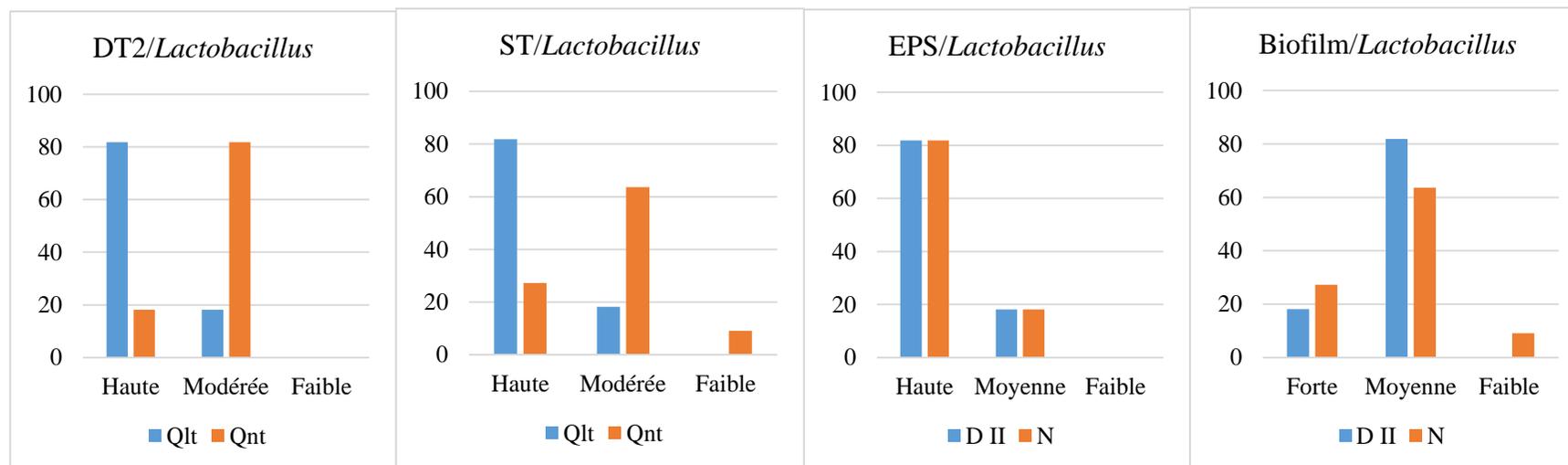
C albicans					
DT2	(Qlt) RC	(Qnt) VG	ST	(Qlt) RC	(Qnt) VG
Haute	100,00	45,45	Haute	100,00	50,00
Modérée	0,00	45,45	Modérée	0,00	50,00
Faible	0,00	9,09	Faible	0,00	0,00



Streptococcus					
DT2	(Qlt) RC	(Qnt) VG	ST	(Qlt) RC	(Qnt) VG
Haute	100,00	56,25	Haute	100,00	66,67
Modérée	0,00	31,25	Modérée	0,00	26,67
Faible	0,00	12,50	Faible	0,00	6,67



Lactobacillus					
DT2	(Qlt) RC	(Qnt) VG	ST	(Qlt) RC	(Qnt) VG
Haute	81,82	18,18	Haute	81,82	27,27
Modérée	18,18	81,82	Modérée	18,18	63,64
Faible	0,00	0,00	Faible	0,00	9,09



Résultats de la capacité de production de biofilm par la bactérie étudiée sur la microplaque.

Espèce	Patients	A1	A2	A3	At	R1	R2	R3	M	ecrt
<i>E coli</i>	DT2	0,577	0,591	0,551	0,129333333	77,58521086	78,11618725	76,52752571	77,40964127	0,808752053
	ST	0,542	0,541	0,529		76,13776138	76,09365373	75,55135476	75,92758995	0,326574744
<i>K aer</i>	DT2	0,411	0,413	0,399	0,129333333	68,53203569	68,68442292	67,58563074	68,26736312	0,595293826
	ST	0,401	0,378	0,381		67,74729842	65,78483245	66,05424322	66,52879136	1,063821003
<i>K pnm</i>	DT2	0,188	0,192	0,176	0,129333333	31,20567376	32,63888889	26,51515152	30,11990472	3,203000259
	ST	0,198	0,192	0,206		34,68013468	32,63888889	37,21682848	34,84528402	2,293433768
<i>Slm</i>	DT2	0,542	0,567	0,589	0,129333333	76,13776138	77,1898883	78,04187889	77,12317619	0,953810125
	ST	0,405	0,389	0,406		68,06584362	66,75235647	68,14449918	67,65423309	0,782037565
<i>Cls</i>	DT2	0,272	0,279	0,272	0,131333333	51,71568627	52,92712067	51,71568627	52,11949774	0,699421974
	ST	0,259	0,281	0,263		49,29214929	53,26215896	50,06337136	50,87255987	2,105073329
<i>C albicans</i>	DT2	0,501	0,495	0,511	0,113666667	77,31204258	77,03703704	77,75603392	77,36837118	0,362793072

	ST	0,505	0,519	0,522		77,49174917	78,09890816	78,2247765	77,93847794	0,391963844
<i>Sr bov</i>	DT2	0,603	0,622	0,624	0,112333333	81,37092316	81,93997856	81,99786325	81,76958832	0,34646514
	ST	0,478	0,475	0,46		76,49930265	76,35087719	75,57971014	76,14329666	0,493690036
<i>Sr ala</i>	DT2	0,479	0,483	0,479	0,112333333	76,54836465	76,74258109	76,54836465	76,61310346	0,112130915
	ST	0,612	0,601	0,62		81,64488017	81,30892956	81,88172043	81,61184339	0,28782098
<i>Sr sal</i>	DT2	0,198	0,211	0,201	0,112333333	43,26599327	46,7614534	44,11276949	44,71340538	1,823494719
	ST	0,319	0,256	0,261		64,78578892	56,11979167	56,96040868	59,28866309	4,779168709
<i>Lb brv</i>	DT2	0,552	0,569	0,553	0,137333333	75,12077295	75,86408905	75,16576251	75,3835415	0,416773887
	ST	0,571	0,546	0,555		75,94862814	74,84737485	75,25525526	75,35041941	0,55676015
<i>Lb pln</i>	DT2	0,489	0,487	0,513	0,137333333	71,91547376	71,80013689	73,22936972	72,31499346	0,793970158
	ST	0,559	0,559	0,552		75,43231962	75,43231962	75,12077295	75,32847073	0,179871555
<i>Lb slv</i>	DT2	0,484	0,498	0,496	0,137333333	71,62534435	72,42302544	72,31182796	72,12006591	0,432033897
	ST	0,519	0,563	0,548		73,53885678	75,60686797	74,93917275	74,69496583	1,055412402

A = absorbance, R = répétitions, At = absorbance, M = moyenne. Ecrt = écarttype

Résultats de l'hydrophobicité membranaire des bactéries étudiées (les plus productrices de biofilm).

DT2	<i>E coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>K aero</i>	<i>K pnm</i>	<i>Sr bov</i>	<i>Sr ala</i>	<i>Sr sal</i>	<i>Lb brv</i>	<i>Lb pln</i>	<i>Lb slv</i>	<i>Clst</i>	<i>C albicans</i>
DO i	0,628	0,628	0,628	0,628	0,551	0,551	0,551	0,672	0,672	0,672	0,536	0,526
DO R1	0,099	0,198	0,241	0,362	0,111	0,14	0,133	0,136	0,222	0,164	0,273	0,09
DO R2	0,116	0,208	0,221	0,349	0,105	0,147	0,142	0,132	0,215	0,16	0,27	0,092
DO R3	0,107	0,206	0,237	0,353	0,118	0,153	0,129	0,129	0,207	0,156	0,266	0,096
H1	84,235668 8	68,471337 6	61,624203 8	42,356687 9	79,854809 4	74,591651 5	75,862069	79,761904 8	66,964285 7	75,595238 1	49,067164 2	82,889733 8
H2	81,528662 4	66,878980 9	64,808917 2	44,426751 6	80,943738 7	73,321234 1	74,228675 1	80,357142 9	68,005952 4	76,190476 2	49,626865 7	82,509505 7
H3	82,961783 4	67,197452 2	62,261146 5	43,789808 9	78,584392	72,232304 9	76,588021 8	80,803571 4	69,196428 6	76,785714 3	50,373134 3	81,749049 4
H (M)	82,908705	67,515924	62,898089	43,524416	79,794313	73,38173	75,559589	80,30754	68,055556	76,190476	49,689055	82,382763
ecartyp	1,3542835	0,8425959	1,6851919	1,0602433	1,1808361	1,1808361	1,2084080	0,5226018	1,1168978	0,5952381	0,6552023	0,5808080

ST	<i>E coli</i>	<i>Salmonell</i> <i>a</i>	<i>K aero</i>	<i>K pnm</i>	<i>Sr bov</i>	<i>Sr ala</i>	<i>Sr sal</i>	<i>Lb brv</i>	<i>Lb pln</i>	<i>Lb slv</i>	<i>Clst</i>	<i>C albicans</i>
DO i	0,628	0,628	0,628	0,628	0,551	0,551	0,551	0,672	0,672	0,672	0,536	0,526
DO R1	0,155	0,241	0,253	0,36	0,104	0,128	0,135	0,112	0,153	0,167	0,255	0,093
DO R2	0,151	0,238	0,255	0,375	0,116	0,129	0,131	0,119	0,153	0,172	0,249	0,091
DO R3	0,139	0,233	0,248	0,369	0,112	0,132	0,123	0,126	0,147	0,178	0,26	0,091
H1	75,318471	61,624203	59,713375	42,675159	81,125226	76,76951	75,499092	83,333333	77,232142	75,148809	52,425373	82,319391
H2	75,955414	62,101910	59,394904	40,286624	78,947368	76,588021	76,225045	82,291666	77,232142	74,404761	53,544776	82,699619
H3	77,866242	62,898089	60,509554	41,242038	79,673321	76,043557	77,676951	81,25	78,125	73,511904	51,492537	82,699619
H (M)	76,380042	62,208068	59,872611	41,401274	79,915306	76,46703	76,46703	82,291667	77,529762	74,355159	52,487562	82,572877
ecartyp	1,3259019	0,6435432	0,5741323	1,2022029	1,1089112	0,3777978	1,1089112	1,0416666	0,5154913	0,8195789	1,0275318	0,2195248

DO i = densité optique initiale

DO R1, 2 et 3 = répétitions

Résultats de la capacité de production des EPS par les bactéries étudiées par la méthode de Dubois.

Microorganisme	DT2					ST				
	EPS (R1)	EPS (R2)	EPS (R3)	EPS (ug/mL)	SD	EPS (R1)	EPS (R2)	EPS (R3)	EPS (ug/mL)	SD
<i>E. coli</i>	11,6	11,5	10,1	11,0666667	0,838649708	9,3	9,8	9,4	9,5	0,264575131
<i>Klebsiella pnm</i>	5,4	5,6	5,6	5,53333333	0,115470054	5,9	6,2	5,6	5,9	0,3
<i>Klebsiella aer</i>	8,6	8,5	9,1	8,73333333	0,321455025	8,5	8,6	8,3	8,46666667	0,152752523
<i>Sr bov</i>	14,9	14,3	14,7	14,6333333	0,305505046	13,9	13,6	14,2	13,9	0,3
<i>Sr ala</i>	13,9	14,3	14,2	14,1333333	0,208166667	15,5	16	14,8	15,4333333	0,602771377
<i>Sr sal</i>	10,9	12,1	11,1	11,3666667	0,642910051	11,8	12,9	11,9	12,2	0,608276253
<i>Lb brv</i>	17,4	17,9	17,1	17,4666667	0,404145188	19,1	17,9	19,8	18,9333333	0,960902354
<i>Lb pln</i>	13,8	13,9	14,1	13,9333333	0,152752523	16,3	15,8	16	16,0333333	0,251661148
<i>Lb slv</i>	13,7	14,2	14,5	14,1333333	0,404145188	15,8	16,1	15,9	15,9333333	0,152752523
<i>Salmonella sp</i>	6,8	6,6	6,3	6,56666667	0,251661148	5,8	6,1	6,9	6,26666667	0,56862407
<i>Clostridium</i>	12,6	11,9	12,2	12,2333333	0,351188458	14,1	13,7	13,7	13,8333333	0,230940108
<i>Candida albicans</i>	20,9	19,6	19,5	20	0,781024968	19,3	18,8	20,1	19,4	0,655743852

Résultats de l'activité anti-adhésion de *Pistacia lentiscus* sur les bactéries étudiées.

<i>E coli</i>	ug/ml	2000	1500	1000	500	250	125
	DT2	82,9974	74,14925373	47,32	22,88059701	4,465671642	0
	ST	85,09487179	79,9556213	50,559	24,12721893	5,230769231	0
<i>Clst</i>	ug/ml	2000	1500	1000	500	250	125
	DT2	83,52009456	80,21	32,95	11,74940898	3,12	0
	ST	83,13794749	80,01	37,6372315	15,3699284	1,4976	0
<i>Sr ala</i>	ug/ml	2000	1500	1000	500	250	125
	DT2	74,4613	69,9634	44,1012	21,504	0	0
	ST	68,943267	51,97065	34,18744	17,703	0	0
<i>Lb brv</i>	ug/ml	2000	1500	1000	500	250	125
	DT2	72,6342	59,184	41,132	14,2275	2,793	0
	ST	68,97	53,5248	36,1934	18,5003	3,8199	0
<i>Lb pln</i>	ug/ml	2000	1500	1000	500	250	125
	DT2	80,7024	67,944	51,562	20,2545	5,6385	0
	ST	76,6381021	60,1092	40,8834	16,4031	1,3803	0
<i>Lb slv</i>	ug/ml	2000	1500	1000	500	250	125
	DT2	80,94	74,56	52,22	22,79	2,2365	0
	ST	76,09	71,83	54,83	15,18	0	0

Résultats de l'activité antibiofilm de *Pistacia lentiscus* sur les bactéries étudiées.

<i>E coli</i>	125	250	500	1000	1500	2000	
	DT2	0	4,378109453	21,79104478	42,25	61,79104478	80,58
	ST	0	5,029585799	22,97830375	44,35	69,52662722	85,00986193
<i>Clst</i>	ug/ml	125	250	500	1000	1500	2000

Figure 01 :Aspet macrobiologique de microorganismes isolés et identifiés.

