

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis – Mostaganem.
Faculté des sciences de la
Nature et de la vie



جامعة عبد الحميد ابن باديس - مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté par

BOUKHATEM Malika & BOUKHATEMI Chaima

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Microbiologie Appliquée

THÈME :

**Effet des extraits foliaires de deux plantes
spontanées (*Pistacia lentiscus* et *Olea
europaea*) sur l'activité antibactérienne**

DEVANT LE JURY :

Président : HAMOUM H.

MCB U.MOSTAGANEM

Encadreur : MEKHALDI A.

Pr U. MOSTAGANEM

Examineur : ARABI A.

MCB U.MOSTAGANEM

Thème réalisé à l'université d'Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem au laboratoire de
Biochimie & Microbiologie

Année scolaire : 2021/2022



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A quelqu'un qui me manque tant et aujourd'hui encore plus, le
personne que j'aurais aimé être avec moi en ce jour spécial de ma
vie, à mon père « رحمه الله ».*

*A ma très chère mère « Amina », la personne qui occupe la meilleur
place dans mon cœur, celle qui sacrifié sa vie pour guider mes pas
vers la lumière et qui a fait de moi ce qui je suis aujourd'hui.*

A mes chères sœurs, Rima et Nadia.

A mes chers frères, Abdelmalek et Mohamed Alaa.

A mes chères amies, Chahra et Chaima.

*Et à tous mes amis de la promotion de Master de Microbiologie
appliquée 2022.*

Malika



Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents, pour leur amour, leur soutien, leurs prières et leurs encouragements durant tous mon parcours d'étude.

Mes chers frères, Mohamed, Rayan et Hani qui m'ont beaucoup encouragée.

Toute ma famille pour leur soutien moral.

Ma chère amie et mon binôme de ce travail Malika.

Mes chères amies, Nadjet, Hanane et Maroua.

Chaima

Remerciement

Avant tout nous remercions ALLAH de nous avoir donné la force, le courage et la patience de pouvoir accomplir ce travail.

Nous tenons à remercier notre encadreur Mr MEKHALDI Abdelkader.

Nous remerciments s'adressent aussi aux membres du jury :

Mr HAMOUM Hakim & Mr ARABI Abed

Merci d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nous sincères remerciement s'adresse aussi à toutes les personnes qui nous ont aidés et soutenues de près ou de loin principalement à notre camarade BOUHELLA Hanane, à Mr BOUKHATEM Tawfiq et à Dr Soumia.

Résumé :

Les plantes médicinales constituent une source inépuisable et diversifiée en métabolites secondaires, qui ont plusieurs applications : pharmaceutique, médicales, agroalimentaire, agronomique et biotechnologiques. Dans cette optique que nous nous sommes intéressés à deux plantes médicinales (*Olea europaea*, *Pistacia lentiscus*) de la région de Hadjadj (Mostaganem, Algérie), les extraits éthanoliques foliaires sont utilisés pour tester l'activité antibactérienne. Par la méthode de la diffusion en milieu solide, contre deux souches bactériennes à Gram positif (*Staphylococcus aureus*), et Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa*). Ces composés se sont révélés très actifs contre l'ensemble des bactéries testées. Cependant, une forte activité de l'extrait des feuilles *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *S. aureus* (diamètre d'inhibition 43 mm) est enregistrée. L'activité antibactérienne de cet extrait est confirmée par la méthode de microdilution (Concentration Minimale Inhibitrice : CMI). Pour l'extrait foliaire de *Olea europaea* (d'olivier) sont doués d'un effet antibactérien modéré. La plus grande zone d'inhibition (38 :00 mm) est enregistrée par la souche (*Pseudomonas aeruginosa*) avec une CMI (1/2). Ce qui nous amène à dire que les extraits foliaires de *Olea europaea* et *Pistacia lentiscus* sont doués d'activité biologique : antibactérienne. Les résultats obtenus sont très encourageants et ouvrent une voie prometteuse pour utiliser des feuilles d'*Olea europaea* et *Pistacia lentiscus* de nombreuses applications dans divers domaines. A savoir en médecine, pharmacologie.....).

Mots clés : *Olea europaea*, *Pistacia lentiscus*, extrait éthanolique foliaires, activités antibactériennes, Concentration Minimale Inhibitrice CMI.

Abstract:

Medicinal plants are an inexhaustible and diversified source of secondary metabolites, which have several applications: pharmaceutical, medical, agri-food, agronomic and biotechnological. With this in mind, we looked at two medicinal plants (*Olea europaea*, *Pistacia lentiscus*). In the Hadjadj region (Mostaganem, Algeria), foliar ethanolic extracts are used to test antibacterial activity. By the method of diffusion in solid medium, against two strains Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*), and Gram negative (*Pseudomonas aeruginosa*). These compounds have been shown to be very active against all the bacteria tested. However A strong activity of the extract of the leaves *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *S.aureus* (inhibition diameter 43:00 mm) is recorded. The antibacterial activity of this extract is confirmed by the microdilution method (Minimum Inhibitory Concentration: MIC). For the leaf extract of *Olea europaea* (olive) are endowed with a moderate antibacterial effect. The largest inhibition zone (38:00 mm) is recorded by the strain (*Pseudomonas aeruginosa*) with a MIC (1/2). This leads us to say that the foliar extracts of *Olea europaea* and *Pistacia lentiscus* are endowed with biological activity: antibacterial. The results obtained are very encouraging and open a promising way to use leaves of *Olea europaea* and *Pistacia lentiscus* many applications in various fields. Namely in medicine, pharmacology, etc.).

Keywords: *Olea europaea*, *Pistacia lentiscus*, foliar ethanolic extract, antibacterial activities, Minimal Inhibitory Concentration MIC.

ملخص

تشكل النباتات الطبية مصدرا لا ينضب ومتنوعا من النواتج الأيضية الثانوية، والتي يمكن استخدامها في الكثير من المجالات التطبيقية مثل الصيدلة والطب والتكنولوجيا الحيوية وغيرها.

وفي هذا السياق انصب جهدنا لدراسة نباتين ينموان تلقائيا في بلدنا هما نبات الضرو والزيتون وذلك بمحاولة استخدام مستخلصات أوراقهما في النشاط المضاد للبكتيريا، وقد تم لهذا الغرض تحضير مستخلص أوراق النبات بواسطة الإيثانول لأجل اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا من خلال طريقة الانتشار في وسط صلب لسلسلة بكتيريا موجبة الجرام (*Staphylococcus aureus*) وسلسلة بكتيريا سالبة الجرام (*Pseudomonas aeruginosa*). اثبتت النتائج أن هذه المستخلصات ذات فعالية للغاية ضد البكتيريا التي تم اختبارها وقد لوحظ تأثير محسوس بالنسبة لمستخلص أوراق (الضرو) ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus* ، (قطر التثبيط 34 مم)، تم تأكيد الفعالية المضادة للبكتيريا لهذا المستخلص من خلال طريقة التخفيف للتركيز المثبط في حده الأدنى (CMI)، أما فيما يخص مستخلص أوراق الزيتون فقد كان تأثيره أقل مقارنة بمستخلص أوراق الضرو حيث لم تتجاوز منطقة التثبيط 38مم كحد أقصى لها و ذلك من خلال تأثيرها المثبط لبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*. مما يقودنا الى استخلاص أهمية مستخلصات أوراق الزيتون والضرو فيما يتعلق بالنشاط المضاد للبكتيريا بصفة عامة

الكلمات المفتاحية: الزيتون، الضرو، مستخلص أوراق الإيثانول، الانشطة المضادة للبكتيريا، الحد الأدنى من التركيز المثبط CMI.

Liste des abréviations

- **CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- **CMB** : Concentration Minimale Bactéricide
- **DO** : Densité Optique
- **EEOL** : Extrait éthanolique foliaire d'olivier
- **EEPL** : Extrait éthanolique foliaire de *Pistacia*
- **MH** : Muller Hinton
- **MHB** : Bouillon de Muller Hinton
- **OLE** : Extrait de feuilles d'olivier
- ***O. europaea*** : *Olea europaea*
- **PLE** : Extrait de feuilles de *Pistacia*
- ***P. lentiscus*** : *Pistacia lentiscus*
- ***P. aeruginosa*** : *Pseudomonas aeruginosa*
- ***S. aureus*** : *Staphylococcus aureus*
- **SM** : Solution Mère
- **TTC** : Chlorure de Triphényl Tétrazolium
- **T°** : Température
- **Ø** : Diamètre

Liste des figures :

Figure	Titre	Page
Figure 1 :	Arbuste de <i>Pistacia lentiscus</i>	3
Figure 2 :	Partie aérienne (Feuilles, fruits et fleurs) + tronc et résine de <i>P. lentiscus</i>	4
Figure 3 :	Aire de répartition de <i>P. lentiscus</i> dans le monde	6
Figure 4 :	Répartition de <i>P. lentiscus</i> en Algérie	6
Figure 5 :	Arbres d'olivier (<i>Olea europaea</i>)	8
Figure 6 :	Partie aérienne d'olivier (<i>Olea europaea</i>)	9
Figure 7 :	Taxonomie de genre <i>Olea</i> simplifier et répartition géographique des taxons	10
Figure 8 :	Aires de répartition des oliviers (<i>Olea europaea</i>) au monde	11
Figure 9 :	Répartition de la culture d'olivier en Algérie	12
Figure 10 :	Structure du noyau phénol	15
Figure 11 :	Squelette de base des flavonoïdes	17
Figure 12 :	Les différentes classes des flavonoïdes	17
Figure 13 :	Les différentes classes des tannins	18
Figure 14 :	Structure de Coniine	20
Figure 15 :	Exemple de différentes classes de terpénoïdes	21
Figure 16 :	Feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Olea europaea</i>	22
Figure 17 :	Carte géographique de la zone d'étude	23
Figure 18 :	<u>Démarche expérimentale suivi pour ce présent travail</u>	24
Figure 19 :	Les étapes d'extraction des feuilles de <i>P. lentiscus</i> et <i>O. europaea</i>	26
Figure 20 :	Les principales étapes de l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques de <i>P. lentiscus</i> et <i>O. europaea</i>	29
Figure 21 :	Méthode de détermination de la CMI d'OLE et PLE par microplaque	30
Figure 22 :	Microplaque avec la suspension bactérien - composé MHB avant incubation à 37 °C pendant 24 h.	31
Figure 23 :	Rendement des extraits éthanoliques de <i>P. lentiscus</i> et <i>O. europaea</i>	32
Figure 24 :	Effet inhibitrice d'extrait éthanolique foliaire d' <i>Olea europaea</i> vis-à-vis <i>P. aeruginosa</i>	34

Figure 25 :	Effet inhibitrice d'extrait éthanolique foliaire d' <i>Olea europaea</i> vis-à-vis <i>S. aureus</i>	34
Figure 26 :	Effet inhibitrice de <i>Pistacia lentiscus</i> vis-à-vis <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35
Figure 27 :	Effet inhibitrice de <i>P. lentiscus</i> vis-à-vis <i>S. aureus</i>	35
Figure 28 :	Résultats de détermination de CMI en microplaque	38
Figure 29 :	Effet bactéricide d'EEOL vis-à-vis <i>P. aeruginosa</i> et <i>S. aureus</i>	39
Figure 30 :	Effet bactéricide d'EEPL vis-à-vis <i>P. aeruginosa</i> et <i>S. aureus</i>	39

Liste des tableaux :

Tableau	Titre	Page
1	Taxonomie de <i>Pistacia lentiscus</i>	5
2	Noms vernaculaires de <i>Pistacia lentiscus</i>	5
3	Composition chimique globale des feuilles d'olivier (exprimé en g/100g de matière fraîche) selon plusieurs auteurs	13
4	Les principales classes de composés phénoliques	16
5	Diamètre de zones d'inhibitions des extraits éthanoliques de <i>P.lentiscus</i> et <i>O.europaea</i> vis-à-vis de deux souches bactériennes (<i>S.aureus</i> et <i>P.aeruginosa</i>)	33
6	Effet de différentes concentrations d'extrait éthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Olea europaea</i> sur la croissance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>	38
7	Résultats de la concentration minimale bactéricide de l'olivier et <i>Pistacia lentiscus</i>	40

Table de matières :

Dédicace	i
Remerciement	iii
Résumé	iv
Liste des abréviations	vi
Liste des figures	vii
Liste de tableaux	ix
Table de matière	x
Introduction	1
Partie I : Synthèse bibliographique	3
Chapitre I : Généralités sur <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Olea europaea</i>	3
I.1 <i>Pistacia Lentiscus</i>	3
I.1.1 Description botanique	3
I.1.2 Classification	4
I.1.3 Nomenclature	5
I.1.4 Répartition géographique	5
I.1.5 Etude chimique	7
I.1.6 Activité biologique (antibactérienne) et effet thérapeutique	7
I.2 <i>Olea europaea</i>	8
I.2.1 Description botanique	8
I.2.2 Classification	9
I.2.3 Nomenclature	10
I.2.4 Répartition géographique	10
I.2.5 Etude chimique	12
I.2.6 Activité biologique (antibactérienne) et effet thérapeutique	13
Chapitre II : Les métabolites secondaires	3
II.1 Définition des métabolites secondaires	15
II.2 Classification des métabolites secondaires	15
II.2.1 Composés phénoliques	15
II.2.2 Les alcaloïdes	20
II.2.3 Terpénoïdes	21
Partie II : Etude expérimentale	22

Chapitre III : Matériel et Méthodes	23
III.1 : Matériel	22
III.1.1 Matériel végétale	24
III.1.2 Présentation de la zone d'étude.....	22
III.1.3 Les souches bactériennes testées	25
III.2 Méthodes	26
III.2.1 Préparation du matériel végétal	25
III.2.2 L'extraction de matière végétale	25
III.2.1 Préparation de l'extrait Éthanolique	26
IV.2.2 Calcul du rendement d'extrait	26
IV.3 Evaluation de l'activité antibactérienne	29
IV.3.1 Préparation de l'extrait	28
IV.3.2 Préparation de l'inoculum	29
IV.3.3 Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)	29
IV.3.4 Ensemencement	30
IV.3.5 Dépôt de disques	30
IV.3.6 Lecture des résultats.....	30
IV.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice	32
IV.5 Détermination de la concentration minimale bactéricide	33
Chapitre 2 : Résultats et discussion	32
V. Calcul de rendement d'extraction	32
VI. Evaluation de l'activité antibactérienne	32
VII. Détermination de la concentration minimale inhibitrice	37
VIII. Détermination de la concentration minimale bactéricide	38
Conclusion	41
Références bibliographiques	42
Annexes	43

Introduction :

Depuis longtemps, les plantes ont été prisées pour leur soulagement de la douleur et capacités de guérison, et aujourd'hui nous comptons encore sur les propriétés curatives des plantes dans environ 75% de nos médicaments (**Andrew, 2016**).

Actuellement, la médecine conventionnelle est devenue une source d'anxiété pour l'homme, en raison des effets secondaires résultant des médicaments (**Iserin, 2001**). En effet, l'apparition des antibiotiques était une consolation pour l'humanité Puisqu'ils ont contribué à réduire considérablement la propagation des infections bactériennes. Cependant, les bactéries s'adaptent progressivement à ces médicaments et deviennent plus résistants à eux (**Ben et al, 2016**).

Face à l'insatisfaction constatée des traitements modernes, les remèdes à base de plantes sont de retour à la prééminence (**Andrew, 2016**)

Les plantes médicinales ou plus particulièrement les extraits bruts de plantes commencent à susciter un intérêt généralisé en tant que source potentielle de molécules bioactives naturelles. Des recherches sont en cours pour leur utilisation potentielle comme alternative pour traiter les maladies infectieuses et protéger les aliments de l'oxydation (**Yakhlef, 2010**).

En Algérie, beaucoup de plantes sont traditionnellement utilisées pour traiter les maladies cardiovasculaires, inflammatoires, en particulier le rhumatisme, le diabète et les maladies gastro-intestinales, etc. (**Addab et al, 2020**).

Parmi ces plantes, nous nous sommes intéressées à deux espèces, la première est *Olea europaea* (l'olivier) qui est une plante de la famille des Oleaceae. C'est une espèce largement cultivée dans le bassin méditerranéen depuis la plus haute antiquité. L'utilisation la plus connue de l'olivier et sans nul doute la production de l'huile d'olive utilisée à des fins alimentaires, cosmétiques et thérapeutiques. Par ailleurs, les propriétés médicinales de l'olivier sont également attribuées à ses feuilles qui font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches scientifiques (**Djenane et al, 2012**). La seconde est représenté par *Pistacia lentiscus* (le lentisque) qui est un arbuste appartenant à la famille des Anacardiaceae. Il est très largement représenté dans le pourtour méditerranéen. C'est une espèce très connue et employée par la population locale pour ses nombreuses vertus thérapeutiques notamment antiulcéreuses, anti-inflammatoires et antibactériennes (**Aiche-Iratni, 2016**).

L'objectif de notre travail est la préparation des extraits foliaires éthanoliques de *Pistacia lentiscus* et *Olea europaea* et l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits préparés vis-à-vis de deux souches bactériennes.

Nos travaux sont présentés en deux parties :

- La partie I est une synthèse bibliographique comprend deux chapitres, le premier chapitre entame des généralités sur les deux espèces étudiées. Bien que le deuxième aborde les métabolites secondaires.
- La partie II est une étude expérimentale englobe les différents matériel et méthodes utilisées au cours de la réalisation de ce travail, suivi par les résultats obtenus et leurs discussions .Le manuscrit se termine par une conclusion général qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

PARTIE THEORIQUE :

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE



CHAPITRE I :

*Généralités sur Pistacia
Lentiscus & Olea Europaea*

I. *Pistacia Lentiscus* :

I.1 Description botanique :

Le pistachier lentisque (**Fig.1**) est un arbrisseau résineux de 1 à 3 m de haut poussant spontanément dans tout le Tell. Il a des tiges ramifiées et des feuilles persistantes, composées, à 4 ou 5 paires de folioles entières, et courtement pétiolées, des fleurs rougeâtres en grappes denses, et des fruits très petits, de couleur rouge, non comestibles. L'ensemble dégage une forte odeur résineuse (**Baba, 1999**). la floraison a lieu entre avril et mai et la fructification entre octobre et novembre (**Coste, 1937**).



Figure 1 : Arbuste de *Pistacia lentiscus*

<https://www.promessedefleurs.com/arbustes/arbustes-de-a-a-z/pistacia-lentiscus-lentisquepistachier.html>

Le lentisque est caractérisé par :

- **Feuilles** : persistantes, paripennées, à 4-10 folioles elliptiques-obtuses, mucronulées, coriaces, luisantes en dessus, mates et pâles en dessous, pétiole étroitement ailé.
- **Fleurs** : en grappes spiciformes denses, naissant 1 ou 2 à l'aisselle d'une feuille et égalant au plus la longueur d'une foliole, pédicelles très courts (**Coste, 1937**). La plante est dioïque : fleur femelle à un calice comportant 3 ou 4 lobes et un 1 ovaire de 3 carpelles concrescents et 3 stigmates arqués en dehors ; fleur mâle à un calice comportant 5 sépales au fond duquel sont insérées 5 étamines, à filets courts soudés à la base et anthères rouges, tétragones (**Somson, 1987**).
- **Fruit** : petit, subglobuleux, apiculé, rouge, puis noir à la maturité.

- **Branches** : pressées et tortueuses, forment une masse serrée.
- **Ecorce** : rougeâtre sur les jeunes branches et vire au gris avec le temps.
- **Mastic** : appelée également résine, l'incision du tronc de cet arbuste fait écouler un suc résineux nommé mastic qui une fois distillé, fournit une essence employée en parfumerie (**Fig.2**) (**More et white, 2005**).



Figure 2 : Partie aérienne (feuilles, fruits et fleurs) +tronc et résine de *P. lentiscus* (**Ben Douissa, 2005 ; Bammou et al., 2015**)

I.2 Classification :

Le lentisque est un arbrisseau du genre *Pistacia* appartenant à la famille des Anacardiaceae qui comprend environ 70 genres et plus de 600 espèces (**Bozorgi et al, 2013**).

Les trois espèces les plus représentatives de la région méditerranéenne (Moyen-Orient et Europe) sont : *P. vera* L, *P. terebinthus*, *P. lentiscus* L (**Milia et al, 2021**).

En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces ; *P. lentiscus*, *P. terbinthus*, *P. vera* et *P. atlantica* (**Ghalem et Benhassaini, 2007**).

D'après **Quézel et Santa (1963)**, la position des lentisques dans la systématique du règne végétal est donnée par l'arbre phylogénique représenté dans (**Tab.1**).

Tableau 1 : Taxonomie de *Pistacia lentiscus* (**Quézel et Santa, 1963**)

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédone
Sous classe	Dialypétales
Série	Diacifores
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiacees
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Lentiscus</i>

I.3 Nomenclature :

Le pistachier lentisque se dénomme en dialecte local dans la région de Jijel (Algérie) : tro ou troo ; et dans la région la kabylie (Algérie) : amadagh, et le fruit se dénomme tidekt (**Benmehdi, 2012**). L'appellation de *P. Lentiscus* se diffère selon les pays (**Tab.2**).

Tableau 2 : Noms vernaculaires de *Pistacia lentiscus* (**Torkelson, 1996**)

Anglais	Chios mastic tree
Allemand	Mastixbaum
Français	Arbre du mastic, lentisque
Espagnol	Lentisco
Afrique du nord	Derw, darw (arabe)

I.4 Répartition géographique :

I.4.1 Dans le monde :

Le lentisque est originaire du bassin méditerranéen, il est particulièrement représentative des milieux les plus chauds du climat méditerranéen.

On le trouve couramment dans les milieux arides de régions méditerranéen de l'Europe, de l'Asie, de l'Afrique jusqu'aux canaries.il pousse à l'état sauvage dans les

garrigues et les maquis, sur tout type de sol (Coste, 1937 ; Iserin, 2001 ; Smail-Saadoun, 2002) (Fig.3).



Figure 3 : Aire de répartition de *P.lentiscus* dans le monde (Quézel et Santa, 1963)

I.4.2 En Algérie :

P. Lentiscus se trouve dans les zones forestières sur le long du nord algérien (More et White, 2005). On le retrouve sur tout type de sol, dans l'Algérie subhumide et semi-aride (Smail-Saadoun, 2005), plus précisément dans le bassin de la Soummam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège (Belhadj, 2001) (Fig.4).

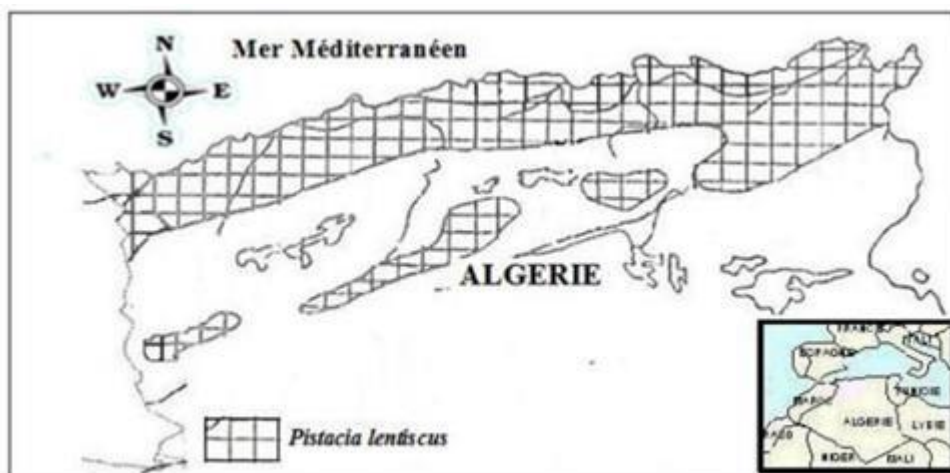


Figure 4 : Répartition de *P. lentiscus* en Algérie (Quézel et Santa, 1963)

I.5 Etude chimique :

L'analyse phytochimique des extraits de *P. lentiscus* a révélé que les parties aériennes sont atteintes dans sa composition chimique comme l'huile essentielle, alcaloïdes, produits phénoliques, tannins et saponines (Elgubbi *et al.*, 2017).

Des études précédentes ont montré que l'extrait éthanolique des feuilles est une source riche de flavonoïdes, acides phénoliques et tannins avec une forte concentration de composés phénoliques (Aziba *et al.*, 2019).

Les feuilles de *P. lentiscus* sont également riches de composés de polyphénols (7/5% du poids sec des feuilles) en particulier le galloyl des dérivés comme l'acide mono, di et tri-O-galloylquinique et monogalloyl glucose. 1, 2, 3, 4, 6-Pentagalloyl glucose. Des dérivés de la myricétine ont été déterminés comme 20% de la quantité totale de polyphénols de feuilles de *P. lentiscus* (Bozorgi *et al.*, 2013). L'huile essentielle de feuilles contient de la β -caryophylline (31,38%) du germaerène (12,05%) et du γ -cadinnène (6,48%). Et l'huile hydrodistillée a été analysée par GC-MS et contient de l' α -pinène, du β -terpène et du terpène-4-ol (Elgubbi *et al.*, 2017).

I.5.1 Activité biologique (antibactérienne) et effet thérapeutique :

De nombreuses études pharmacologiques ont rapporté que les molécules contenues dans les parties aériennes de pistachier lentisque ont de multiples activités biologiques à savoir : anti-oxydante, antimicrobienne, antifongique, anti-inflammatoire, anticancéreuse, etc...

Une activité inhibitrice remarquable de différents extraits et huile essentielle de feuilles de *P.lentiscus* a été observée contre *Salmonella typhimurium*, en outre, l'huile essentielle a montré effets inhibiteurs importants contre *Salmonella enteritidis* et *Staphylococcus aureus* (Ben Douissa *et al.*, 2005 ; Hayder *et al.*, 2005)

P. lentiscus est une plante connue pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité ; en effet, les médecines traditionnelles pratiquées de part et d'autre des rives de la méditerranée, attribuent au lentisque des vertus dans le traitement des ulcères, l'hypertension, la toux, les maux de gorge, l'eczéma, des calculs rénaux et la jaunisse (Gardeli *et al.*, 2008).

Les feuilles de lentisque sont largement utilisées pour le traitement de l'eczéma, la diarrhée et elle est un puissant agent antiulcéreux (Khiari *et al.*, 2018).

II. *Olea europaea* :

II.1 Description botanique :

L'olivier est un arbre typiquement méditerranéen (**Breton et al., 2006**). De 6 à 8m de hauteur à tronc tortueux à écorce grisâtre, crevassée (**Ghedira, 2008**). Peut atteindre 15m de haut (**Hans et Kothe, 2007**). Sa longévité multiséculaire est légendaire, la T° demeure à plusieurs jours à 16°C l'isotherme -12°C correspondrait à la limite de son air de culture. Facilement identifiable à son port de feuilles blanches à 4 pétales soudé en tube à la base (**Claude et Françoise, 2007**) (**Fig.5**).



Figure 5 : Arbres d'olivier (*Olea europaea*) (Aouidi, 2012)

L'olivier est caractérisé par :

- **Tronc** : jaunâtre puis passe à la brune très claire. Il est très dur, compact, courte, trapue (jusqu'à 2m de diamètre) et porte des Larche assez grosses, trotteuses et lisse (**Beck et Dansk, 1983**).
- **Feuilles** : persistants, opposé, coriace, ovale oblongues, à entières et un peu enroulé. Elles sont portées par un court pétiole (vert grisâtres à vert sombre dessus blanchâtre et à une seule nervure dessus, très souvent). Elles conditionnent des matières grasses, des cires, des chlorophylles, des acides (gallique et malique), des gommes et des fibres végétales (**Amourtti, 1985**).
- **Fleurs** : groupées en inflorescences comportant un nombre de feuilles, variable d'un cultivar à un autre de 10 à plus de 40 par groupe en moyenne. Les fleurs individuelle peuvent être hermaphrodites ou staminées (**Loussert et Brouss, 1978**).
- **Fruit** : drupe charnues, ovoïde, vert puis devient noire à maturité complète (**Terral et al., 1996**). De diamètre variable selon les variétés (**Saad, 2009**) (**Fig.6**).



Figure 6 : Partie aérienne d'olivier (feuilles, fleurs, fruits) d'*Olea europaea* (Aouidi, 2012)

II.2 Classification :

L'espèce *Olea europaea* L a été nommée par Linné en raison de son aire géographique. C'est l'unique espèce du bassin méditerranéen représentative du genre *Olea*. On distingue deux sous espèces, l'olivier cultivé ou olivier commun (*Olea europaea sativa*) et l'olivier sauvage ou oléastre (*Olea europaea sylvestris*) (Guignard et Dupont, 2004 ; Tourte et Bordonean, 2005).

Selon Cronquist (1981) la classification de l'arbre d'olivier (*Olea europaea* L) se fait comme suit :

Règne :	Plantae
Sous-règne :	Tracheolionta
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Sous-classe :	Asteridae
Ordre :	Scrophylariales
Famille :	Oléaceae
Genre :	<i>Olea</i>
Espèce :	<i>Europaea</i>

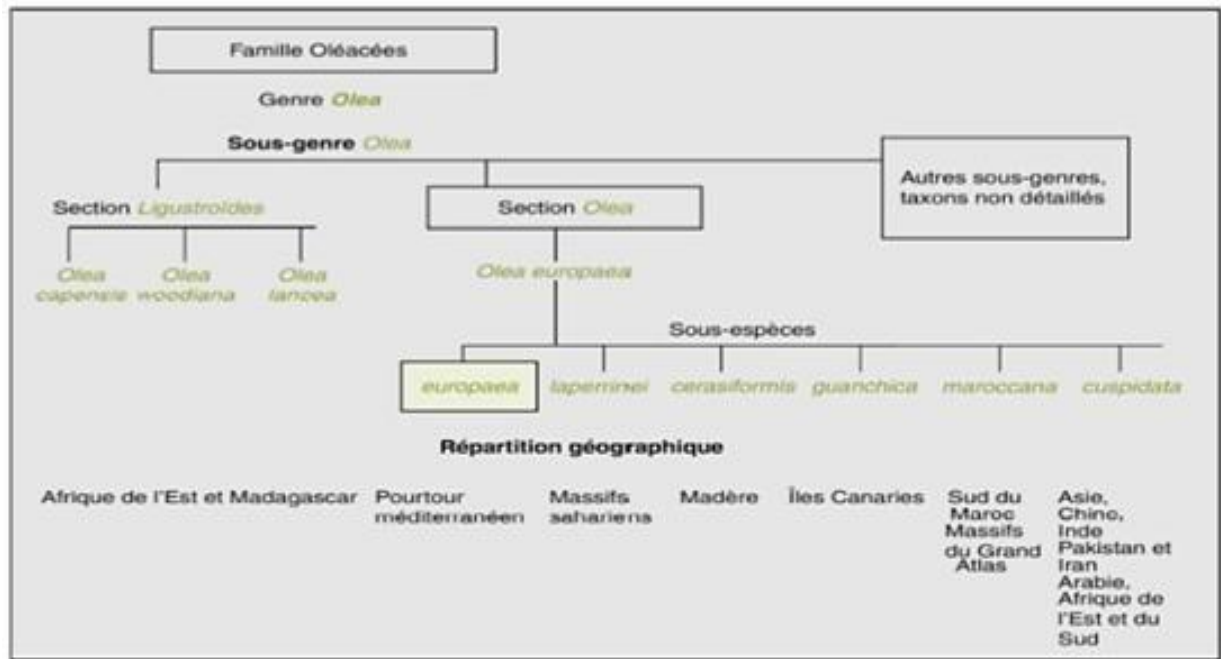


Figure 7 : Taxonomie de genre *Olea* (Green, 2002) simplifier, d’après (Breton *et al.*, 2006) et répartition géographique des taxons

II.3 Nomenclature :

Selon Lucienne (2010), plusieurs noms d’*O. europaea* ont été utilisés à savoir :

- Nom commun : arbre éternel, bouteillon, Mouraou.
- Nom vernaculaire : Pour la variété cultivée : Amourga, Zitoun, Zaitar, Azemmour, ZZir, Tassetta, Tahatimt, Amil.

II.4 Répartition géographique :

II.4.1 Dans le monde :

L’olivier est cultivé dans des aires géographiques où les chutes de pluie annuelles sont en moyenne de 350 à 400 mm et les températures estivales 40°C ce qui correspond à la zone températures entre 30 et 45°C parallèle Nord sud.

La superficie oléicole dans le monde est estimée en 2007 à 10 492 000 hectares correspondant à plus de 800 millions d’arbres avec une augmentation annuelle de 150 000 hectares pour la période allant de 2001 à 2005 cet arbre typiquement méditerranéen, compte environ 840 millions d’olivier qui sont implantés en Méditerranée, et 90 millions dans le reste du monde (Emberger, 1960).

Les oliveraies sont de l’ordre de 10 millions d’hectares, sont une densité moyenne de 80 oliviers par hectare (anonyme, 2014), les variations observer dans les densités de plantations

sont liées aux conditions climatiques et topographiques et aux objectifs de production recherchés.

Sur l'ensemble des superficies oléicoles, 53% reviennent aux pays de l'union européenne, 27% aux pays du Maghreb, 18% pour les pays du moyen Orient et 2% pour les pays du continent américain (**Bouras, 2015**) (**Fig.8**).

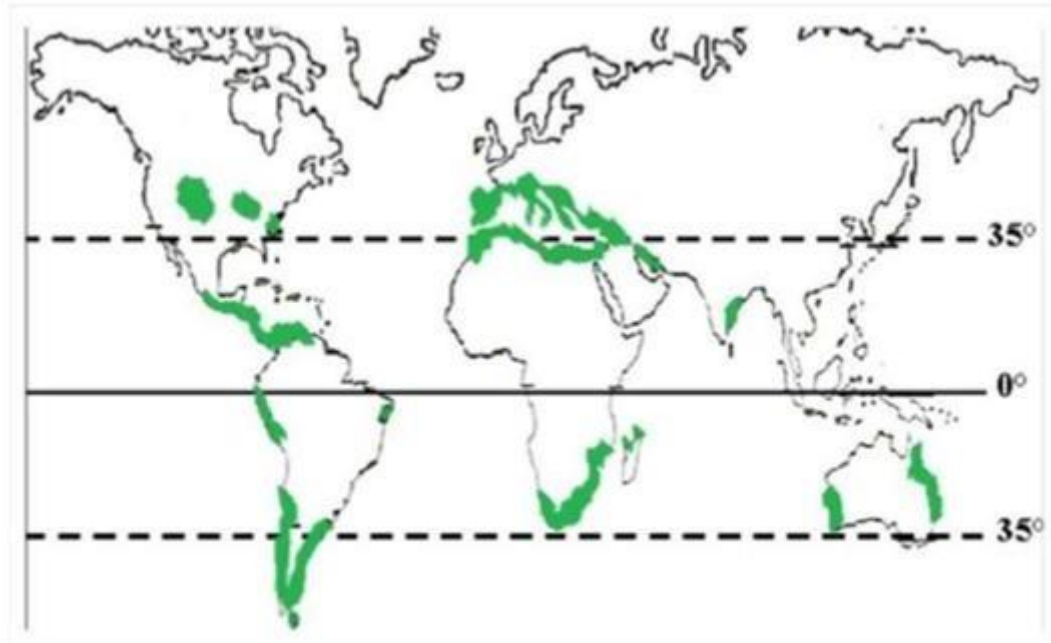


Figure 8 : Aires de répartition des oliviers (*Olea europaea*) au monde (**Bouras, 2015**)

II.4.2 En Algérie :

L'Algérie fait partie des principaux pays méditerranéens dont le climat est plus favorable à la culture de l'olivier ou les constitue l'une des principales essences fruitières à l'échelle nationale (**Benderradji et al., 2007 ; Babouch et Kellouche, 2012**).

L'oléiculture algérienne est constituée d'environ 32 millions d'arbres (**Bensemmane, 2009**) répartie sur une superficie d'environ 328 884 hectares (**Faostat, 2013**) soit 34,09% du verger arboricole nationale.

L'olivier s'étend sur tout le territoire national. D'après (**Sekour, 2012**), il concentre notamment dans trois principales régions : la région du Centre (54%), la région de l'Est (29%) et la région de l'Ouest (17%).

Pour de cette zone 95% est occupé par les wilayas de Bejaïa et Tizi-Ouzou ou et Bouira les wilayas de Guelma, Stif, Jijel et Skikda détiennent 68% du verger oléicole de la

région d'Est et enfin, la région Ouest représente 71% du verger est occupé par les wilayas de Mascara, Sidi Bel Abbés, Mostaganem et Tlemcen (**Fig.9**).

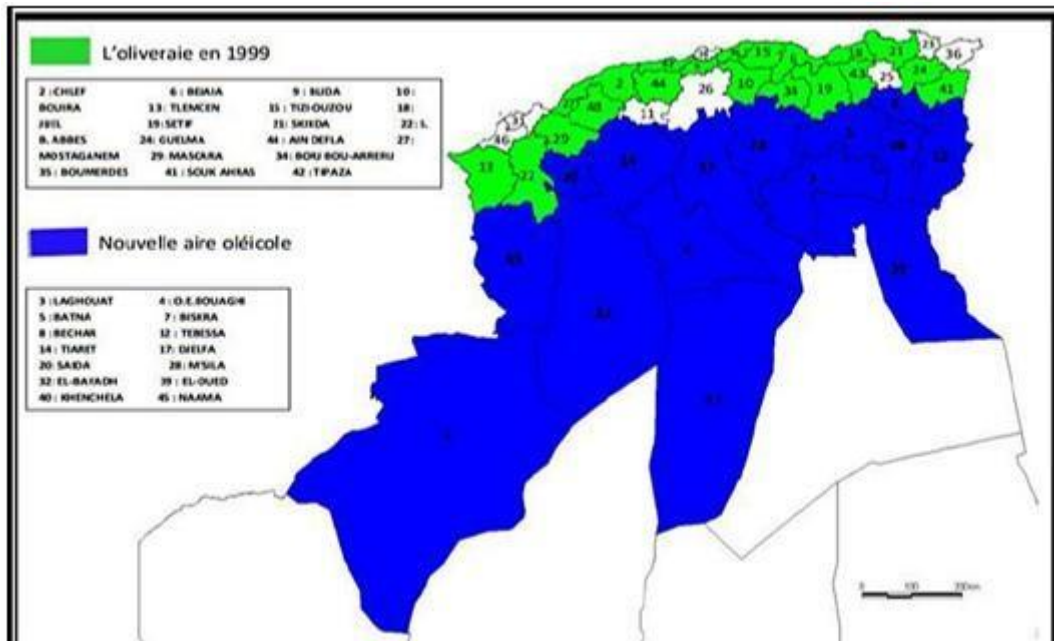


Figure 9 : Répartition de la culture d'olivier en Algérie (Itaf, 2008)

II.5 Etude chimique :

Olea europaea est une espèce qui synthétise un large éventail de substances chimiques de structures variées (Hopkins, 2003).

Les feuilles d'olivier contiennent des quantités variables d'oligo-éléments dont la concentration est en fonction de plusieurs facteurs : la physiologie de la plante, les conditions environnementales (principalement les éléments disponibles dans le sol) et l'âge de la feuille (Bouabdallah, 2014).

Les différents composés chimiques globaux de la feuille sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3 : Composition chimique globale des feuilles d'olivier (exprimé en g/100g de matière fraîche) selon plusieurs auteurs

Composition en %	GARCIA-GOMEZ et al., 2003	MARTIN-GARCIA et al., 2006	BOUDHRIOUA et al., 2009	ERBAY et ICIER., 2009
Eau	nd	41,4	46,2 – 49,7 a	49,8 a
Protéines	nd	nd	5,0 – 7,6 a	7,0 b
Lipides	6,2 b	3,2 b	1,0 – 1,3 a	6,5 a
Minéraux	26,6 b	16,2 b	2,8 – 4,4 a	3,6 b
Glucides	nd	nd	37,1 – 42,5 a	27,5 a
Fibres brutes	nd	nd	nd	7,0 a
Cellulose	19,03 b	nd	nd	Nd
Hémicellulose	25,4 b	nd	nd	Nd
Lignine	30,4 b	nd	nd	Nd
Polyphénols totaux	nd	2,5 b	1,3 – 2,3 b	Nd
Tannins solubles	nd	nd	nd	Nd
Tannins condensés	nd	0,8 b	nd	Nd

(a) Correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse fraîche des feuilles d'olivier.

(b) : correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse sèche des feuilles d'olivier.

(Nd) : valeur non déterminée.

II.6 Activité biologique (antibactérienne) et effet thérapeutique :

Les effets antimicrobiens des polyphénols issus de la feuille d'Olivier ont été le sujet de différentes recherches qui confirment l'effet antimicrobien des polyphénols, Les anciens égyptiens momifiaient les pharaons avec des feuilles d'oliviers pressées pour lutter contre l'attaque des bactéries, des champignons et des parasites

De plus, les feuilles d'olivier sont connues pour leurs résistances naturelles à l'attaque de différents insectes et microorganismes. De nombreuses études in-vitro ont été effectuées pour démontrer que les extraits de feuilles d'olivier empêchent ou retardent le taux de croissance de certaines bactéries et de microchampignons.

La feuille d'olivier a des activités contre certaines souches bactériennes. Les souches *Salmonella typhim*, *Vibrion parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* (y compris les

souches résistantes à la pénicilline), *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* (agents causals d'infections du système gastro – intestinal ou des voies respiratoires chez l'homme), mises en présence d'extraits de feuilles n'ont pas pu se développer sur les milieux de culture. (Caturla *et al.*, 2005).

Les feuilles de l'olivier ont été largement répandues dans la médecine folklorique pour plusieurs années dans les îles méditerranéennes et les pays européens. Historiquement, cette matière végétale a été utilisée comme remède de la fièvre au cours du dix-neuvième siècle les anglais y avaient recours pour traiter les maladies tropicales, telle la malaria (Lee *et al.*, 2009). Dans l'antique Egypte on servait de la feuille d'olivier pour momifier les pharaons. Elles sont utilisées pour faciliter les fonctions d'élimination urinaire et digestives (Bruneton, 2009).

Plusieurs rapports ont montré que l'extrait de feuille d'olivier avait la capacité d'abaisser la tension artérielle chez les animaux (Samuelsson, 1951) et d'augmenter le débit sanguin dans les artères coronaires (Zarzuolo, 1991). De soulager les arythmies et de prévenir les spasmes musculaires intestinaux (Garcia, 2000).

CHAPITRE III :

LES MÉTABOLITES SECONDAIRES

III. Définition des métabolites secondaires :

Une de particularités des végétaux est de former de nombreux composés dans le rôle au niveau de la plante n'est pas encore parfaitement élucidé.

Le fait que beaucoup de ces composés ne se rencontrent chez toutes les espèces montre qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général : ce sont des métabolites secondaires, qui n'exercent aucune fonction directe aux niveaux des activités fondamentales de l'organisme végétal (croissance, développement, reproduction...) mais peuvent jouer différents rôles pour la survie du végétal lui-même, rôle de défense ou de résistance (Merghem, 2009).

III.1 Classification des métabolites secondaires :

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes ; les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Krief, 2003).

III.1.1 Composés phénoliques :

III.1.1.1 Polyphénols :

Les composés phénoliques ou polyphénols forment une grande famille de composés chimiques très divers depuis les simples acides des phénoliques jusqu'aux grands polymères complexes que sont par exemples, les tanins et la lignine. Ils participent à la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits (raisins, agrumes, etc...), certains d'entre eux sont responsables d'amertume et d'astringence. La structure de base est le phénol (Fig.10) un cycle aromatique hydroxylé (Hopkins, 2003).

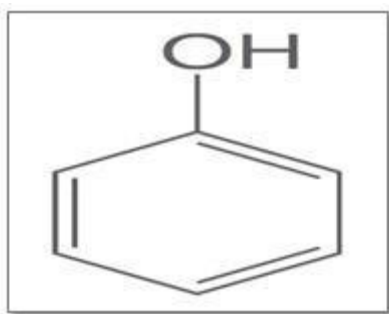


Figure 10 : Structure du noyau phénol (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

▪ Classification :



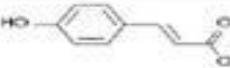
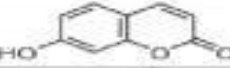


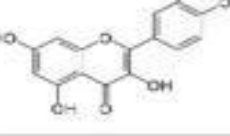


Les composés phénoliques peuvent être classés en fonction de longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique en :

- Les dérivés en c6-c1

·Les dérivés en C6-C3

·Les composés en C3-C3-C6 qui sont les plus importants (Tab.4).

Tableau 4 : Les principales classes de composés phénoliques (Machiex *et al.*, 2005)

Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule	Origine
C ₆	Phénols simple	Hydroquinone		Busserole
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïque	Acide p- hydroxybenzoïque		Epices, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acide p-coumarique		Pomme de terre, pomme, Citrus
	Coumarines	Ombelliférone		Carottes, coriandre
C ₆ -C ₄	Juglone	Naphtoquinone		Noix
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbénoides	trans-resvératrol		Raisins
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Quercétine		Oignon
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Entérodiol		Bactéries intestinales
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines			Bois, noyau de fruits
(C ₁₅) _n	Tannins	procyanidol		Raisin rouge, kaki

III.1.1.2 Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont l'une des classes de polyphénols les plus importants avec une abondance assez marquée dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels le thé et autres dérivés des plantes (Tsimogiannis et Oreopoulou, 2006). Ces molécules sont présentes dans toutes les cellules végétales vertes participant au processus photosynthétique et jouent ainsi un rôle dans la régulation de l'expression des gènes, le métabolisme et la croissance (Mukohata *et al.*, 1978 ; Havsteen, 2002).

A l'heure actuelle, environ 4000 structures flavonoidiques ont été élucidées (Edenharder et Grünhage, 2003) présentant un même squelette de base carboné C₆-C₃ et dérivant d'un composé parent, le 2-phényl chromane (Yao *et al.*, 2004) (Fig.11).

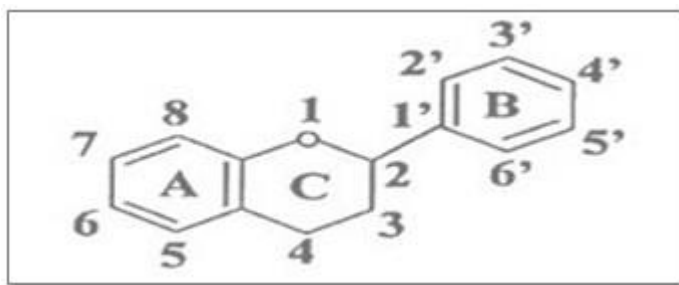


Figure 11 : Squelette de base des flavonoïdes (Kumar et Pandey, 2013)

▪ **Classification :**

Les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes (Fig.12), qui sont déterminées par l'état d'oxydation de l'unité de liaison (C), et la position du noyau benzénique (B) (Bruneton, 1993 ; Narayana *et al*, 2001), tandis que les composés de la même classe sont déterminés par le point d'hydroxylation, ou d'autre substitution du noyau A ou B (OH, OCH₃ et/ou glycosyl) (Verpoorte et Alfermann, 2000 ; Havsteen, 2002).

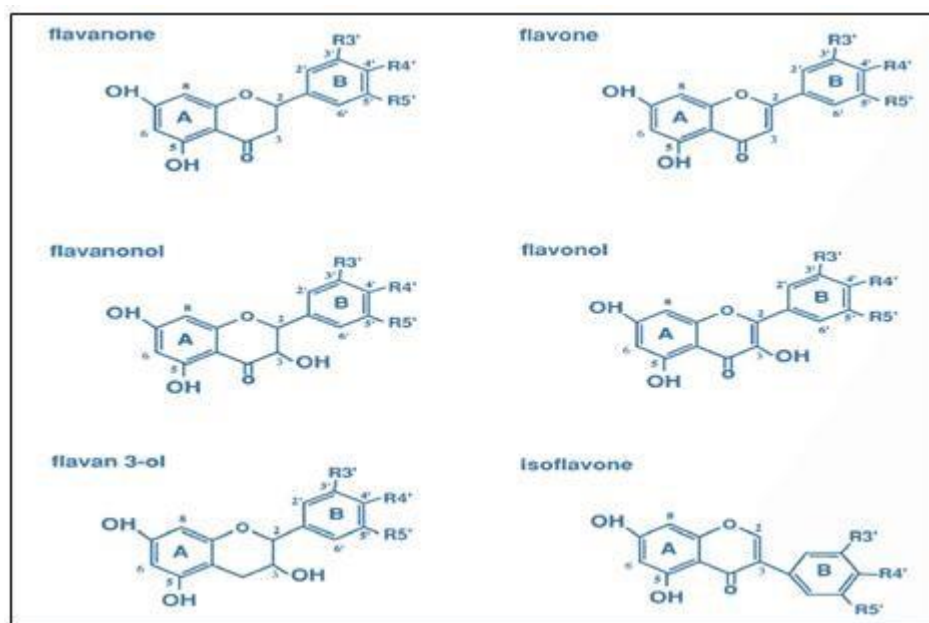


Figure 12 : Les différentes classes des flavonoïdes (Gamet-Payraastre, 1999)

III.1.1.3 Tannins :

le mot tannin est un terme provenant d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux (Hopkins, 2003). les tannins naturels sont des molécules polyphénoliques hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 300 et, qui outre les réactions habituelles des phénols, provoquent la précipitation des protéines (ou autres polymères) (Merghem, 2009). les tannins sont trouvés dans toutes les différentes

parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines (Scalbert et Williamson, 2000).

▪ **Classification :**

Les tannins se divisent en deux groupes qui se différencient de leur structure et de leur origine biologique.

- **Tannins hydrolysables :**

Ce sont des hétéro-polymères dont l'hydrolyse chimique ou enzymatique libère outre la molécule de glucose, de l'acide gallique dans le cas de gallotannins ou ses formes dimériques : acide m-digallique, acide ellagique dans le cas des ellagitannins (Fig.13) (Merghem, 2009).

- **Tannins condensés :**

Les tannins condensés sont chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités flavonoïdes. Les monomères précurseurs de ces molécules sont les flavan-3-ols (catéchine) et/ou les flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines), liés entre eux par des liaisons C-C très résistantes à l'hydrolyse. Les tannins condensés sont appelés proanthocyanidines parce que leur oxydation en milieu alcool-acide entraîne la formation de pigments anthocyanidiques tels que les cyanidines (à partir de procyanidines) et les delphinidines (Fig.13) (Khababae et Ree, 2001).

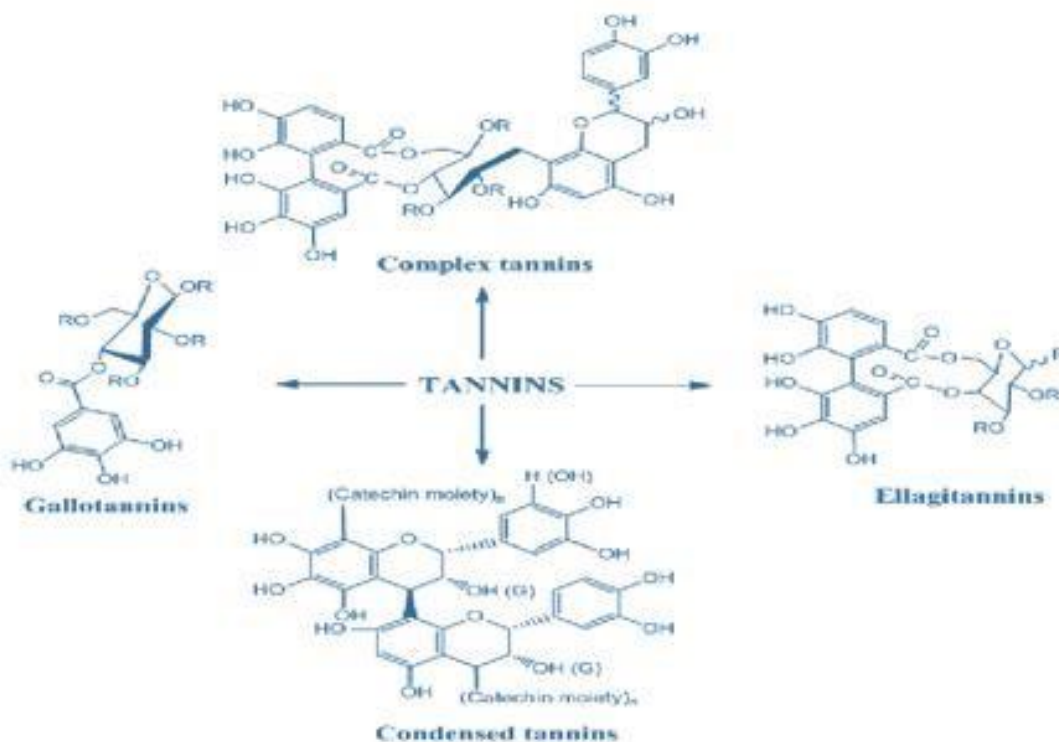


Figure 13 : Les différentes classes des tannins (Khababae et Ree, 2001)**III.1.1.4 Propriétés biologiques des polyphénols :**

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en général et les flavonoïdes en particulier sont repoussés en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités antiallergiques, anti-atherogéniques, anti-inflammatoires, hépatoprotectives, antimicrobiennes, antivirales, antibactériennes, anti-carcinogéniques, anti-thrombotiques, cardioprotectives et vasodilatatoires (Middleton *et al*, 2000 ; Ksouri *et al*, 2007).

En phytothérapie les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux autres polyphénols, donc chaque classe chimique est utilisée pour les bénéfices spécifiques (Hennebelle *et al*, 2004). Les composés des flavonoïdes ont le pouvoir d'empêcher les dommages oxydatifs soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxydes et peroxydes (Hodek, 2002), soit par chélation des métaux (fer et cuivre), ou bien par l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres (Benavente-García *et al*, 1997 ; Van Acker *et al*, 1998).

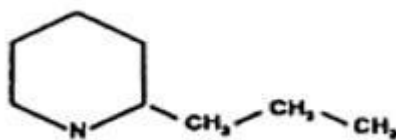
En ce qui concerne les tannins, le pouvoir antioxydant est une propriété très remarquable due à leur noyaux phénols et la présence des groupes di ou trihydroxyles sur le cycle B et les groupes méta 5, 7 dihydroxyles sur le cycle A. les tannins catéchiques chélatent les ions Cu^{2+} qui catalysent l'oxydation des lipoprotéines dans les macrophages *in vitro* (Yoshida *et al*, 1999).

III.1.2 Les alcaloïdes :

Un alcaloïde est un composé d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique, de distribution restreinte. L'appartenance aux alcaloïdes est confirmée par les réactions communes de précipitation avec les réactifs généraux des alcaloïdes (Merghem, 2009).

- **Classification :**

Les pseudo-alcaloïdes : ne possèdent pas l'azote intra cyclique et l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale : exemple la coniine (Fig.14) (Merghem, 2009).

**Figure 14** : Structure de Coniine (Vetter, 2004)

- **Les proto-alcaloïdes** : l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Ils sont élaborés à partir d'acides aminés, exemples : mescaline, hordénine, éphédrine, colchicine (Merghem, 2009).
- **Les alcaloïdes vrais** : que l'on classe suivant la nature de leur cycle. L'atome d'azote est inclus dans un hétérocycle ; biosynthétiquement formés à partir d'acides aminés (Merghem, 2009).

III.1.2.1 Activité biologique des alcaloïdes :

Les alcaloïdes provoquent chez l'homme diverses réponses physiologiques par ce qu'ils interfèrent avec les neurotransmetteurs. A forte dose la plupart des alcaloïdes sont très toxiques par contre à faible dose ils peuvent avoir une valeur thérapeutique. De la préhistoire jusqu'à nos jours, les alcaloïdes ou des extraits qui en renferment ont été utilisés comme médicaments relaxants musculaires, analgésique et tranquillisants (Hopkins, 2003).

III.1.3 Terpénoïdes :

Avec les polyphénols, les terpénoïdes sont classés aussi parmi les substances secondaires importantes du métabolisme chez les végétaux. Les terpènes peuvent être considérés comme étant des dérivés de l'isoprène d'où le nom d'isoprénoïdes sous lequel ils sont parfois désignés (Merghem, 2009).

▪ Classification :

Les composés terpénoïdes constituent un groupe de molécules très différentes tant d'un point de vue structurel que fonctionnel. Avec près de 15000 structures moléculaires connues, ils constituent probablement la classe la plus vaste et plus diversifiée de composés organiques végétaux (Hopkins, 2003).

La classification des terpénoïdes se concerne le nombre d'unités isopréniques qui les constituent (Fig.15).

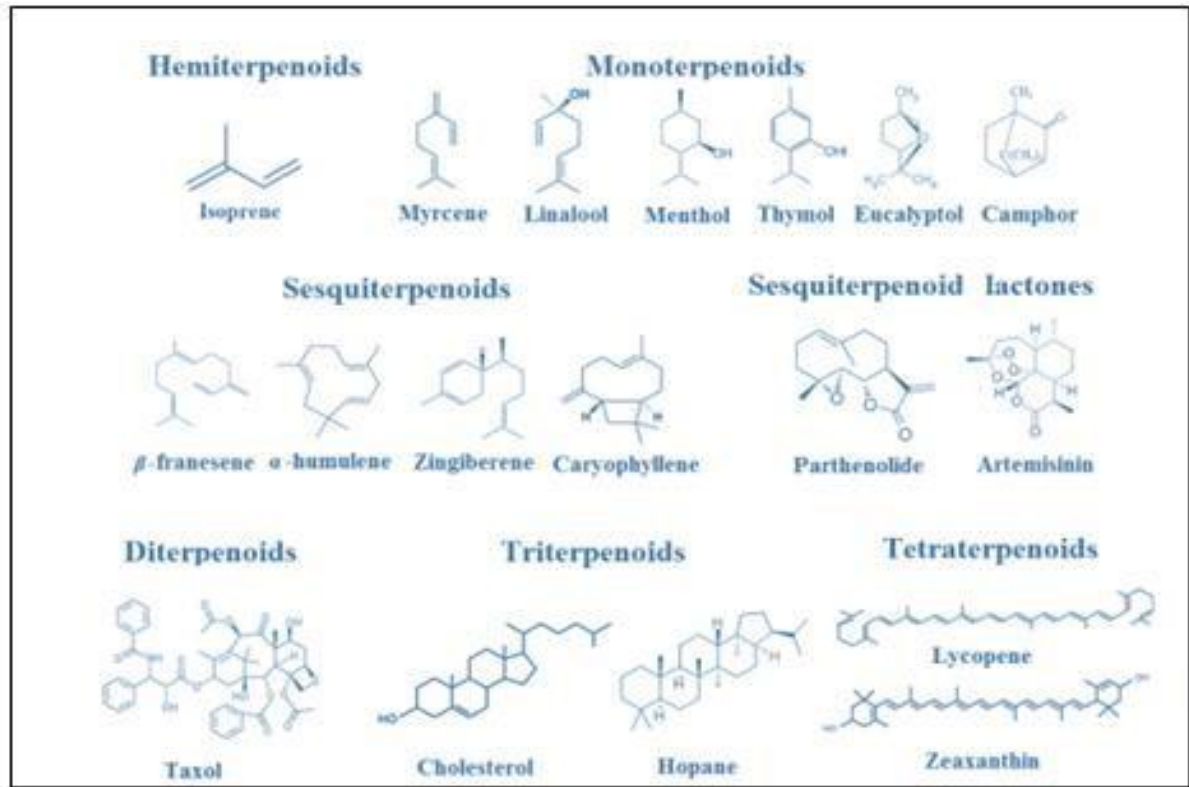


Figure 15 : Exemple de différentes classes de terpénoïdes (Abdallah et Quax, 2017)

PARTIE EXPÉRIMENTALE



CHAPITRE IV :

MATERIEL & METHODES

IV. Matériel et méthodes :

Au cours de cette étude nous nous sommes intéressés aux effets bénéfiques que l'on peut trouver en exploitant des composés naturels.

L'ensemble des manipulations ont été réalisés dans laboratoire de biologie (SNV) du centre universitaire Abdelhamid Ibn Baisse Mostaganem.

IV.1 Matériel végétal :

Les feuilles d'*Olea europaea* et de *Pistacia lentiscus* (**Fig.16**) utilisées dans cette étude ont été récoltées au mois de Mai 2022 de la région de Hadjadj (**Fig. 17**), wilaya de Mostaganem.



Figure 16 : a- Arbres + Feuilles d'*Olea europaea* b- Arbuste + Feuilles de *Pistacia lentiscus*



Figure 17 : Carte géographique de la zone d'étude (Google map)

IV.1.1 Préparation du matériel végétal :

Deux opérations de prétraitement de matériel végétal ont été effectués (séchage et broyage), pour faciliter l'extraction.

➤ Séchage :

Après la récolte les feuilles des deux espèces (*Pistacia lentiscus*, *Olea Europaea*), ont été nettoyées pour l'élimination de la poussière et les autres particules indésirables, puis séchées à température ambiante dans un endroit aéré, durant environ deux semaines en moyenne, jusqu'à ce que l'humidité disparaisse complètement ➤ **Broyage :**

Les feuilles sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. La poudre est ensuite tamisée et conservée dans un endroit sec et à T° ambiante jusqu'à l'utilisation (Alsulaymani *et al.*, 2021).

IV.2 Les souches bactériennes testées :

Les deux souches bactériennes destinées aux tests antibactériens sont *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, qui ont été obtenu auprès du laboratoire d'hygiène de Mostaganem.

- ***Staphylococcus aureus*** : est une coccobactérie Gram positif, catalase positive appartenant à la famille des Staphylococcaceae (Murray *et al.* 2003 ; Becker *et al.*, 2004). Il a un diamètre d'environ 0,5 à 1,5 µm, est immobile, asporulé et facultativement anaérobique (sauf *S.aureus anaerobius*) ; il est habituellement disposé en grappes. *S.*

aureus fait partie de la flore humaine et est surtout présent dans le nez et sur la peau (Kluytmans *et al.*, 1997).

- ***Pseudomonas aeruginosa*** : bactérie mobile aérobie Gram négatif, de 2 à 4 µm de longueur, en forme de bâtonnets renflés, avec un flagelle polaire qui joue un rôle important dans la pathogénicité (Kayser *et al.*, 2001 ; Willcox, 2007). C'est une bactérie asporulée et peuvent produire des pigments, tels que la pyocyanine (vert-bleu) et la pyorubrine (jaune-vert) fluorescentes (Enoch *et al.*, 2004). Elle peut sécréter un vaste éventail de toxines extracellulaires, notamment l'exotoxine A et des entérotoxines.

V. Méthodes :

V.1 Préparation de l'extrait Éthanolique :

➤ Méthode de Soxhlet :

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première. La séparation du solvant de l'extrait se fait à l'aide d'un rotavapeur (Penchev, 2010).

10 g de matériel végétale est disposé dans une cartouche cellulosique, puis la cartouche est introduite dans l'extracteur soxhlet équipé à sa base d'un ballon contenant 100 ml d'éthanol. Après 10±1 cycles, le solvant d'extraction est éliminé par l'évaporation sous pression réduite dans un rotavapeur pendant 2h.

L'extrait brut obtenu doit être conservé à 7 °C jusqu'à l'utilisation (Alsulaymani, 2021).

V.1.1 Calcul du rendement d'extrait :

Le rendement désigne la masse d'extrait déterminé après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale de la plante soumise à

$RT(\%) = (P_1 - P_2 / P_3) \times 100$ l'extraction. Le rendement exprimé en % est calculé par la méthode suivant :

P_1 : poids de ballon après évaporation P_2

: poids de ballon avant évaporation

P_3 : poids de la matière végétale de départ.

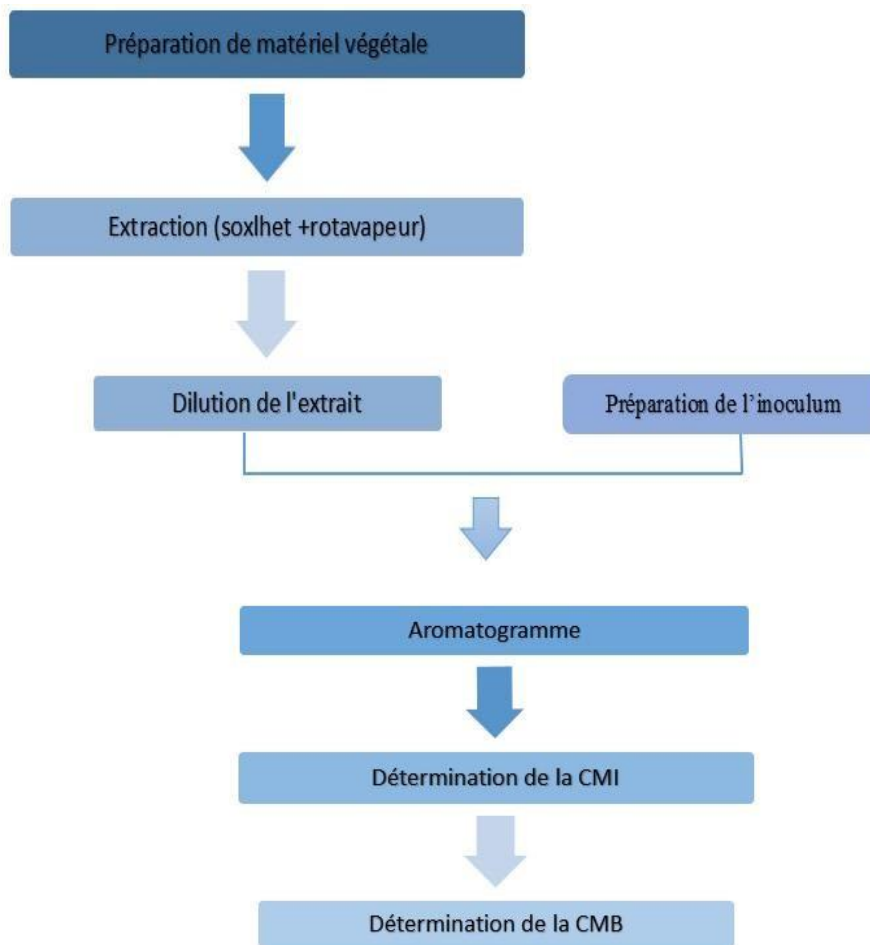


Figure 18 : Dispositif expérimental adopté pour ce présent travail

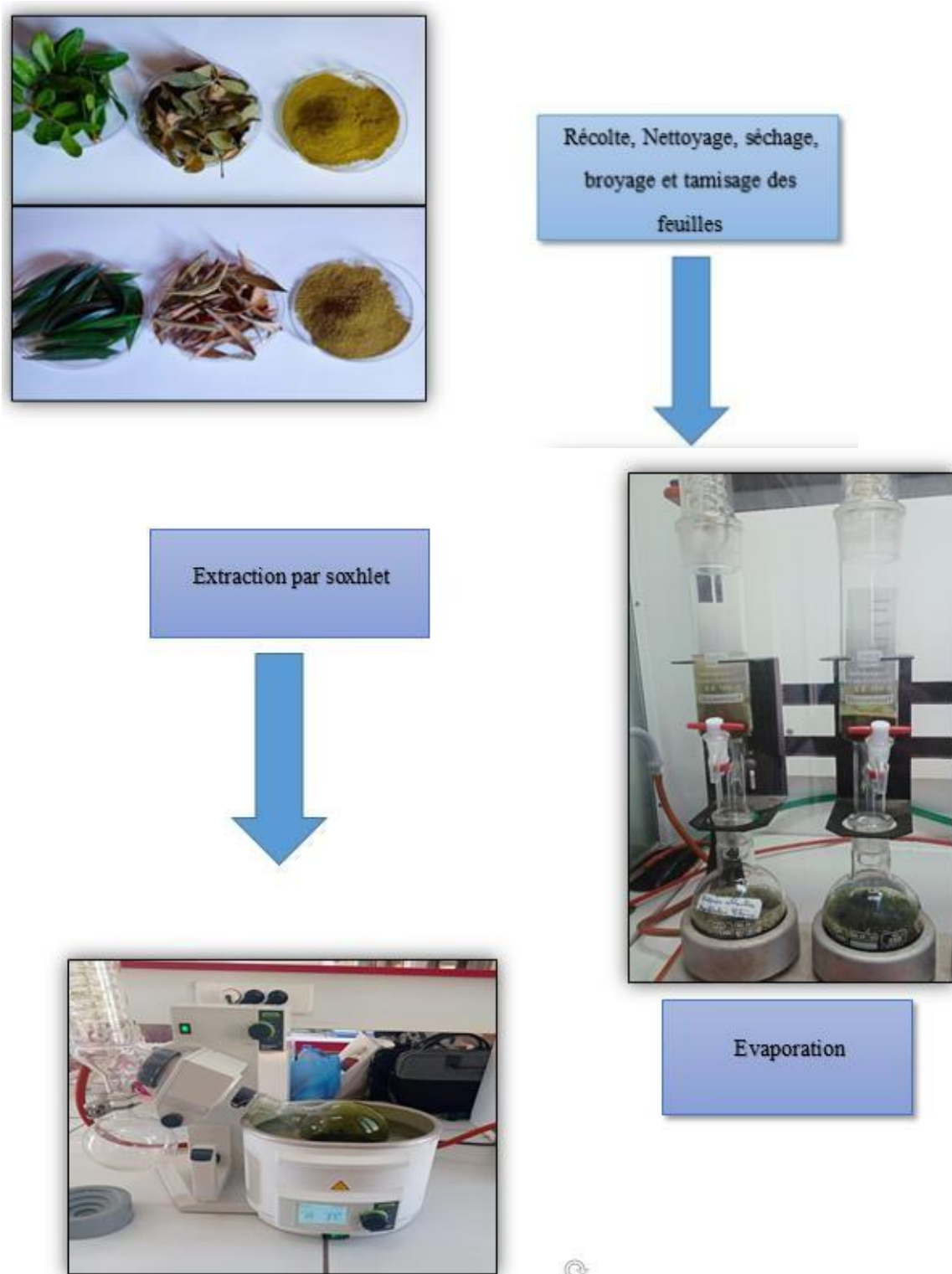


Figure 19 : Les étapes d'extraction des feuilles de *P. lentiscus* et *O. europaea* V.1.2

Préparation de l'extrait testé :

L'extrait éthanolique foliaire est solubilisé dans l'eau distillée stérile selon la méthode suivant : (10mg/1ml a 50mg/ml)

· T0 : 0 mg / 1 ml

- T1 : 10 mg / 1 ml
- T2 : 20 mg / 1 ml
- T3 : 30 mg / 1 ml
- T4 : 40 mg / 1 ml
- T5 : 50 mg / 1 ml

N.B : nous avons augmenté le volume à 5 ml.

V.2 Evaluation de l'activité antibactérienne :

L'activité antimicrobienne des extraits est déterminée par la méthode de diffusion sur milieu solide, des boîtes de pétri contenant 15 ml du milieu MH. Sont solidifiées et séchées à une température de 25°C pendant 30min. Par la suite ils sont ensemencés uniformément à l'aide d'un écouvillon trempé dans la solution standardisée de l'inoculum (10^8 UFC/ml). Selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA_SFM, 2017). Au bout de 5min, des disques stériles de 6mm de diamètre préparés à partir du papier Wattman sont imbibés avec 10ul de chaque extrait et sont déposés sur le milieu de la culture.

V.2.1 Préparation de l'inoculum :

Afin d'obtenir une culture jeune, les souches microbiennes sont ensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 24h. Après l'incubation, 4 à 5 colonies bien isolées ont été raclées à l'aide d'une anse de platine et déchargées dans l'eau physiologique (**Annexe 1**), la suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Ferland à une DO de 0.8 à 0.1 à 625 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est faiblement chargé, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop chargé (**Bammou et al., 2015**).

V.2.2 Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme) :

Pour déterminer l'efficacité antibactérienne des extraits des feuilles à l'égard des souches ciblées nous avons adopté : La méthode de diffusion sur disque, appelée aussi méthode de Vincent ou technique de l'aromatogramme mise au point par Schroeder et Messing en 1949. Cet examen se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques, préalablement sélectionnées et reconnues (**Bachiri et al., 2016**).

Dans notre travail, l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *Pistacia lentiscus* et *Olea europaea* est réalisée par la méthode d'aromatogramme cité par (Bouharb *et al.*, 2014).

V.2.3 Ensemencement :

La suspension préalablement ajustée à 0.08-0.1 de DO estensemencée par écouvillonnage dans les boites de pétri contenant le milieu MH gélosé (Annexe 2), on a trempé un écouvillon dans la suspension et on a étalé la surface entière de la gélose MH à trois reprises, en tournant la boite à environ 60° après chaque application dont le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum. L'ensemencement est terminé en passant l'écouvillon partout autour du bord de la surface de la gélose.

V.2.4 Dépôt de disques :

Des disques de papier wattman N°1 de 6 mm de diamètre, stérilisés auparavant, ont été déposés à l'aide d'une pince sur la surface des boitesensemencées précédament. Puis on dépose sur chaque disque 10 µl des concentrations croissantes d'extraits. Des disques de contrôle négatif sont imprégnés d'eau distillée stérile (témoin négatif). Les boites de pétri sont incubées à 37°C pendant 24 h. Les résultats sont exprimés en diamètre des zones d'inhibition produites autour des disques.

V.2.5 Lecture des résultats

L'activité antibactérienne est appréciée par la mesure des diamètres des zones Claire (en millimètres) qui se forment autour des disques. Le diamètre de ces zones d'inhibition inclue le diamètre du disque.

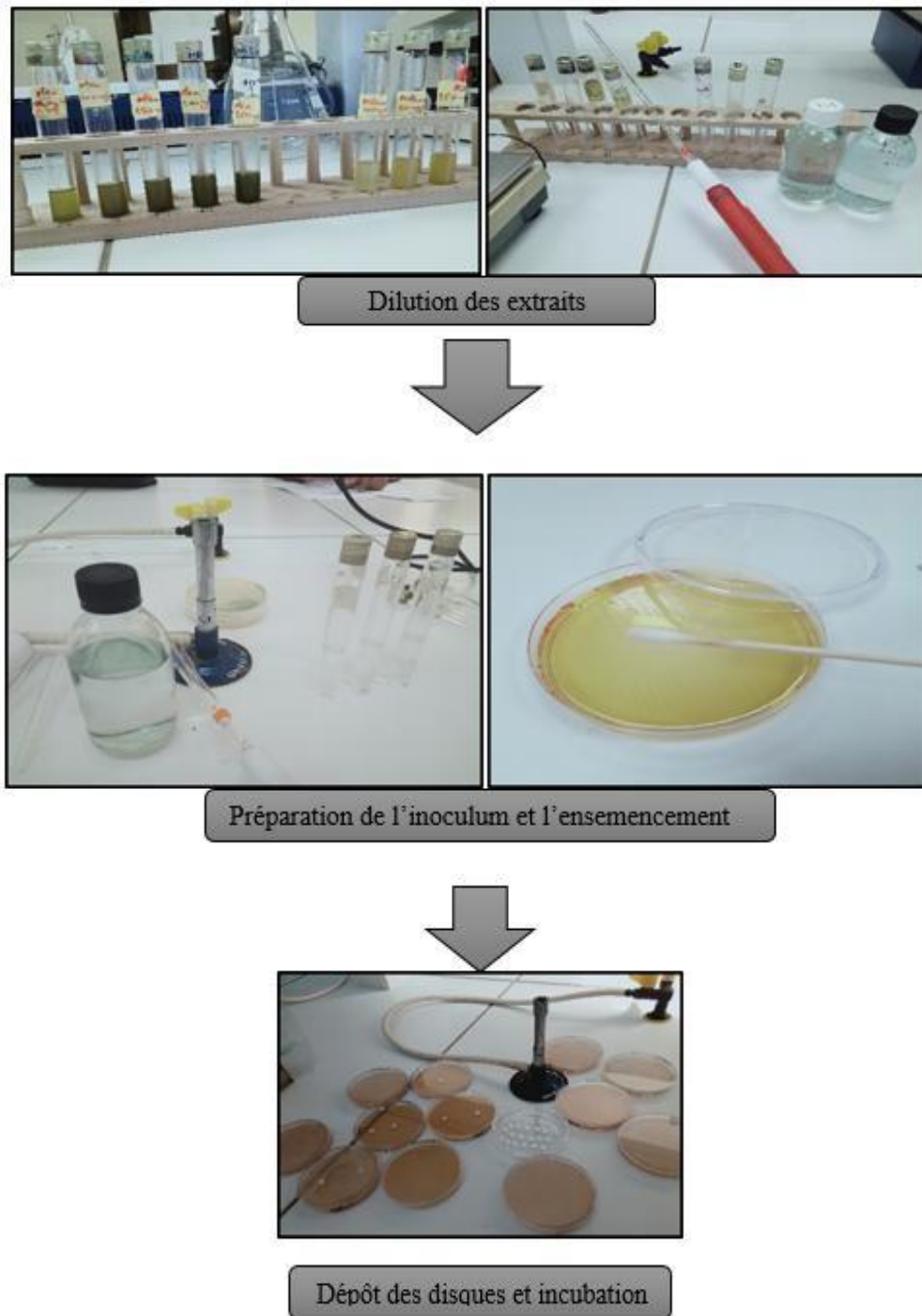


Figure 20 : Les principales étapes de l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques de *P.lentiscus* et *O.europaea*

V.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice :

Pour déterminé la CMI on a utilisé la méthode de dilution en milieu liquide (microplaque).

- **Préparation de la suspension bactérienne** : on a suivi le même protocole cité précédemment. Puis, on a dilué la suspension (4,5 ml MHB + 500 de suspension bactérien) pour obtenir une concentration 10^7

Une solution mère a été préparée à la concentration de 50mg/ml dans l'eau distillée. 100 l de milieu MHB a été déposé dans chaque puits de la microplaque (de puit 2 à 10). 200 l de la solution mère a été déposée dans le 1^{er} puit, et 100 de la même solution ont été déposés dans le 2^{ème} puit. Après homogénéisation par aspiration-refoulement à l'aide d'une micropipette on obtient 200 d'une solution d'extrait à 50mg/ml. 100 de cette nouvelle solution ont été prélevés et mélangés au milieu MHB contenu dans le 3^{ème} puit et ainsi de suite jusqu'au 10^{ème} puit dont on jette les 100. 90 de MHB a été déposé dans chaque puit. Enfin 10 de la suspension bactérien est ajouté dans les puits (1 à 10). Les 11^{ème} et 12^{ème} puits ont été respectivement le témoin positive et le témoin négatif (200 eau distillée stérile ; 200 inoculum), la microplaque a été incubé à 37°C pendant 24h (Boukhatem *et al.*, 2018).

La lecture est effectuée à l'œil nu ou avec l'ajout d'un colorant TTC (Annexe 3).

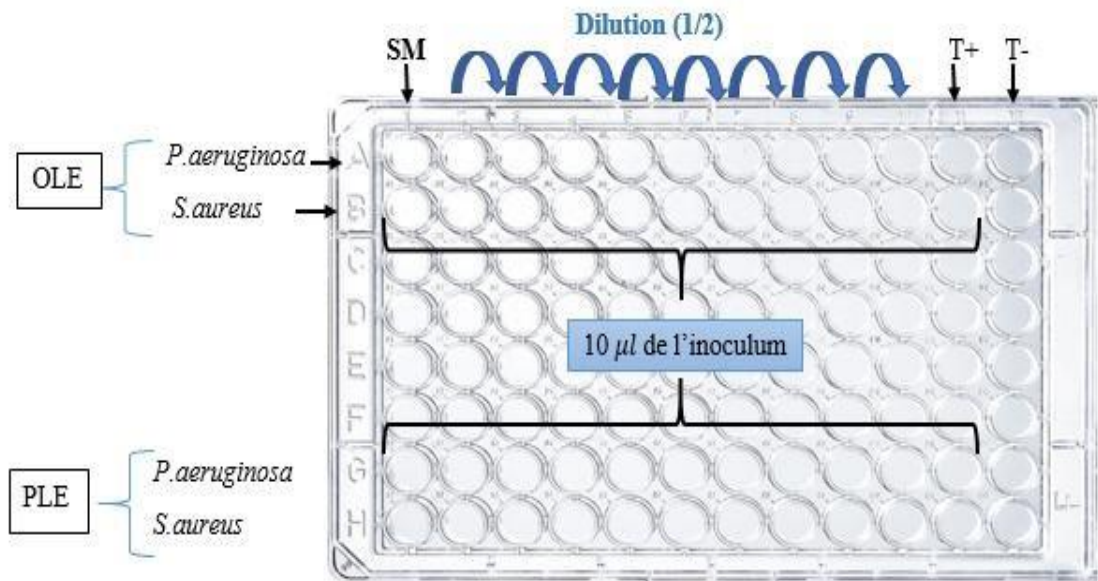


Figure 21 : Méthode de détermination de la CMI d'OLE et PLE par microplaque

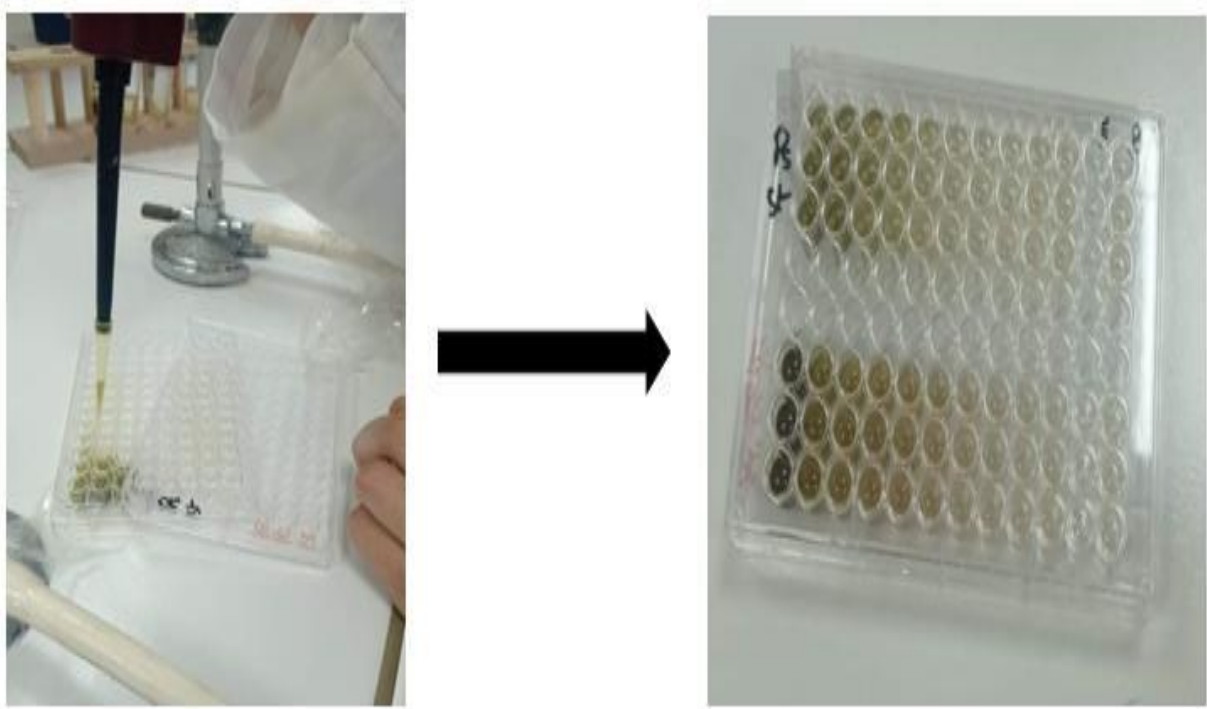


Figure 22 : Microplaque avec la suspension bactérienne -composé- MHB avant incubation à 37 ° C pendant 24 h

V.4 Détermination de la concentration minimale bactéricide :

La concentration Minimale Bactéricide est la plus petite concentration qui peut tuer ou éliminer les bactéries.

La valeur de CMB concordent d'une manière générale avec celles des diamètres d'inhibition, des résultats similaires ont été obtenu par **(Biyiti et al, 2004)** où Les extraits ayant induit une importante Zone présentent les plus petite CMB sur les souches correspondant.

Pour déterminer la CMB, un échantillon de 10 de chaque puits non coloré (absence de croissance) est transféré par ensemencement en strie dans des boites de pétri contenant 20 ml de MH. Les boites sont incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24h **(Eucast, 2003)**.

CHAPITRE VI :

RÉSULTATS & DISCUSSION

VI. Résultats et discussion

VI.1 Calcul de rendement d'extraction :

Le rendement des extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* et *Olea europaea* présenté comme suit (Fig.21) :

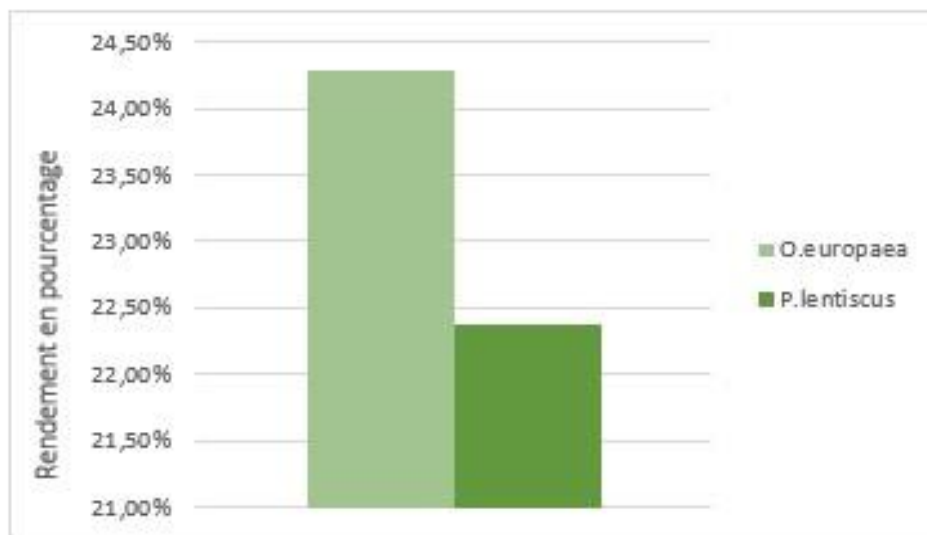


Figure 22 : Rendement des extraits éthanoliques de *P. lentiscus* et *O. europaea*

D'après nos résultats, le rendement le plus élevé a été obtenu avec l'extrait de *O. europaea* soit 24.30% tandis que le rendement de l'extrait de *P. lentiscus* est de 22.37%.

Le rendement n'est que relatif et dépend de plusieurs facteurs tels que : l'origine de la plante.

VI.2 Evaluation de l'activité antibactérienne :

L'étude de l'activité antimicrobienne des différents extraits (*Olea europaea* et *Pistacia lentiscus*) vis-à-vis des souches bactériennes testées à savoir Gram positif (*Staphylococcus aureus*), et Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa*) se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque imprégné d'extraits des deux espèces (*O. europaea* et *P. lentiscus*). Cette dernière est appréciée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle.

Les diamètres des zones d'inhibition obtenus avec les souches suscitée (Tab.5) varient de 00 à 43mm selon la souche et l'extrait testé.

La sensibilité des souches vis-à-vis les extraits éthanoliques foliaires étudiée est exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition observé selon l'échelle décrite par

- (Bouharb *et al.*, 2014) :
- $9 < \varnothing < 15$ mm : bactérie non sensible
 - $15 < \varnothing < 19$ mm : bactérie sensible
 - $\varnothing > 19$ mm : bactérie très sensible

20 mm : bactérie extrêmement sensible

Tableau 5 : Diamètre de zones d’inhibitions des extraits éthanoliques de *P.lentiscus* et *O.europaea* vis-à-vis de deux souches bactériennes (*S.aureus* et *P. aeruginosa*)

		Le diamètre en mm					
		0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	T
EEOL	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	10	30	38	-
	<i>S. aureus</i>	10	32	32	14	10	-
EEPL	<i>P. aeruginosa</i>	34	32	-	-	40	-
	<i>S. aureus</i>	35	40	43	36	20	-

● Souche sensible ● Souche extrêmement sensible

Selon les résultats obtenus, on peut remarquer que les extraits éthanoliques des deux plantes étudiées (*Pistacia* et *Olea*) montrent une inhibition de croissance des souches cibles par une variation des diamètres d’inhibition allant de 10 à 43 mm.

Une résistance est notée chez *P. aeruginosa* à la 1ère et la 2^{ème} concentration d’EEOL. En revanche, il y a une sensibilité remarquable à les concentrations (0.15g/5ml, 0.2g/5ml et 0.25g/5ml) d’EEOL avec des zones de 10 mm /30 mm/ 38mm respectivement.

On a noté une sensibilité modérée et une sensibilité élevée chez *S. aureus* à l’EEOL ; une sensibilité modérée avec des diamètres de 10mm, 14mm et 10mm à concentration de 0.05g/ml, 0.2g/ml et 0.25g/ml successivement et une sensibilité élevée avec un diamètre de 32mm à concentration de 0.1g/ml et 0.15g/ml.

L’EEPL a montré une activité inhibitrice importante vis-à-vis *S.aureus* à toutes les concentrations avec des diamètres varient entre 20mm à 43mm. Il a également une activité inhibitrice significative vis-à-vis *P. aeruginosa* à 0.05g/5ml, 0.1g/5ml et 0.25g/ml avec une zone d’inhibition de 34mm, 32mm et 40mm respectivement. Il y a une absence d’activité notée aux 3^{ème} et 4^{ème} dilutions (0.15g/5ml et 0.2g/5ml).

On a remarqué que les extraits éthanoliques foliaires des deux plantes étudiées ont une activité inhibitrice importante contre *Staphylococcus aureus* par rapport à leur activité chez *Pseudomonas aeruginosa*.

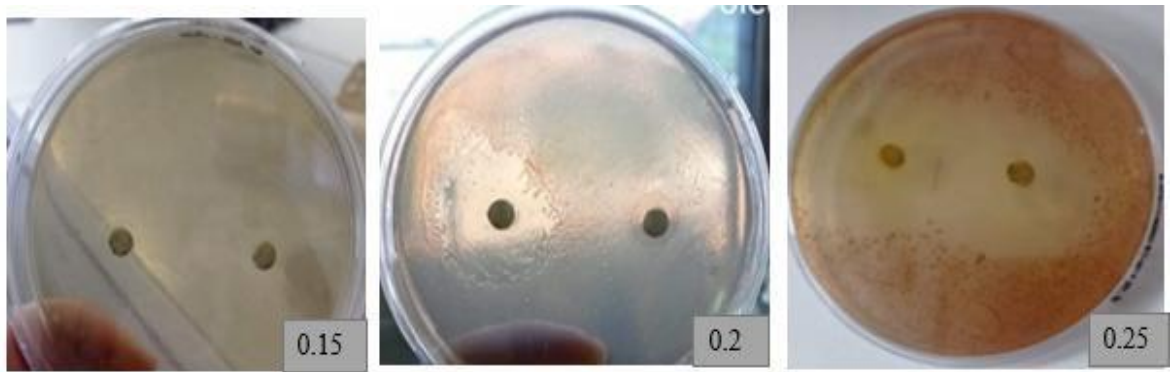


Figure 23 : Effet inhibitrice d'extrait éthanolique foliaire d'*Olea europaea* vis-à-vis *P. aeruginosa*

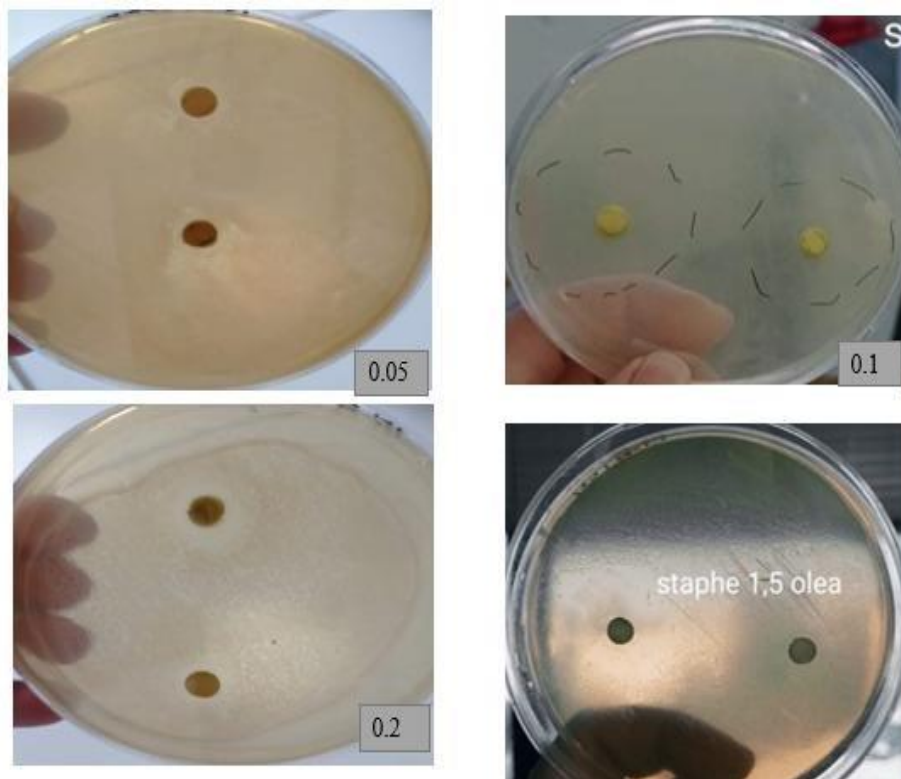


Figure 24 : Effet inhibitrice d'extrait éthanolique foliaire d'*Olea europaea* vis-à-vis *S.aureus*



Figure 25 : Effet inhibitrice de *P.lentiscus* vis-à-vis *P. aeruginosa*

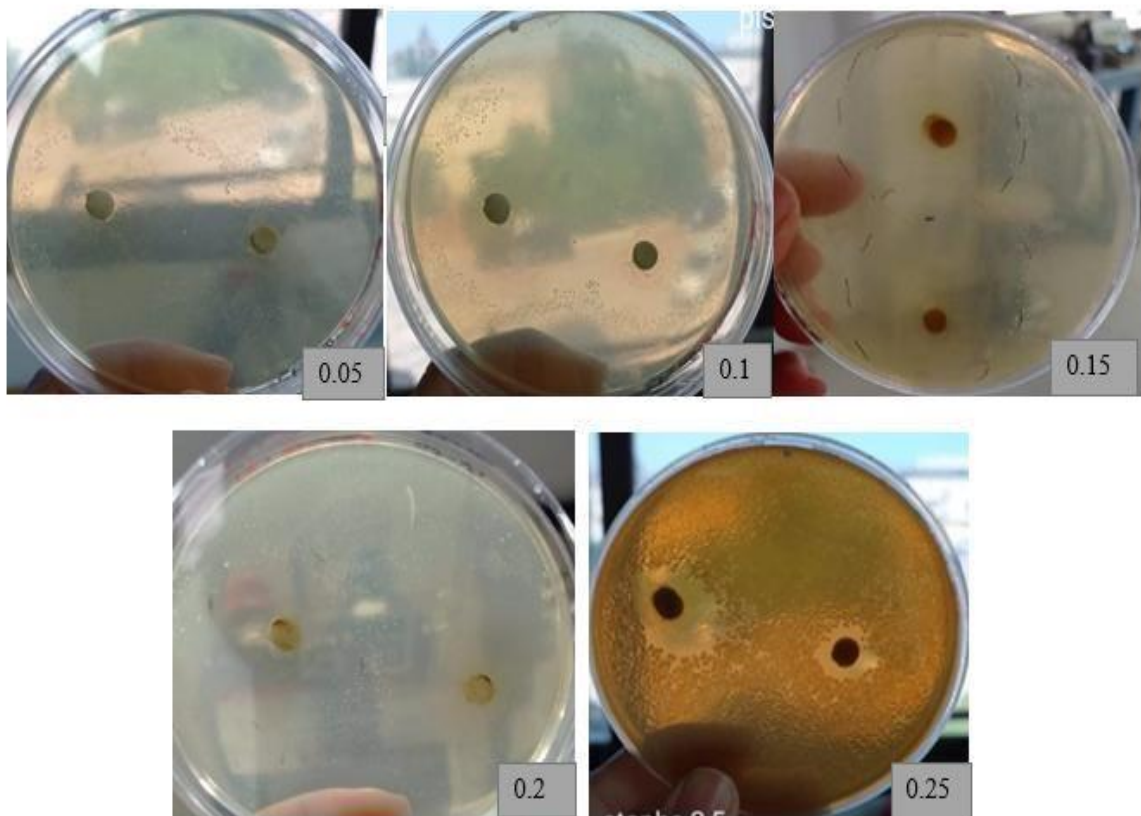


Figure 26 : Effet inhibitrice de *P. lentiscus* vis-à-vis *S. aureus*

Selon les résultats obtenus, on peut dire que l'extrait éthanolique foliaire des deux plantes (*P.lentiscus* et *O.europaea*) ont une activité antibactérienne qui varie d'une souche à une autre, cette activité peut être importante, modérée ou nulle selon la concentration de l'échantillon, et selon le degré de sensibilité.

Bouharb et al (2014) ont démontrés que l'extrait éthanolique de de *P.lentiscus* de

Bactéries testées (*P. aeruginosa*) les diamètres d'inhibition varient entre 12.66 ± 0.477 mm massif du Zerhoun de Maroc, présente une activité assez bien définie sur la croissance des et 12.83 ± 0.54 mm.

Les extraits de feuilles d'olive ont montré de bons effets inhibiteurs sur les bactéries pathogènes (**Aliabadi et al., 2012**)

Les activités antimicrobiennes de ces extraits sont difficiles à corrélées à un composé spécifique en raison de leur complexité et leur variabilité. Néanmoins, certains chercheurs ont signalé qu'il existe une relation étroite entre la composition chimique en éléments phénoliques et l'activité antimicrobienne (**Djenane et al., 2012**), y compris (**Benhammou et al., 2008**) qui ont indiqués que les activités antimicrobiennes sont probablement en relation avec la structure des composés phénoliques.

Selon **Cowan (1999)**, les polyphénols sont les principaux composés antimicrobiens des plantes possédants des modes d'activité inhibitrice et létales vis-à-vis d'un nombre important de microorganismes ce qui explique la différence de sensibilité d'une souche à l'autre.

L'efficacité optimal d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés contenue dans cet extrait (**Essawi et al., 2000**). Cela a été confirmé par **Lee et al. (2010)** qui ont indiqués que l'activité antimicrobienne des phénols combinés a montré des effets meilleurs que les phénols individuels utilisaient in vitro.

D'après **Tepe et al. (2004)**, les bactéries à Gram négatif, sont généralement résistantes aux agents antimicrobiens hydrophobes par la structure lipopolysaccharidique peut favoriser la résistance à ces agents. Cet effet dépend de la composition en lipide et de la charge extérieure nette des membranes microbiennes.

Il a été rapporté par **Shan et al (2007)** que la membrane des bactéries Gram positif peut être traversée facilement par les polyphénols qui peuvent atteindre leur site d'action. En effet, il a été démontré que les polyphénols détruisent la membrane plasmique, détériorent la force motrice des protons et le mouvement des électrons active le transport des contenus cellulaires.

Les bactéries à Gram positif sont généralement les plus sensibles aux effets de ces extraits polyphénoliques, cela est dû principalement aux peptidoglycanes constituant la

paroi. En effet, les bactéries perdent leur rigidité et se lysent sous leur pression osmotique interne qui rompt leur membrane cytoplasmique (Athamena *et al.*, 2010).

VI.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice :

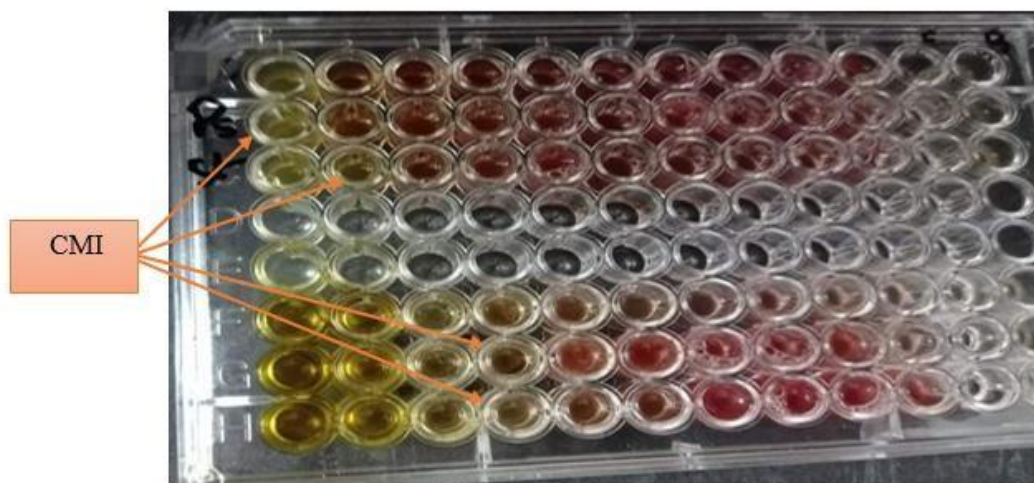


Figure 27 : Résultats de détermination de CMI en microplaque

Tableau 6 : Effet de différentes concentrations d'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus* et *Olea europaea* sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*

	[C] souches	SM	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	T-	T+
		EEOL	<i>S.aureus</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>P.aeruginosa</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
EEPL	<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
	<i>P.aeruginosa</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+

(+) : Présence de croissance (-) : Absence de croissance

D'après les résultats, la croissance de *S.aureus* et *P. aeruginosa* a été influencée par les concentrations des extraits éthanoliques de *P.lentiscus* et *O.europaea*.

Les puits non colorés indiquent une inhibition totale de croissance bactérienne. En revanche les puits colorés indiquent que les souches bactériennes ont une résistance significatif vis-à-vis l'EEOL et l'EEPL à des concentrations déterminées.

Pour le lentisque, on a enregistré la même valeur de CMI vis-à-vis *P. aeruginosa* et *S.aureus* (1/8) L'olivier inhibe la croissance de *S.aureus* à concentration (1/2). Par ailleurs, il inhibe la croissance de *P. aeruginosa* à une grande concentration (SM).

Nos résultats indiquent que l'EEPL a un effet plus prononcé contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* en termes de valeur de CMI qui correspond à 1/8. Ce qui signifie que les deux souches bactériennes sont plus sensibles à l'EEPL qu'à l'EEOL.

Ces résultats se confirment les résultats précédents d'Aromatogramme.

VI.4 Détermination de la concentration minimale bactéricide :

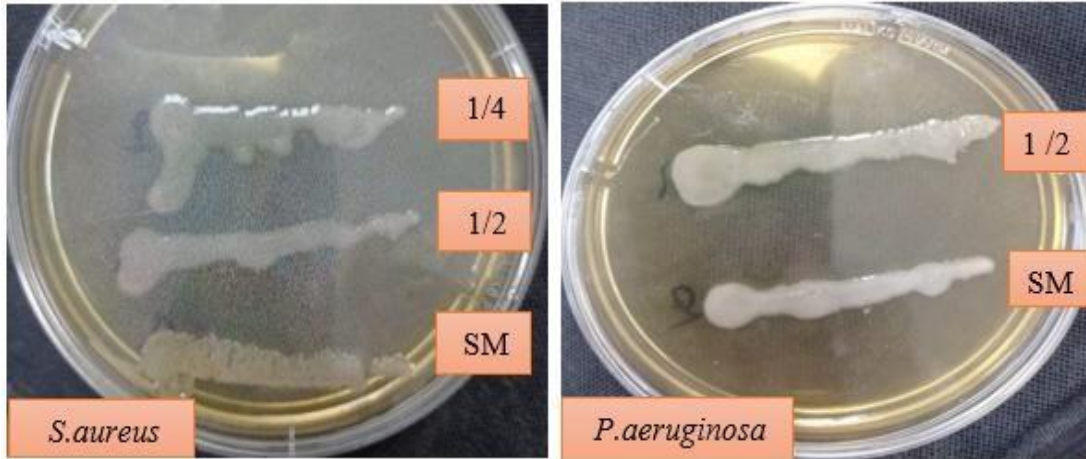


Figure 28 : Effet bactéricide d'EEOL vis-à-vis *P. aeruginosa* et *S.aureus*

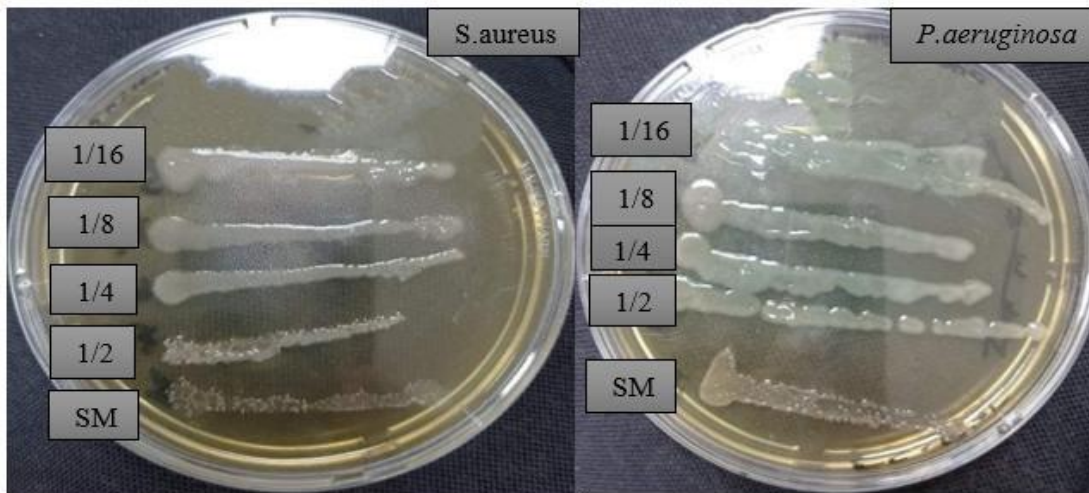


Figure 29 : Effet bactéricide d'EEPL vis-à-vis *P. aeruginosa* et *S.aureus* **Tableau 7 :**

Résultats de la concentration minimale bactéricide de l'olivier et *Pistacia lentiscus*

		SM	1/2	1/4	1/8	1/16
EEOL	<i>P.aeruginosa</i>	+	+	+	/	/
	<i>S.aureus</i>	+	+	/	/	/
EEPL	<i>P.aeruginosa</i>	+	+	+	+	+
	<i>S.aureus</i>	+	+	+	+	+

(+) : Présence de croissance

- La concentration Minimale Bactéricide (CMB). Correspond à la plus faible concentration en l'extrait foliaire capable de tuer plus 99,9% de l'inoculum microbien initial (soit moins de 0,1% de survivants), Ce dernier signifie que nous pouvons observer le résultat à l'œil nu, en observant l'absence complètement de croissance bactérienne.
- D'après nos résultats, on n'a pas pu arriver de déterminer la concentration minimale bactéricide. En outre, on ne peut pas confirmer si les deux plantes ont un effet bactéricide vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.
Ces résultats préliminaires peuvent être complétés par d'autres études. Nous recommandant d'élargir la valeur de concentration pour obtient des résultats mieux pour des études future.

Conclusion :

De nos jours. Un grand nombre de plantes médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacologie, cosmétologie, et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retrouvent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.


Les extraits naturels issus des plantes contiennent des métabolites secondaire l'origine d'un effet inhibiteur envers les microorganismes.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés aux effets antimicrobiens des extraits Éthanolique des feuilles d'*Olea europaea L.* Et de *Pistacia lentiscus*. Plantes largement utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde .des extraits éthanolique foliaires d'olivier et *Pistacia lentiscus* sont préparé, l'effet antimicrobien de ces composés est déterminé, par la Méthode de diffusion sur milieu solide vis-à-vis de deux souches bactériennes *Pseudomonas aeruginosa* Gram négatif (-), *Staphylococcus aureus* Gram positif (+). Ces composés se sont révélés actifs contre l'ensemble des bactéries testées.

L'extrait éthanolique foliaires de *Pistacia lentiscus* ont montré une forte activité vis-à-vis *S. aureus* avec des diamètres de 35 mm, 40 mm et 43mm respectivement, la souche *Pseudomonas aeruginosa* ont marquées des zones inhibitions significantes avec des diamètres de 34 mm, 32 mm respectivement, en revanche extrait éthanolique foliaires de Olivier marquée une activité vis-à-vis *S.aureus* avec des diamètres 10 mm, 32 mm et 14 mm respectivement. La souche *Pseudomonas aeruginosa* marquées des zones d'inhibition Avec des diamètres de 10 mm, 30 mm et 38 mm respectivement.

La Concentration Minimal Inhibitrice (CMI) indiqué que l'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus* sont les plus performants vis-à-vis les deux souches testées (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*).

L'ensemble de ces résultats a permis de mettre en évidence les effets bénéfiques qui peuvent être mis à profit par l'utilisation des plantes. Pour une meilleure valorisation de ces ressources naturelles de nombreuses perspectives peuvent être envisagées.



Élargir l'éventail des espèces microbiennes testées et faire des associations entre ces extraits pour voir d'éventuel effet synergique.

Approfondir l'investigation photochimique et molécules responsable des activités observé, ce qui permettra d'élargir l'arsenal. Thérapeutique des médicaments à base de plantes.

Évaluer in vitro d'autres activités biologiques à savoir l'activité antiulcéreuse, anticancéreux, anti-oxydante, antimitotique et procéder à des tests in vitro.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- **Abdallah, I. I., & Quax, W. J. (2017).** A Glimpse into the Biosynthesis of Terpenoids. *KnE Life Sciences*, 3(5), 81-98.
- **Addab, N., Fetni, S., Hamlaoui, F., Zerguine, A et Mahloul, K (2020).** Evaluation comparative de l'activité anti-oxydante des extraits éthanolique des feuilles d'*Olea europaea L.* de l'Est Algérien. *Journal de la Faculté de Médecine Oran* 4(2), 579- 586.
- **Aiche – Iratni Ghenima. (2016).** Activités biologique, d'intérêt médical, d'extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* et d'*Origanum majorana*. Doctorat en science biologique. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- **Aliabadi M. A., Darsanaki R. K., Rokhi M. L., Nourbakhsh M et Raeisi G (2012).** Antimicrobial activity of olive leaf aqueous extract. *Annals of biological research*. 3(8) : 4189-4191.
- **Alsulaymani, F.A., Elmhdwi, M.F.,Gaber, S.,El Aali, N.M.,Mohammed, M.I, et Abduulsalam, A.A (2021).**In vitro antioxidant and antibacterial activity of olive leave extract.*Jornal of pharmaceutical and applied chemistry* 7(2):41-47.
- **Amouretti M.C et Comet G (1985).** Le livre de l'olivier. Edi sud. 56 - 90 pages.
- **Andrew, C (2016).**Encyclopedia of Herbal Medicine: 550 Herbs and Remedies for Common Ailments, 3ème edition, DK, 336p.
- **Aouidi F (2012).** Etude et valorisation de feuilles d'olivier *Olea europea* dans l'industrie agro-alimentaire, Thèse de Doctorat, Université de Cartage, Tunisie, 213p.
- **Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., & Khebri, S (2010).** Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de cuminum cyminum L. *Lebanese science journal*, 11 (1), 69 – 81.
- **Aziba, L., Debbache, B.N., DaCosta, G., Atmani, K.D., Saidenea, N., Ayounia, K., Richard, T., Atmania, D. (2019).** *Pistacia lentiscus* leaves extract and its major phenolic compounds reverse aluminium-induced neurotoxicity in mice. *Industrial Crops & Products*, 137, 576–584.
- **BABA AÏSSA F (1990).** les plantes médicinales en Algérie. Ibn Sina. p 181.
- **Babouche, N et Kellouche, A (2012).** Etude de l'entomofaune de l'olivieraie de la région de Tizi-Ouzou. 6p. Laboratoire d'entomologie. Département de Biologie. Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques. Université de Tizi-Ouzou Algérie.
- **Bachiri, L., Echehegadda, G., Ibjibijen, J., Nassiri, L (2016).** Etude phytochimique et activité antibactérienne de deux Espèces de *Lavande autochtones* au Maroc : « *Lavandula stoechas L* et *Lavandula dentata L* ». *European Scientific Journal*, ESJ 12.

- **Bammou, M., Daoudi, A., Islimani, I., Najem, M., Bouiamrine, E., Ibijbijen, J et Nassiri, L (2015).** Valorisation du lentisque « *Pistacia lentiscus L.* » : Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien .Journal of Applied Biosciences, 86,7966– 7975.
- **Beck J.S., Danks F (1983).** Determinación del umbral de tratamientos para la mosca del olivo (*Bactrocera oleae* Gmel, Diptera, Tephritidae) en olivar destinado à la producción de aceite. Bol.Sanid. Vegetal Plagas Vol. 21 n° 4, 1995. P. 577-588.
- **Becker, K., Harmsen, D., Mellmann, A., Meier, C., Schumann, P., Peters, G., & von Eiff, C. (2004).** Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of *Staphylococcus* species. Journal of Clinical Microbiology, 42(11), 4988-4995.
- **Belhadj, S (2001).** Les pistacheraies algériennes : Etat actuel et dégradation. Cahiers Option Méditerranéennes, (56), 107-109.
- **Ben Douissa, F., Hayder, N., Chekir-Ghedira, L., Hammami, M., Ghedira, K. and Mariotte Dijoux-Franca, A.-M (2005)** New Study of the Essential Oil from Leaves of *Pistacia lentiscus L.* (Anacardiaceae) from Tunisia. Flavour and Fragrance Journal, 20, 410-414.
- **Ben, F., Romdan, CH., Bougerra, O., Sahnoun, CH., Loussaies V., Kacem, M., Mastouri, R., Tavka-Stanbouli, M., Chakroun, V et Bouzouaïa, N (2005).** Les bactéries multi résistantes isolées chez les malades hospitalisés dans un service de maladies infectieuses. Rev. Tin Infectiol., 1(4), 12- 15.
- **Benavente-García, O., Castillo, J., Marin, F. R., Ortuño, A., et Del Río, J. A (1997).** Uses and properties of citrus flavonoids. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45(12): 4505-4515.
- **Benhammou N., Bekkara F.A., Kadifkova P.T (2008).** Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2(2), 022-028.
- **Benmehdi, I (2012).** contribution à une étude phyto-écologique des groupements à *Pistacia Lentiscus* du littoral de Honaine (Tlemcen, Algérie occidentale).Magister. Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen.
- **Bensemmane A (2009).** L'oléiculture : Développons le secteur de l'Huile d'Olive en Algérie. Revue Fillaha Innove N°4 Avril-Mai 2009. 23p.
- **Bouabdallah, A (2014).** Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier sauvage (*Olea europaea sylvestris*). Mémoire de Master. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie.

- **Bouharb H., El Badaoui K., Zair T., El amri J., Chakir S. et Alaoui T. (2014).** Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Applied Biosciences. 78:66856693.
- **Boukhatem, T., Chadli, R., Bouchama, A., Hamed, D (2018).** Cytotoxicity test on artemia salina, antibacterial and antifungal activities of *Cystoseira Stricta* extracts from the coast of Mostaganem, western Algeria. J.Mater. Environ. Sci. 9 (12), 3190-3196.
- **Bouras N (2015).** Faisabilité de mise en place d'une indication géographique sur l'olive de table variété " SIGOISE", Thèse, ENSA. de Sig-W. Mascara.
- **Bozorgi, M., Memariani, M., Mobli, M., Hossein, M., Salehi S., Reza, M., Ardekani, S., Rahimi, R (2013).** Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. The ScientificWorld Journal, 10, 2-28.
- **Breton, C., Médail, F., Pinatel, C., et Bervillé, A (2006).** De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'*Olea europaea* L dans le bassin méditerranéen. Cahiers Agricultures, 15(4) :329-336.
- **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} éd. Lavoisier. 942 - 945.
- **Bruneton, J (1993).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Paris : éditions médicales internationales. Editions Tec et Doc Lavoisier. 409-417.
- **Caturla N., Perez-Fons L., Estepa A., Micol V (2005).** Differential effects of oleuropein, abiophenol from *Olea europaea*, on anionic and zwitterionic phospholipid model membranes. Chem Phys Lipids, Vol 137, 2-17.
- **Claude M-M., Françoise D. (2007).** Herbar méditerranéen. Paris, P : 9.
- **Coste, H (1937).** Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes. Second Tirage, Paris - Librairie des Sciences et des Arts, 522p.
- **Cowan, M. M (1999).** Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews 12(4) : 564-582
- **Cronquist A. (1981).** An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press. ESTEM. 210, 414-415.

- **Djenane, D., Yanguela, J., Derriche, F., Bouarab, L. et Roncales, P (2011).** Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. *Nature & Technologie*.
- **Edenharder, R., et Grünhage, D (2003).** Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 540(1) : 1-18.
- **Elgubbi, H., Alfageih, L., Zorab, A., Elmeheshi, F (2017).** *Pistacia lentiscus* Tree and its Role in Riddance of some Environmental Polluters. *ECronicon Open access*, 10, 8-14.
- **Emberger L (1960).** Les végétaux vasculaires. Edition : Société Linnéenne de Lyon. 125127 pages.
- **Enoch, D. A., Simpson, A. J., & Kibbler, C. C (2004).** Predictive value of isolating *Pseudomonas aeruginosa* from aerobic and anaerobic blood culture bottles. *Journal of Medical Microbiology*, 53(Pt 11), 1151-1154.
- **Essawi, T et Srour, M (2000).** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J Ethnopharmacol. Jun ; 70 (3) : 343-9.*
- **Faostat. (2013).** Techniques culturales pour le contrôle de la fructification chez l'olivier. *Revue Olivae. P. 38-41.*
- **Farhoosch, R., MH Tavassoli-Kafrani., A Sharif (2011).** *Food chemistry*, 126(2), 583-9.
- **Gamet-Payrastre L., Manenti S., Garatacap M. P., Tulliez J., Chap H., et Payrastre B. (1999).** Flavonoids and the inhibition of PKC and PI3-kinase. *General Pharmacology*, 32: 279- 286.
- **Garcia, OB ; Castillo, J ., Lorente, J ., Ortuno, A (2000).** Del-Rio, JA Activité antioxydante de composés phénoliques extraits de feuilles d'Olea europaea L. *Food Chem.*, 68, 457– 462.
- **GARDELI. C., VASSILIKI. P., ATHANASIOS. M., KIBOURIS. M., KOMAITIS. M. (2008).** Essential Oil Composition of *Pistacia Lentiscus L.* And *Myrtus Communis L.* Évaluation of Antioxidant Capacity of Methanolic Extracts. *Food chemistry*. 107 (3). 11201130.
- **Ghalem, B.R et Benhassaini, H(2007).** Etude des phytostérols et des acides gras de *Pistacia atlantica*. *Afrique SCIENCE* 03(3), 405 – 412.

- **Ghedira, K. (2008).** L'olivier phytothérapie, vol 6(2) : 83-89.
- **Green PS (2002).** A revision of *Olea*. (Oleaceae). Kew Bull ; 57 : 91-140.
- **Guignard et Dupont, (2004).** Botanique systématique moléculaire. 13^{ème} Eds. Masson. Paris. France. 164-179p.

- **Hans, W et Kothe (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Ed : Terre : 242.
- **Havsteen, B. H (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacology & therapeutics, 96(2) : 67-202.
- **Hayder, R. B. Ammar, A. Abdelwahed et al.,** “Antibacterial and antimutagenic activity of extracts and essential oil from (Tunisian) *Pistacia lentiscus*,” Toxicological & Environmental Chemistry, vol. 87, no. 4, pp. 567–573, 2005.
- **Hennebelle, T., Sahpaz, S., et Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie, 2(1) : 3-6.
- **Hodek, P., Trefil, P., et Stiborová, M. (2002).** Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. Chemico-biological interactions, 139(1) : 1-21.
- **Hopkins. William, G (2003).** Physiologie végétale de bock université 2^{ème} édition. p276.268.

- **Iserin, P (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins, 2^{ème} édition, Larousse, 336p.

- **Kayser, F. H., Bienz, K. A., Eckert, J., & Zingernagel, R. M. (Eds.) (2001).** Medical Microbiology (10th Ed.). Stuttgart, Germany: Georg Thieme Verlag.
- **Khanbabaee, K. and Ree, T. V (2001).** Tannins : Classification and definition. Natural Product, 18: 641-649.
- **Khiari, M.b., Kechrid, Z., Klibet, F., Elfeki, A., Shaarani, M.D.S., Krishnaiah, D (2018).** Preventive effect of *Pistacia lentiscus* essential oil. Toxicology reports, 549, 1-29.
- **Kluytmans, J., van Belkum, A., & Verbrugh, H (1997).** Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clinical Microbiology Reviews, 10(3), 505-520.
- **Krief, S (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p

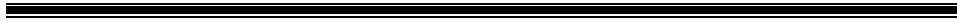
- **Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., et Abdelly, C (2007).** Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(3) : 244-249.
- **Kumar, Set Pandey, A.K (2013).** Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The scientific World Journal*.
- **Lee O.H., Lee B.Y (2010).** Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresource Technology*. 101(10), 3751-3754.
- **Lee, O. H., Lee, B. Y., Lee, J., Lee, H. B., Son, J. Y., Park, C. S., ... & Kim, Y. C (2009).** Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresource technology*, 100(23), 6107-6113.
- **Loussert. R., Brousse. G. (1978).** L'olivier. Techniques agricoles et productions méditerranéennes. (Eds.) Maisonneuve et Larousse, Paris, France, 480 p.
- **Lucienne A.D (2010).** Les plantes médicinales d'Algérie. 2ème Ed. Berti. Algérie. 239p.
- **Macheix, J.J., Fleuriot, A. et Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolite secondaires d'importance économique. Ed : 9 presses polytechnologiques et universitaires romandes. P 4-5.
- **Merghem, R (2009).** Elément de biochimie végétale. Bahaeddine. Constantine, Algérie. p. 171.
- **Middleton, E., Kandaswami, C et Theoharides, T. C (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52(4) : 673-751
- **Milia, E., Bullitta, S.M., Mastandrea, G., Szotáková, B., Schoubben, A., Langhansová, L., Quartu, M., Bortone, A., Eick, S (2021).** Leaves and Fruits Preparations of *Pistacia lentiscus* L. A Review on the Ethnopharmacological Uses and Implications in Inflammation and Infection. *Antibiotics*, 10, 425.
- **More, D et White, J (2005).** Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde. Flammarion. 18-24 p.
- **Mukohata, Y, Nakabayashi, S., Higashida, M (1978).** Quercetin, an energy transfer inhibitor in photophosphorylation. *FEBS letters*, 85: 215-218.

- **Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., Pfaller, M. A., & Tenover, R. H. (Eds.). (2003).** Manual of Clinical Microbiology (8th ed.). Herdon, VA, United States of America: American Society for Microbiology.
- **Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R., et Krishna D. R (2001).** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian journal of pharmacology, 33 : 2-16.
- **Penchev, P.I (2010).** Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de doctorat. Université de Toulouse.
- **Quèzel, P., et Santa, S (1963).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Paris C.N.R.S., 2 volumes. 1170p.
- **Saad, D (2009).** Etude des endomycorhizes de la variété sigoise d'olivier (*Olea europaea* L) et essai de leur application a des boutures semi-ligneuses. Mémoire de Magister, université d'Oran.
- **Samuelsson, G (1951).** Facteur abaissant la pression artérielle dans les feuilles d'*Olea europaea*. Farmaceutisk Revy, 15, 229-239.
- **Sarni-Manchado, P. & Cheynier, V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Tec et Doc Lavoisier, 02-11.
- **Scalbert, A et Williamson, G (2000).** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. J. Nutr., 130, 2073-2085.
- **SEKOUR B (2012).** phytoprotection de l'huile d'olive vierge (H.O.V) par ajout des plantes végétales (thym, ail, romarin) mémoire de magister, université de Boumerdes.
- **Shan, L., HE, P et Sheen, J (2007).** Intercepting host MAPK signaling cascades by bacterial type III effectors. Cell Host Microbe.1:167-174.
- **Smail-Saadoun, N (2002).** Types stomatique du genre *Pistacia* : *Pistacia atlantica* Desf.ssp.*Atlantica* et *Pistacia lentiscus* L.p369.
- **Smail-Saadoun, N (2005).** Stomata types of *Pistacia* genus: *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *Atlantica* and *Pistacia lentiscus* L. Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens, (63), 369-371.
- **Somson, E (1987)** Arbres, arbustes et arbrisseaux en Algérie. Facul Sci. Univ. Alger. I.N. Agronomique. El Harrach (Alger). 143 p.

- **Tepe, B., Donmez, E., Unlu, M., Candan, F., Daferera, D., Vardar-Unlu, G., Polissiou, M et Sokmen, A (2004).** Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* and *Salvia multicaulis* (Vahl). Food Chem. March.84 (4):519-525.
- **Terral J. F., Arnold-Simard G (1996).** Beginnings of olive cultivation in eastern Spain in relation to Holocene bioclimatic changes. Quaternary Res., 46:176–85.
- **Torkelson A. R (1996).** The Cross Name Index to Medicinal Plants. CRC Press. p 1160.
- **Tourte Y., Bordonean M (2005).** Le monde des végétales : organisations, physiologie et génomique. Eds. Dunod. Paris. France. PP 25-26.
- **Tsimogiannis, D. I., et Oreopoulou, V (2006).** The contribution of flavonoid C-ring on the DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 7(1): 140-146.
- **Van Acker, S. A., van Balen, G. P., van den Berg, D. J., Bast, A., et van der Vijgh, W.J. (1998).** Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. Biochemical pharmacology, 56: 935-943
- **Verpoorte R., et Alfermann A.W (2000).** Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism. Edition Kluwer Academic. p 1-23.
- **Vetter, J (2004).** Poison hemlock (*Conium maculatum L.*). Food and Chemical Toxicology. Volume 42. p.p.: 1373-1382.
- **Willcox, M. D. (2007).** *Pseudomonas aeruginosa* infection and inflammation during contact lens wear: a review. Optometry and Vision Science: Official Publication of the American Academy of Optometry, 84(4), 273-278.
- **Yakhlef, G (2010).** Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus Vulgaris L* et *Laurus Nobilis L.* Magister. Université El Hadj Lakhdar, Batna.
- **Yao, L. H., Jiang, Y. M., SHI, J., Tomas-Barberan, F. A., Datta, N., Singanusong, R., et Chen, S. S (2004).** Flavonoids in food and their health benefits. Plant Foods for Human Nutrition (Formerly Qualitas Plantarum), 59: 113-122
- **Yoshida, H., Ishikawa, T., Hosoai, H., Suzukawa, M., Ayaori, M., Hisada, T., et Nakajima, K. (1999).** Inhibitory effect of tea flavonoids on the ability of cells to oxidize low density lipoprotein. Biochemical pharmacology, 58: 1695-1703.

- **Zarzuelo, A ., Duarte, J ., Jimenez, J ., Gonzales, M (1991).** Utrilla Effet vasodilatateur de la feuille d'olivier. *Planta Med.* 57, 417 à 419.

ANNEXES :



Annexe 1 :

➤ Préparation d'eau physiologie stérile :

- Chlorure de Sodium (NaCl).....9g
- Eau distillée1000ml
- pH = 7
- Stérilisation à 120°C pendant 15min.

Annexe 2 :

➤ Préparation de Milieu MH :

- Extrait de viande3g
- Amidon.....1.5g
- Hydrolysat acide de caséine.....17.5g
- Agar.....18g
- pH = 7.4

Ou bien on suspendre 38g de poudre déshydratée dans 1000 ml d'eau distillée.

- Le milieu est bouilli pendant quelques minutes et stériliser par autoclavage (121°) pendant 15 min.

Annexe 3 :

Préparation de colorant TTC :

Le chlorure de Triphényl Tétrazolium est couramment utilisé comme indicateur du potentiel redox mitochondrial de la mort cellulaire. Il est particulièrement utile pour les tests de viabilité des semences et peut également être utilisé pour détecter la croissance microbienne.

- On a préparé une solution à concentration à base de 0.4mg/ml ou on a augmenté le volume à 10ml (4mg de TTC dans 10ml d'eau distillée stérile), puis on a déposé 10 de cette solution à chaque puit et on a incubé la microplaque dans l'étuve (37°) pendant 30 min.