



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de fin d'études

Présenté par

Bengeunouna Linda & Belkabdji Zahira

Pour l'obtention du diplôme de

Master en BIOLOGIE

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des plantes

Thème

Caractérisation chimique des huiles essentielles de Pistacia
lentiscus L. Evaluation du pouvoir antimicrobien

Soutenue publiquement le /09/2020

Devant le Jury

| | | | |
|------------------|---------------------|-------------------------|------------------------|
| Président | M. CHADLI. R | Grade MCB | U. Mostaganem |
| Encadreur | Mr. BEKADA.A | Grade Professeur | C.U. Tissemsilt |
| Examineur | M. TAHRI.M | Grade MCB | U. Mostaganem |

2019/2020

Dédicaces

*Je dédie ce travail humble à mon père -
Belkadjji Guendouz - et ma mère - Menad
mama- qui nous ont appris qui nous sommes et
qui nous ont conduits vers un tunnel de
connaissances éclairées qui nous a conduits sur
la bonne voie.*

*À toutes mes sœurs et frères, samiha Maroua, Mohamed al-
Amine, Abd al-Rahman et Khaled À ma chère grand-mère
Ben Youb Aisha*

*Ma meilleure amie, Bengouncuna Linda et
À toute ma familles*

Et tout ce que je porte dans mon cœurs

-Belkadjji zahira-

Je dédie ce mémoire

À ma très chère mère (Boukhatem Yamina)

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

À mon très cher père (Benguencuna Ali)

Tu as toujours été à ma mes côtés pour me soutenir et m'encourager que ce travail traduit ma gratitude et mon affection

À mes très cher frères

Houari et Saleh Elidine et ma belle sœur Fatima je lui souhaite un bac réussi, si Dieu le veut

À mon très cher mari (Ourari, Gh)

qui m'a toujours en couragé et qui a été compréhensif et patient.

À toute la famille et à tous mes chers amis (Samika Zahira Hasnia)

Qu'ils trouvent dans ce travail l'expression de mon profond respect et reconnaissance.

-Benguencuna Linda-

Remerciements

➤ *Tout d'abord, nous remercions le bon DIEU, Notre créateur de nous avoir donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.*

➤ *Nous adressons le grand remerciement à notre promotrice Pr. Bekada ahmed med ali pour sa contribution, sa disponibilité et ses précieux conseils du début à la fin de ce travail.*

Finalement, Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à :

- *L'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation durant toutes ces années d'études.*
- *Nos grandes familles qui nous ont toujours soutenues*
- *L'ensemble de nos amies sans exception.*
- *Aux membres de l'administration de l'SNV.*
- *Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail*

Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Listes des figures

Introduction 1

Partie Bibliographie

Chapitre I . Généralités sur les huiles essentielles

| | |
|--|---|
| I .1. Les huiles essentielles | 3 |
| I .1.1. Définition | 3 |
| I .1.2. Réparation systématique des huiles essentielles | 3 |
| I .1.3. Localisation et lieu de synthèse des huiles essentielles | 3 |
| I .1.4. Propriétés physico-chimique | 4 |
| I .1.5. Composition chimique des huiles essentielles | 4 |
| I .1.5.1 Les terpènes | 4 |
| I .1.5.2. les composés aromatiques | 4 |
| I .1.5.3. les composés d'origines diverses | 5 |
| I .1.6. Facteurs de variabilité de la composition chimique des huiles essentielles | 5 |
| I .1.6.1. Facteurs intrinsèques..... | 5 |
| I .1.6.2- Facteurs extrinsèque | 5 |
| I .1.7. Domaines d'utilisation des huiles essentielles..... | 6 |
| I .1.7.1. Agro-alimentaire | 6 |
| I .1.7.2. Santé : pharmacie et aromathérapie | 6 |
| I .1.7.3. Agriculture | 6 |
| I .1.7.4. Parfums et cosmétique | 7 |
| I .1.8. Toxicité des huiles essentielles | 7 |
| I .1.9. Méthodes d'extraction | 7 |
| I .1.9.1. Distillation | 8 |

| | |
|--|----|
| I .1.9.1 .1 .L’hydrodistillation..... | 8 |
| I .1.9.1.2. l’entrainement à la vapeur d’eau..... | 8 |
| I .1.9.1.3.Hydrodiffusion..... | 9 |
| I .1.9.2.L’extraction au CO2 supercritique..... | 9 |
| I .1.9.3.L’extraction par des solvants..... | 10 |
| I .1.9.4.Extraction par expression à froid..... | 10 |
| I .1.10.Méthode d’analyse des huiles essentielles..... | 11 |

Chapitre II : *Pistacia lentiscus L.* Le pistachier lentisque

| | |
|--|----|
| II.1.Classification systématique et description botanique..... | 13 |
| II.1.1. Classification taxonomique..... | 13 |
| II.1.2.Description botanique..... | 14 |
| II.1.3. Répartition géographique..... | 15 |
| II.1.3.1.En Algérie..... | 15 |
| II.4. Produits et dérivés à base de <i>pistacia lentiscus L.</i> | 15 |
| II.5.Etude chimique de l’espèce <i>pistacia lentiscus L.</i> | 16 |
| II.5.1. Le mastic de <i>pistacia lentiscus L.</i> | 16 |
| II.5.2. Le fruit de <i>pistacia lentiscus L.</i> | 16 |
| II.5.3. Les feuilles de <i>pistacia lentiscus L.</i> | 16 |
| II.5.4. Les huiles essentielles de <i>pistacia lentiscus L.</i> | 17 |
| II.5.5. Aspects pharmacologique et effets thérapeutiques de <i>pistacia lentiscus L.</i> | 19 |
| II.5.6.Données toxicologiques de <i>Pistacia lentiscus L.</i> | 19 |

Chapitre III : Activité biologique des huiles essentielles

| | |
|---|----|
| III. Introduction | 20 |
| III.1. Activité antimicrobienne | 20 |
| III.1.1. Les toxi-infections alimentaires..... | 20 |
| III.1.2.Autres toxi-infections d’origine bactériennes | 20 |

| | |
|---|----|
| III.1.3. Les antibiotiques | 20 |
| III.1.4. Antibiorésistance | 21 |
| III.1.5. Effet antimicrobien des huiles essentielles | 22 |
| III.1.6. Mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries..... | 22 |

Partie Expérimentale

Chapitre IV : Matériel et méthodes

| | |
|--|----|
| IV.1- Matériel végétal | 24 |
| IV.1- Extraction et caractérisation chimique des huiles essentielles de Pistacia lentiscus L..... | 24 |
| IV.1.1- Extraction par hydrodistillation..... | 24 |
| IV.1.2-Calcul du rendement | 25 |
| IV.2-Procédés d'étude microbiologique..... | 25 |
| IV.2.1-Souches microbiennes testée..... | 25 |
| IV.2.2- Milieux de culture utilisés | 26 |
| IV.2.3-Préparation de la suspension bactérienne (l 'inoculum)..... | 26 |
| IV.2.4- Etude de la sensibilité des souches vis –à-vis des Antibiotiques (Antibiogramme)..... | 27 |
| IV.3.1. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles | 29 |
| IV.3. 2.Aromatogramme | 29 |
| IV.3.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)..... | 30 |

Chapitre V : Résultats et Discussion

| | |
|--|----|
| V.1-Extraction et caractérisation chimique des huiles essentielles de Pistacia lentiscus..... | 32 |
| V.1.1- Rendement en huile essentielle (R)..... | 32 |
| V.2-Etude de l'activité antimicrobienne..... | 33 |
| V.2.1-l'Antibiogramme | 33 |

V.2.2-l'aromatogramme.....37

V.2.3-Détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMI).....38

Conclusion41

Référence

Résumé

Ce travail a porté sur la valorisation d'une espèce végétale *Pistacia lentiscus* L, poussant à l'état sauvage et récoltée dans région de Mostaganem, en évaluant certaines propriétés biologiques de l'huile essentielle telle que l'activité antimicrobienne. L'extraction de l'huile essentielle des feuilles et rameaux fraîches du lentisque a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation (type Clevenger) et qui a donné un rendement de 0.42 %.

L'étude de l'activité antimicrobienne par aromatogramme a montré un bon effet inhibiteur de l'huile de *Pistacia lentiscus* sur les six souches de référence testées, des valeurs de diamètre de zones d'inhibition satisfaisantes (16.71, 20.07, 12, 19, 19.56 et 23 mm) et des valeurs des CMI (0.625, 0.625 ,0.25, 0.25 et 0.125 %) pour les bactéries : *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* , *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enterica* respectivement .

Mots clés : *Pistacia lentiscus* L. , huile essentielle, caractérisation chimique , activité antimicrobien

Abstract

This work focused on the valuation of a plant species *Pistacia lentiscus* L, growing in the wild and harvested in the region of Mostaganem, by evaluating certain biological properties of the essential oil such as antimicrobial activity. The extraction of the essential oil from the fresh leaves and twigs of the lentiscus was carried out by the hydrodistillation method (Clevenger type) and which gave a yield of 0.42%.

The study of the antimicrobial activity by aromatogram showed a good inhibitory effect of *Pistacia lentiscus* oil on the six reference strains tested, satisfactory values of diameter of zones of inhibition (16.71, 20.07, 12, 19, 19.56 and 23 mm) and MIC values (0.625, 0.625, 0.25, 0.25 and 0.125%) for bacteria: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enterica* respectively.

Key words: *Pistacia lentiscus* L., essential oil, chemical characterization, antimicrobial activity.

ملخص

ركز هذا العمل على تقييم نوع نباتي *Pistacia lentiscus* L ، ينمو في البرية ويحصد في منطقة مستغانم ، من خلال تقييم بعض الخصائص البيولوجية للزيت العطري مثل النشاط المضاد للميكروبات. تم استخلاص الزيت العطري من أوراق وأغصان العدس بطريقة التقطير المائي (نوع Clevenger) والتي أعطت عائد 0.42%. أظهرت دراسة النشاط المضاد للميكروبات عن طريق التصوير العطري تأثيراً مثبتاً جيداً لزيت *Pistacia lentiscus* على السلالات المرجعية الست المختبرة ، وقيم مرضية لقطر مناطق التثبيط (16.71 ، 20.07 ، 12 ، 19 ، 19.56 و 23 مم) وقيم MIC (0.625 و 0.625 و 0.25 و 0.25 و 0.125%) للبتيريا: *Pseudomonas aeruginosa* و *Acinetobacter baumannii* و *Proteus mirabilis* و *Staphylococcus aureus* و *Bacillus cereus* و *Salmonella enterica* على التوالي. **الكلمات المفتاحية:** *Pistacia lentiscus* L ، زيت عطري ، خصائص كيميائية ، نشاط مضاد للميكروبات.

Liste des abréviations et symboles

ADN : acide désoxyribonucléique.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

ARN : Acide ribonucléique.

ATB : Antibiotique.

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

D.O : Densité optique.

DL50 : Dose létale 50 .

DHP : Dihydroptéroate.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

FID : Détecteur par Ionisation de Flamme.

IE : Ionisation Electronique.

IK : Indice de Kovats.

SM : Spectrométrie de masse

TCD : Détecteur par conductivité thermique.

TIA : Toxi-infections alimentaires

TIAC : Toxi-infections alimentaires collectives.

TR : Temps de rétention.

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau n°1 : Composition chimique des huiles essentielles de Pistacia lentiscus L. du Maroc obtenue par GC-MS..... | 18 |
| Tableau n°02 : Liste des souches microbiennes testées..... | 25 |
| Tableau n°03 : les antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme..... | 28 |
| Tableau n°04 : Concentrations finales des huiles essentielles de Pistacia lentiscus L | 30 |
| Tableau n°05 :Quantité d'huile essentielle de Pistacia lentiscus extraites par hydrodistillation | 32 |
| Tableau n°06 : Résultats de l'antibiogramme exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition (mm)..... | 36 |
| Tableau n°07 : Résultats de l'aromatogramme exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition (mm)..... | 38 |
| Tableau n°08 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de huile essentielle de pistacia lentiscus vis-a-vis les six bactéries testées | 39 |

Listes des figures

| | |
|---|----|
| Figure n°01 : principe de la technique d'hydrodistillation..... | 8 |
| Figure n° 02 : principe de la technique de l'enchaînement à la vapeur d'eau. | 9 |
| Figure n°03 : schéma du procédé d' hydrodiffusion | 9 |
| Figure n°04 : principe d'extraction au CO2 supercritique..... | 10 |
| Figure n°05 : l'extraction par expression à froid..... | 11 |
| Figure n°06 : Arbuste de <i>Pistacia lentiscus</i> L | 12 |
| Figure n° 07 : <i>Pistacia lentiscus</i> L. | 13 |
| Figure n°08 : Description botanique de <i>Pistacia lentiscus</i> L. | 14 |
| Figure n°09 : Aire de répartition du <i>Pistacia lentiscus</i> L. en Algérie | 15 |
| Figure n° 10 : Mode d'action des antibiotiques | 21 |
| Figure n°11 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne | 23 |
| Figure n°12 : Disposition d'hydro distillateur de type Clevenger pour l'extraction de l'huile essentielle..... | 24 |
| Figure n°13 : prélèvement des colonies bactériennes à partir d'une culture jeune. | 26 |
| Figure n°14 : Lecture de la densité optique de la suspension bactérienne sur un spectrophomètre | 26 |
| Figure n°15 : Prélèvement de la suspension microbienne puis ensemencement sur milieu gélosé. | 27 |
| Figure n°16 : Dépôt des disques d'antibiotiques à la surface du milieu gélosé..... | 27 |
| Figure n° 17 : Dépôt des disques contenant l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i> à la surface des boîtes ensemencées..... | 29 |
| Figure n°18 : Ensemencement des suspensions bactériennes standardisées..... | 31 |
| Figure n°19 : Résultats de l'antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 33 |
| Figure n°20 : Résultats de l'antibiogramme de <i>Proteus mirabilis</i> | 33 |
| Figure n° 21 : Résultats de l'antibiogramme d' <i>Acinetobacter baumannii</i> | 34 |
| Figure n°22 : Résultats de l'antibiogramme de <i>Staphylococcus aureus</i> | 34 |
| Figure n° 23 : Résultats de l'antibiogramme de <i>Bacillus cereus</i> | 34 |

Figure n°24 : Résultats de l'antibiogramme de *Salmonella enterica*.....35

Figure n°25 : Résultats de l'aromatogramme des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus*.....37

Introduction

Introduction

Les plantes ont constitué le premier et principal outil thérapeutique à la disposition de l'homme et ce pendant de nombreux siècles. Dans diverses civilisations et sur tous les continents, les pharmacopées végétales se sont développées et enrichies grâce à l'empirisme. Avec un don d'observation inégalé, les anciens ont pu mettre en évidence des propriétés curatives ou préventives des plantes médicinales qui n'ont d'ailleurs, jamais été démentie par l'usage (**Carillon, 2009**).

L'Algérie, de par sa gamme de climats très variée et sa situation géographique, possède un ensemble considérable d'espèces naturelles qui représentent un patrimoine phytogénétique de très grande importance vu leur mode de répartition spatiale et leur rôle dans l'équilibre écologique (**Snoussi et al.,2003**). La valorisation de ces ressources est devenue indispensable . a cet effet , nous nous sommes intéressés à une espèce poussant à l'état sauvage à l'ouest du pays , à savoir *Pistacia lentiscus* L . et plus particulièrement , à leur métabolites secondaires –les huiles essentielles- Les huiles essentielles ,également appelées huiles odoriférantes volatiles , sont des liquides huileux aromatique extraits de différentes parties de plantes ; les feuilles , les écorces, les fleurs, les bourgeons , les graines ,etc (**Tongnuanchan et benjakul , 2014**) . il existe au moins 150 types d'huiles essentielles commercialisées sur le marché international (**kusuma et mahfud , 2017**) .

La recherche tendant à découvrir des agents thérapeutiques de plus en plus efficaces et avec le moins d'effets secondaires possible , trouvent en ces huiles essentielles de potentielles alternatives pour remédier à différents problèmes notamment à l'émergence de la résistance microbienne aux antibiotiques . ce phénomène se développe de plus en plus rapidement et de manière quasi universelle et est particulièrement marqué pour les germes responsables d'intoxications alimentaires (**Hanberger et al.,1999 ; Sieradzki et al.,1999**). Il est essentiellement dû à l'utilisation excessive des antibiotiques . Dans de nombreuses situations, seul un nombre restreint d'antibiotiques demeure efficace(**Goldmann et al .,1996 ; Wise et al.,1998**) .

Pistacia lentiscus (le lentisque) est connu par sa longue culture en médecine traditionnelle depuis les anciens grecs. Elle est très fréquente dans le bassin méditerranéen , elle se trouve à l'état sauvage , dans les broussailles et la garrigue dans tous les types de sol . bien qu'elle préfère les sols siliceux (**More et White,2005**) . L'huile essentielle et la gomme de la plante citée ont été largement utilisées comme additifs alimentaires et boissons dans la région méditerranéenne, sans aucune toxicité rapportée (**loutrari et al.,2006 ;Ghalem et Mohamed,2009**) . L'huile essentielle de *pistacia lentiscus* L et également utilisée en cosmétique ,parfumerie et comme agent aromatisant dans les préparations alimentaires (**Daferera et al.,2002**) .

Les résultats scientifiques ont révélé les activités pharmacologiques étendues de diverses parties de lentisque , telles que les activités antioxydantes, antimicrobiennes ,

introduction

anti-inflammatoires , antidiabétique , antitumorales , hépatoprotectrices , ainsi que leurs effets bénéfiques sur les troubles gastro-intestinaux (**Hemma et al .,2017 ; Remila et al ., 2015 ; Bozorgi et al.,2013 ; Dellai et al.,2013 ; Ghelem et al .,2009**) . selon van den berg(1998) , l'huile essentielle de cette plante a une activité anti-*Helicobacter pylori* et peut être bénéfique dans le traitement de l'ulcère peptique .

En raison de l'importance de cette plante et face aux différents problèmes encourus par l'utilisation des agents synthétiques , l'attrait pour des sources naturelles est devenu aujourd'hui et plus que jamais important. Notre présente étude s'inscrit dans cette perspective et cherche à approfondir les connaissances sur *Pistacia lentiscus* L . (*Anacardiaceae*) et à la valoriser en évaluant l'activité antimicrobienne et antioxydante .

Notre travail est structuré en deux parties . la première partie est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur trois chapitres ; le premier chapitre aborde des généralités sur les huiles essentielles, le deuxième est consacré à la description botanique de l'espèce végétale étudiée tandis que le troisième chapitre , s'intéresse aux activités biologiques des huiles essentielles et particulièrement, l'activité antimicrobienne , la partie expérimentale est subdivisée en deux chapitres, le premier (quatrième chapitre) présente le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail , à savoir :

- Extraction des huiles essentielles du lentisque par hydrodistillation

Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles par la méthode de l'aromatogramme .

Parite
biobliographique

Chapiter I

Généralité sur les huiles **essentiels**

I-1. Les huiles essentielles

I.1.1 .Définition

Une huile essentielle est un mélange naturel complexe de métabolites secondaires lipophiles, volatils, odorants et souvent liquides contenus dans des tissus végétaux spécialisés (**bruneton, 1993 ; kalemba et kunicka, 2003**). selon la norme AFNOR NF T75-006, L'huile essentielle désigne le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par distillation –sèche-. Elle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques (**AFNOR, 2000**). cette définition détermine les huiles essentielles au sens strict. Mais de ce fait, elle écarte les produits obtenus en employant d'autres procédés d'extraction, comme l'utilisation de solvants non aqueux ou l'enflourage (**Bruneton, 1999**).

Il est important de distinguer huile essentielle et essence. cette dernière est une sécrétion naturelle élaborée par l'organisme végétal, contenue dans divers types d'organes producteurs, variables selon la partie de la plante considérée. en revanche, une huile essentielle est le résultat d'extraction de l'essence, autrement dit, l'essence distillée (**Carette, 2000**). et contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, l'huile essentielle ne contient pas de corps gras comme l'huile végétale (**Anton et Lobstein, 2005**).

I-1.2. Répartition systématique des huiles essentielles

Les huiles essentielles n'ont pas une présence générale chez les végétaux. parmi les 1 500 000 espèces végétales recensées, seulement 10% sont capables de synthétiser une essence. Ces plantes sont alors dites [aromatiques] (**Bruneton, 1999 ; Degryse et al. 2008**). certaines familles se caractérisent par le grand nombre d'espèces à essences qu'elles regroupent, en particulier les Lamiacées, les ombellifères, les myrtacées et les lauracées (**Baser et Buchbauer, 2010**).

I-1.3. Localisation et lieu de synthèse des huiles essentielles

Les huiles essentielles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le cytoplasme de cellules sécrétrices variables selon l'organe végétal considéré.

Puis, elles s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées et emmagasinées dans des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante, à savoir, des cellules à huiles essentielles (lauracées et zingibéracées), des poils glandulaires épidermiques.

Les huiles essentielles peuvent être extraites de divers organes de la plante . il peut s'agir d'écorces (cannelier , citron , orange ,bergamote) , de graines (carvi , fenouil) , de feuilles (eucalyptus , mélisse) , de racines (angélique) , de rhizome (acore) , de fleurs (origan , camomille) , de bois(santal) , de sèves (myrte) , de bourgeons (pin) , des fruits (badiane)...etc . **(bruneton , 1999)**

I.1.4. Propriétés physico-chimique

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatique de très faible masse moléculaire **(degryse et al. ,2008)** .

Elles sont en général liquides à température ambiante , volatiles , inflammables , très odorantes et ne sont que très rarement colorées . leur densité est le plus souvent inférieure à 1 sauf pour huiles essentielles de sassafras (sassafras albidum) , de clou de girofle (syzygium aromaticum) et de cannelle (cinnamomum zeylanicum)

Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (optiquement active) **(bruneton ,1999 ;charpentier et al .2008 ; desmares et al 2008)** .

Les huiles essentielles ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras . par évaporation , elles peuvent retourner à l'état de vapeur sans laisser de traces , ce qui n'est pas le cas des huiles fixes (olive , tournesole ... etc) qui ne sont pas volatiles et laissent sur le papier une trace grasse persistante **(bernadet ,2000)** , et sont solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques mais sont peu solubles dans l'eau **(bruneton,1999)** .

I.1.5. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés organiques possédant des structures et des fonctions chimiques très diverses **(lahlou ,2004)** , plus de 60 molécules différentes peuvent entrer dans la composition chimique d'une huile essentielle . les composés majoritaires peuvent représenter à eux seuls plus de 85% de l'huile alors que d'autres composés ne sont présents qu'à l'état de traces **(senatore, 1996)** .

I- 1.5.1. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels , de structure cyclique ou de chaîne ouverte . leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à cinq atomes de carbone (C₅H₈) **(Hernandez-choa, 2005 ;Fillatre ,2011)**.

I-1.5.2. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques des huiles essentielles sont principalement des dérivés du phénylpropane C₆-C₃ , parmi lesquels se trouvent des aldéhydes

(cinnamaldéhyde) , des alcools (alcool cinnamique) , des phénols (chavicol, eugénol) . des dérivés méthoxy (anéthol, estragol) ou méthylène dioxy (myristicine , safrol) (**Bruneton , 1999**) .

I- 1.5.3. d'origines diverses les composés

Il existe un nombre non négligeable de composés volatils issus de la dégradation de terpènes non volatils (c'est le cas par exemple des ionones qui proviennent de l'auto-oxydation des carotènes) et d'acides gras (les petites odorantes, comme par exemple le (3Z)-hexen-1-ol ou le décanal , qui sont obtenues à partir des acides linoléique et *-linoléique) (**Bruneton,1999**) .

Si la concentration de ces composés est généralement très faible, ils peuvent cependant avoir une influence considérable à l'exemple de la damascenone. cette molécule , issue de la dégradation des terpènes ,ne représente que 0.14% de huile essentielle de rose (*Rosa damascena*) . Elle est pourtant un contributeur majoritaire de l'odeur de cette huile (**Leffingwell,2011**) .

I- 1.6.Facteurs de variabilité de la composition chimique des ES

Etant formées de mélanges généralement complexe, les ES présentent une très grande variabilité , tant au niveau de leur composition , qu'au plan du rendement des plantes d'origine . cette variabilité est fondamentale car les activités biologique qui découlent des huiles essentielles peuvent être très différentes (**Garnéro,1991 ;Bruneton,1999**) . cette variabilité peut s'explique par différents facteurs d'origine intrinsèque , spécifique du bagage génétique de la plante ou extrinsèque ,liés aux conditions de croissance et de développement de la plante (**Morin et Richard ,1985**) .

I- 1.6.1 .Facteurs intrinsèques

Une huile essentielle doit avant tout autre chose être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue pour éviter toutes dénominations trompeuses du matériel végétal (**Barry,2001**) . une ES peut s'extraire de plusieurs parties de la plante . Cependant , la quantité et la qualité diffèrent ,d'où la nécessité de spécifier le nom de la partie utilisée (**Bruneton,1999**).

I- 1.6.2.Facteurs extrinsèque

La composition en huile essentielle dépend des conditions environnementales ,plus précisément ,du sol et du climat .En ce qui concerne le sol ,le développement de la partie aérienne de la plante est fonction de celui du système racinaire et de son activité .Or la forme des racines ,leur répartition dans le sol ,leur vitesse d'extension, la variation de la composition chimique des huiles essentielles dépendent de la texture du sol ,de sa

structure ,de sa teneur en eau ou de sa température .C'est ainsi ,par exemple ,que deux plantes de la même espèce récoltée à la même période sur des sols différents ,ont une composition chimique et une teneur en huile essentielle variables (**Razafindrakoto,1988 ;Dethier ,1996**) .

Pour ce qui est du climat ,l'ensemble température ,précipitations et lumière agit non seulement sur la croissance et le développement de la plante mais aussi ,sur la qualité des substances élaborées au niveau de la plante (**Bruneton,1999 ;Aprotosoie et al., 2010 ;Olle et Bender ,2010**) .

I-1.7.Domains d'utilisation des huiles essentielles

Il existe une grande variété d'huiles essentielles connues dans le monde et plusieurs milliers d'entre elles ont été caractérisées . cependant , de ce nombre , une faible proportions seulement présente un intérêt commercial . cela s'explique par la composition chimique des huiles essentielles qui leur confère aussi bien des propriétés odorantes et aromatiques qu'antimicrobiennes , mais aussi , les différentes utilisations possibles et leur cout de production (**Grysole , 2005 ; Fillatre, 2011**). Ces caractéristique offrent des débouchés importants dans de nombreux domaines industriels , que ce soit dans l'industrie cosmétique , les secteurs de la santé , de l'agro-alimentaire ou de l'agriculture (**Fillatre , 2011**).

I- 1.7.1- Agro-alimentaire

Les huilles essentielles sont utilisées en industrie agroalimentaire comme aromes et épices alimentaires pour les boissons gazeuses ou alcoolique , les condiments , les confiseries , les produits laitiers ...etc (**Bruneton,1999**) . les plus couramment utilisées sont celles de ; menthe,vanille , poivre , basilic , gingembre , eucalyptus ...etc (**Mapoli ,2003**) .

I- 1.7.1Santé : pharmacie et aromathérapie

Les vertus thérapeutiques des huiles essentielles sont connues et utilisées depuis très longtemps , notamment en Asie ou ces produits naturels constituent la base de la médecine traditionnelle . il est donc logique de retrouver les huiles essentielles dans le domaine de la santé avec des applications pharmaceutique et aromath érapique . En pharmacie , les huiles essentielles sont majoritairement destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses administrées par voie orale (**Bruneton,1999**) . de même , elles peuvent être utilisées pour leur activité antiseptique , en particulier dans le milieu hospitalier (**Edris ,2007**) .

I- 1.7.3.Agriculture

La volonté de réduire l'utilisation des pesticides de synthèse danss l'agriculture moderne en faveur de l'écologie , du développement et de l'aménagement durables , s'est affermie ces dernières années . concernant les pesticides l'un des projets de loi vise

à réduire la consommation en produits phytosanitaires de 50% en dix ans , l'échéance étant 2018 (**Ministère de l'agriculture et de la pêche , 2008**) .dans ce contexte environnemental , les pesticides naturels basés notamment sur les huiles essentielles , représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons (**Isman , 2000, Dayan et al.,2009**) .

I- 1.7.4. Parfums et cosmétique

Dans le domaine des parfums et cosmétiques , les ES sont employées en tant qu'agents conservateurs grâce à leur propriétés antimicrobiennes qui permettent d'augmenter la durée de conservation du produit (**Aburjai et Natsheh, 2003**) .

I- 1.8.Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont présentées généralement comme { sans danger } mais sont aussi des composés puissants (**Degryse et al. 2008**) . cet aspect des ES est d'autant plus important que leur utilisation , de plus populaire , tend à se généraliser avec l'émergence de nouvelles pratique thérapeutique telle que l'aromathérapie (**Piochon , 2008**) . cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important que leur utilisation , de plus populaire ,tend à se généraliser avec l'émergence de nouvelles pratique thérapeutiques telle que l'aromathérapie (**Piochon,2008**).

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (les huiles riches en thymol ou en carvacol) , allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) (**Smith et al.2000**) ou photo-toxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines) (**Naganuma et al.1985**) . D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique et certains composés sont capables d'induire la formation de cancers (**Homburger et boger ,1968**) .

I- 1.9.Méthodes d'extraction

L'extraction est une opération qui consiste à séparer certains composés d'un organisme (animal ou végétal) selon diverses techniques . L'extraction de molécules organiques est une phase primordiale dans les domaines de la chimie des substances naturelles et de la chimie thérapeutique. En effet, si les hommes se soignent depuis des millénaires à l'aide de plantes, c'est tout simplement car elles contiennent des molécules présentant une activité thérapeutique spécifique.

Or les plantes sont d'un emploi souvent délicat et peuvent présenter des effets secondaires plus ou moins néfastes pouvant, dans certains cas, entraîner la mort.Il convient donc d'isoler les composés actifs seuls .

Il existe plusieurs méthodes d'extraction dont certaines ont été développées par les artisans parfumeurs bien avant l'essor de la chimie moderne.

I-1.9.1. Distillation

La technique d'extraction des huiles essentielles utilisant l'entraînement des substances aromatiques grâce à la vapeur d'eau est la plus ancienne et plus utilisée (Franchomme et al .1990 ; Bruneton 1999) ; il existe précisément trois procédés utilisant ; l'hydrodistillation , l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodiffusion (Piochon , 2008) .

I- 1.9.1 .1 .L'hydrodistillation

L'hydrodistillation consiste, comme son nom l'indique, à distiller un composé par entraînement à la vapeur d'eau.

C'est une méthode très utilisée pour l'extraction des huiles essentielles.

Dans la pratique, on place les matières à extraire dans une chaudière avec de l'eau et on chauffe ; ou bien on fait passer de la vapeur d'eau dans un récipient contenant les dites matières.

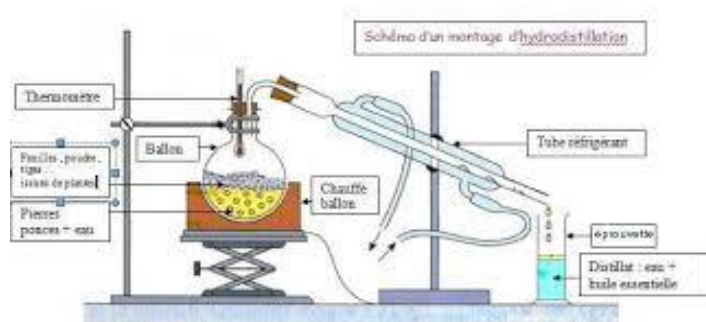


Figure n°01 : schéma du principe de la technique d'hydrodistillation

La vapeur d'eau produite va entraîner avec elle un composé donné selon un phénomène physique particulier : la création d'un azéotrope.

Il s'agit en fait d'un mélange de composés, non miscibles, (ici l'eau et une molécule odorante) dont la température d'ébullition est inférieure à celle du composé le moins volatil. La vapeur d'eau chargée en molécules organiques est condensée puis récupérée. Il y a alors séparation en deux phases : l'une aqueuse et l'autre organique, cette dernière contenant le composé que l'on a cherché à extraire.

L'extraction de la nicotine du tabac peut, par exemple, être réalisée de cette façon.

Mais cette technique montre rapidement ses limites lorsque l'on veut extraire des molécules 'fragiles' qui ne résisteront pas au chauffage (bullten,2003)

I-1.9.1.2. l'entraînement à la vapeur d'eau

dans ce système d'extraction le matériel végétale ne macèrè pas directement dans l'eau , il est placé sur une grillé perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau . cette dernière endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînés vers le réfrigérant (Franchomme et al .1990 ; Richard ,1992 ; lucchesi,2005)

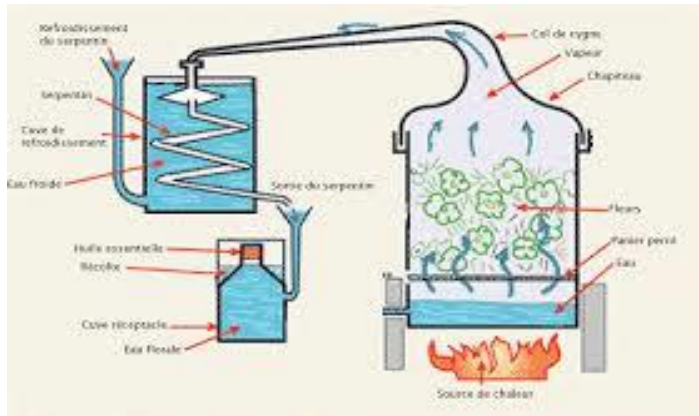


Figure n° 02 : schéma du principe de la technique de l'enchaînement à la vapeur d'eau

I-1.9.1.3. hydrodiffusion

Cette technique relativement récente, est une variante de l'entraînement à la vapeur. elle consiste à faire passer du haut vers le bas et à pression réduite (0,02-0,15 bar), la vapeur d'eau à travers la matière végétale, l'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc, moins dommageable (Franchomme et al., 1990 ; Richard ; Luchesi, 2005).

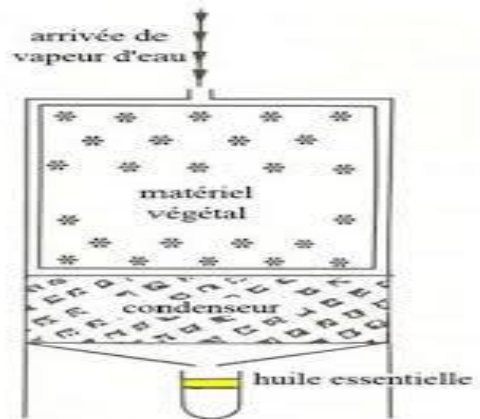


Figure n°03 : schéma du procédé d'

I- 1.9.2.L'extraction au CO2 supercritique

Très moderne, très coûteuse, cette méthode consiste à faire passer un courant de CO2 à haute pression qui fait éclater les poches à essence et entraîne les substances aromatiques.

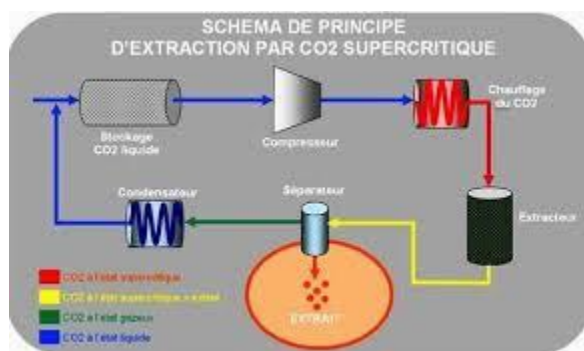


figure n°04 : principe d'extraction au CO2 supercritique

I-1.9.3.L'extraction par des solvants

Dans cette méthode, les plantes (car en général, il s'agit principalement de ce type d'organismes) sont mélangées à un solvant organique dans des récipients des tailles et de forme variables. Les molécules organiques étant solubles dans les solvants employés, il est particulièrement aisé de séparer les constituants recherchés de leur enveloppe végétale. Le mélange est ensuite filtré pour récupérer le solvant chargé des composés. L'inconvénient de cette méthode est en fait son principal composant : le solvant... ,En effet, étant donné les quantités mise en œuvre, les risques de pollution et d'inflammation ne peuvent être réduit à zéro...

De plus, les composés à extraire étant emprisonnés dans la cellule par la membrane cellulaire, il faudra donc des solvants capables de la traverser. Enfin, il arrive que des traces de solvant soient présentes dans le produit final (les molécules à extraire) ou bien dans la matière végétale après traitement (**Bullten,2003**)

I-1.9.4.Extraction par expression à froid

L'expression à froid est une méthode d'extraction qui s'effectue sans chauffage. Elle est apparue au cours du XIX ème siècle, en Italie, puis s'est développée au Brésil, en Californie et en Floride.

Utilisée uniquement pour les agrumes, en raison de la localisation de leurs huiles essentielles, il suffit de procéder à une forte pression hydraulique de la substance végétale. L'huile essentielle contenue dans de petites glandes du zeste est alors séparée du jus de son fruit par un système mécanique.

Aujourd'hui, il existe plusieurs systèmes d'extraction qui consistent à gratter mécaniquement les peaux gorgées d'essence. L'essence entraînée par de l'eau, subit ensuite une décantation pour en être séparée. Les huiles essentielles obtenues par ce procédé sont celles de citron, de pamplemousse, de bergamote ou encore de bigarade.



figure n°05 : Schéma de l'extraction par expression à froid

1.10-méthode d'analyse des huiles essentielles

Les huiles essentielles doivent répondre à des caractéristiques bien déterminées. ces critères sont définis dans des normes internationales ISO (International organisation for standardization) ou françaises AFNOR (Association Française de Normalisation) ,ainsi , sont contrôlées les propriétés organoleptique et physique telles que la coloration , l'odeur, la réfraction la solubilité mais également les propriétés chimiques telles que les indices d'acides et d'esters , la meilleurs carte d'identité qualitative et quantitative d'une huile essentielle reste cependant son profil chromatographique réalisé en chromatographie en phase gazeuse même si d'autres technique (**fillatre,2011**) .

Chapitre II

***Pistacia lantiscus L.* Le pistachier lentisque**

Le *Pistacia lentiscus* L. Darou en arabe, chios mastic tree (Anglais), mastixbau (Allemand), Arbre au mastic ; Lentisque (Français), Derw (Afrique du nord) et Lentisco (Espagnol) (**Figure n° 06**) (**Seidemann, 2005**).

En Algérie le genre pistacia est est représenté par quatre espèces, en l'occurrence *Pistacia lentiscus* L. *Pistacia terbinthus* L, *Pistacia vera* L et *Pistacia atlantica* (**more et white, 2005**).



Figure n°06 : Arbuste de *Pistacia lentiscus* L. (**Ben douissa,2004**)

II.1. Classification systématique et description botanique

II.1. Classification taxonomique

Pistacia lentiscus L ; est une espèce appartenant à la famille des Anacardiaceae (syn. Pistaciaceae). Les espèces les plus importantes dans le monde du genre pistacia sont :

- *Pistacia atlantica*
 - *Pistacia lentiscus* L.
 - *Pistacia chinensis*
 - *Pistacia terebinthus* L.
 - *Pistacia vera* L.
 - *Pistacia integerrima*
 - *Pistacia palestina*
 - *Pistacia khinjuk*
 - Parmi les espèces du genre *pistacia*, le pistacia lentiscus L. est un arbrisseau très commun en Algérie (**Mitchell, 1986**) et sa taxonomie est comme suit :
- | | |
|------------------|------------------------------|
| • Règne | <i>Plantae</i> |
| • Embranchement | <i>Tracheobionta</i> |
| • Super-division | <i>Spermatophyta</i> |
| • Division | <i>Magnoliophyta</i> |
| • Classe | <i>Magnoliopsida</i> |
| • Sous classe | <i>Rosidae</i> |
| • Ordre | <i>Sapindales</i> |
| • Famille | <i>Anacardiaceae</i> |
| • Genre | <i>Pistacia</i> |
| • Espèce | <i>Pistacia lentiscus</i> L. |



Figure n°07 : *Pistacia lentiscus* L. (Dauphin et Aniotzbéhère, 1997)

II.1.2. Description botanique

Le lentisque est un arbrisseau dioïque thermophile de 1 à 3 mètres de hauteur, à odeur résineuse forte et à écorce lisse et grise ; les feuilles persistantes, composées pourvues d'un pétiole ailé, paripennées de 4 à 10 petites folioles elliptiques –obtus, coriaces, luisantes en dessus, mates et pales en dessous. Les fleurs en grappes spiciformes denses, naissant 1 ou 2 à l'aisselle d'une feuille et égalant au plus la longueur d'une foliole. Le fruit petit, subglobuleux, apiculé, rouge, puis noir à la maturité (**figure n°08**) (Tison et De Foucault ,2014).



Résine (gomme)

fleurs

fruits

Figure n°08 : Description botanique de Pistacia lentiscus L. (more et white, 2005).

II.1.3. Répartition géographique

II.1.3.1 En Algérie

En Algérie, lentisque se trouve dans les zones forestières sur le long du nord algérien (More et White, 2005). Il occupe l'étage thermo-méditerranéen. Sa limite méridionale se situe aux environs de Saïda, sa présence au sud de l'ATIAS Saharien n'est pas signalée. On le retrouve sur tout type de sol, dans l'Algérie subhumide et semi-aride (Saadoun, 2002), plus précisément dans le bassin du Soummam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège. (Figure n°09) (Belhaj, 200).



Figure n°09 : Aire de répartition du *Pistacia lentiscus* en Algérie. (Quezel et Santa, 1962_1963)

II.4. Produits et dérivés à base de *Pistacia lentiscus L.*

D'après Seigue (1985), les principaux produits dérivés du *Pistacia lentiscus L.* et leur utilisation sont décrites :

-Bois : pour sa robustesse et la finesse de sa texture, le bois de cette espèce très apprécié en ébénisterie.

-Résine : les branches et le tronc exsudent naturellement ou par incision une résine jaune claire fortement aromatique, qui durcit au contact de l'air. Elle appelée mastic ou gomme mastic d'où son nom commun d'arbre à mastic, généralement la production est d'environ 4 à 5 kg par arbuste.

Depuis la plus haute antiquité le mastic de Chion était réputé dans toute la méditerranée orientale pour traiter les affections pulmonaires (**Van den Berg et al., 1998**).

-**Essence de mastic** : est récupérée distillation. Cette essence entre dans la confection de parfums, produits cosmétologiques et pharmaceutiques, de vernis de grande qualité recherché par les peintres œuvrant à la peinture à l'huile et aussi dans l'industrie photographique (**Romani et al., 2002**).

- **Huile de lentisque** : est extraite du fruit comestible, autrefois était couramment utilisée pour l'alimentation, l'éclairage et elle entrait aussi dans la confection de savons (**Luigia et al., 2007**). L'huile est produite à l'Est de l'Algérie, dans les zones notamment côtière (El Mila, Skikda), où l'espèce abonde. Un procédé traditionnel est utilisé à cet effet. Les baies prennent alors une coloration noire au lieu du rouge.

-**essence des feuilles et rameaux** : l'huile essentielle est extraite de ces parties, est utilisée en aromathérapie et photothérapie pour ses propriétés décongestionnantes, prescrite aussi pour traiter les problèmes veineux dont les hémorroïdes (**Romani et al., 2002**)

II.5. Etude chimique de l'espèce *Pistacia lentiscus* L.

II.5.1 LE mastic de *Pistacia lentiscus* L.

Des analyses chimiques réalisées sur le mastic de *Pistacia lentiscus* L. ont montré la présence d'un polymère le cis-1,4-poly- β -Mycènes (**Van de berg et al., 1998**). Le mastic contient également une petite fraction (environ 2%) d'huile essentielle, dont certains composants de triterpénoïde de gomme mastic ont été identifiés (**Papageorgiou et al., 1997**).

II.5.2. Le fruit de *pistacia lentiscus* L.

Une étude phytochimique réalisée sur les baies de *pistacia lentiscus* L. a permis d'identifier trois anthocyanes appelés cyanidine 3-O-glucoside, delphinidine 3-O-glucoside et cyanidine 3-O-arabinoside qui ont été déterminées par HPLC-DAD-MS (**Charef et al., 2008**).

II.5.3. Les feuilles de *pistacia lentiscus* L.

La séparation des polyphénols a été effectuée sur les feuilles de *pistacia lentiscus* L.

Par l'utilisation des méthodes HPLC semi-préparatives. (**Romani et al., 2002**)

Trois grandes classes de métabolites secondaires ont été détectées :

- Acide gallique ;
- Anthocyanes à savoir delphinidine 3-O-glucoside et cyanidine 3-O-glucoside ;
- Glycosides de flavonol comme les glucosides de quercétine et de myricétine.

II.5.4. Les huiles essentielles de *pistacia lentiscus L.*

L'étude bibliographique sur *Pistacia lentiscus L.* a montré la richesse en mono terpènes et les sesquiterpènes.

L'étude réalisée par **Barazine et al. (2003)** sur l'extrait T-butyle méthyle éther d'huile de feuilles de *Pistacia lentiscus L.* Les montrés la présence de 12 mono terpènes, 7 sesquiterpènes et un seul mono terpène linéaire. Les α -pinène, sabinène, limonène, et caryophyllène et germacrène D, ces constituants majoritaires sont identifiés par la méthode GC-MS.

Une étude phytochimique réalisée par **kiv çak et A Kay (2005)** sur l'huile des feuilles de *pistacia lentiscus L.* a permis d'identifier quantitativement l' α -tocophérol. Le travail de Castola et al. (2000) effectué sur 105 échantillons des huiles essentielles des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* de Corse révèle la présence des constituants majoritaires comme ; mayrcène, limonène, terpinène-4-ol, α -pinène, α -phellandréne, ont été détectés par GC.

L'étude physico-chimique (GC et GC-MS) réalisée par **Duru et al. (2003)** indique que la présence de α -pinène, b-pinène, limonène, terpinène-4-ol et α -terpinéol comme constituants majoritaires des huiles essentielles de *pistacia lentiscus L.*, *pistacia atherbintus* et *pistacia Vera L.* **Daferara et al. (2002)** ont identifié les composés α -pinène et Mycènes dans les huiles essentielles de mastic. **Derwich et al. (2010)** ont déterminé la composition chimique des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus L.* du Maroc (tableau n°1, figure n°10) obtenue par GC-MS.

Tableau n°1 : Composition chimique des huilles essentielles de Pistacia lentiscus L. Du Maroc o obtenue par GC-MS (Derwich et al.,2010).

| Pic | composés | % | TR (min) | IK |
|-------------------------------|-------------------------------|-------|----------|------|
| 1 | Isoledéne 1419 | 0.07 | 6.93 | |
| 2 | 3-carene | 0.98 | 7.82 | 1005 |
| 3 | Cyméne 1042 | 0.01 | 8.76 | |
| 4 | α -phellandrène | 1.15 | 20.07 | 964 |
| 5 | Verbenol 1122 | 3.05 | 20.45 | |
| 6 | α -pinène | 24.25 | 21.08 | 928 |
| 7 | Linalool 1082 | 2.85 | 23.30 | |
| 8 | β -pinène | 12.58 | 23.76 | 966 |
| 9 | P-cumen-8-ol | 0.08 | 24.50 | 1042 |
| 10 | Terpioléne 1052 | 0.02 | 26.45 | |
| 11 | Limonène 1018 | 7.56 | 27.40 | |
| 12 | Terpinène-4-ol | 6.98 | 28.43 | 1137 |
| 13 | β -caryophyllén 1494 | 3.15 | 28.64 | |
| 14 | Cis-ociméne | 0.35 | 29.00 | 976 |
| 15 | β -faméséne 1458 | 0.07 | 29.25 | |
| 16 | α -terpineol | 4.89 | 31.70 | 1174 |
| 17 | Y-terpinéne | 4.45 | 31.82 | 998 |
| 18 | Camphre | 0.12 | 32.03 | 943 |
| 19 | Borneol | 0.10 | 32.50 | 1138 |
| 20 | Spathulenol | 0.05 | 34.08 | 1538 |
| 21 | Camphéne | 2.32 | 36.30 | 949 |
| 22 | Myrcéne | 2.09 | 42.69 | 948 |
| 23 | Globulol | 0.05 | 44.11 | 1530 |
| Total des composés identifiés | | 77.22 | | |
| Rendement % | | 1.02 | | |

TR : Temps de rétention obtenu par chromatogramme

IK : Indice de Kovats a été déterminé par GC-FID sur la colonne HP-5MS.

Les ions moléculaires et les ions du fragment principal ont été déterminés par spectrométrie de masse.

II.5.5. Aspects pharmacologiques et effets thérapeutiques de *Pistacia lentiscus* L.

La partie aérienne de *pistacia lentiscus* L. est largement utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement de l'hypertension artérielle (Scherrer et al ., 2005) .

Les feuilles sont pourvue d'action anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique, astringente, hépatoprotective, expectorante et stimulante (**Kordali et al., 2003**).

La résine obtenue de *pistacia lentiscus* L. est connue par son effet analgésique, antibactérienne , antifongique , antioxydant , antithérogénique ,expectorante et stimulante , diurétique et spasmolytique , par conséquent cliniquement , la mastic est souvent cité comme un remède efficace contre certaines maladies telles que l'asthme , diarrhée , infections bactériennes , ulcères gastroduodénaux et comme un agent antiseptique du système respiratoire (**Marone et al.,2001**).

L'huile essentielle de lentisque est connue pour ses vertus thérapeutiques en ce qui concerne les problèmes lymphatiques et circulatoires.Des travaux sur les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L. révèlent la présence de certaines activités antalgiques, antioxydants, anti-inflammatoires, et antimicrobiennes (**Giner – Larza et al . ,200**).

Les études expérimentales effectuées sur cette pmantes ont mis en évidence différentes activités biologiques et pharmacologiques ; activité anti - ulcéreuse, en médecine traditionnelles, la résine de pistachier lentisque est utilisée afin de combattre les ulcères d'estomac (**Al-Saïd et al.,1986**).

Les huiles essentielles procèdent aussi des effets antibactériens (**lauk et al., 1996**) antifongiques (**Ali-Shtayeh et Abu Ghdeib,1999**) et hepatoprotecteurs (**Janakat et Al-Merie,2002**).

II.5.6. Données toxicologiques de *pistacia lentiscus* L.

Pistacia lentiscus L ., est potentiellement important grâce à ses atouts en termes de biomasse, d'abondance sur le terrain, de richesse en métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes, stérols..... etc) , d'effets antibactériens et de faible toxicité en rapport avec l'absence totale des hétérosides cyanogénétiques, qui diminue fortement les risques toxicologiques liés à l'usage de *Pistacia lentiscus* L. (**Bammou et al.,2015**).

Chapitre III

Activité biologique des huiles essentielles

III- introduction

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et en particulier, avec les groupements fonctionnels des composés majoritaires : les phénols (thymol, carvacrol, eugénol), les alcools (α-terpinéol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes et les composés terpéniques et cétoniques (**Dorman et Deans, 2000**).

III.1. Activité antimicrobienne

III.1.1 Les toxi-infections alimentaires

Les toxi-infections alimentaires (TIA) sont des accidents aigus d'intoxication consécutifs à l'ingestion d'aliments contaminés par des bactéries ou par leurs toxines. (**Bussion et Teyssou, 2002**).

Les toxi-infections alimentaires ont fait l'objet de nombreuses études, de suivis épidémiologiques et de recherche des sources (aliments incriminés) et des agents responsables (microorganismes et /ou leur toxines).

Plusieurs bactéries et /ou leur toxines sont impliquées dans les toxi-infections alimentaires. D'autre part, les germes producteurs de toxines peuvent être sous forme végétative (sensible à la température) ou sporulée (résistante à la température). Les bactéries sporulées sont plus persistantes dans les conditions hostiles de transformation ou de préparation. (**Zweifel et al., 2004 INSP, 2010**).

III.1.2. Autres toxi-infections d'origine bactériennes

Proteus mirabilis est responsables de 80 des infections à *Proteus*. Provoques des infections telles que :

- ✓ Infections urinaires : communautaires ou nosocomiales ;
- ✓ Infections localisées surtout cutanées ;
- ✓ Infections des voies respiratoires : surtout en milieu hospitalier : infections ORL et pneumopathies ;
- ✓ Septicémies et bactériémies.

III.1.3. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques naturelles produites par des bactéries du sol et certains champignons, dont l'activité se manifeste à très faibles doses et d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard d'autres microorganismes (**Nauciel et vildé, 2005**). Le terme antibiotiques a été restreint aux

molécules antibactériennes qui agissent soit en bloquant la prolifération des bactéries (molécules bactériostatiques), soit en les détruisant (molécules bactéricides ou bactériolytiques) (**Clos 2012**). Par les différents modes d'action qu'ils possèdent, les antibiotiques peuvent agir sur : la synthèse du peptidoglycane et donc sur la paroi cellulaire (b-lactamines, glycopeptides, fosfomycine), les membranes (polymyxines), la synthèse protéique (macrolides et apparentés, aminosides, phénicolés, tétracyclines), la synthèse des acides nucléiques (quinolones, rifamycines, nitroimidazolés) et le métabolisme intermédiaire (sulfamides, triméthoprim) (**Demoré et al., 2012**).

Les cibles des antibiotiques sont impliquées dans les fonctions physiologiques ou métaboliques de la bactérie (**figure n°10**).

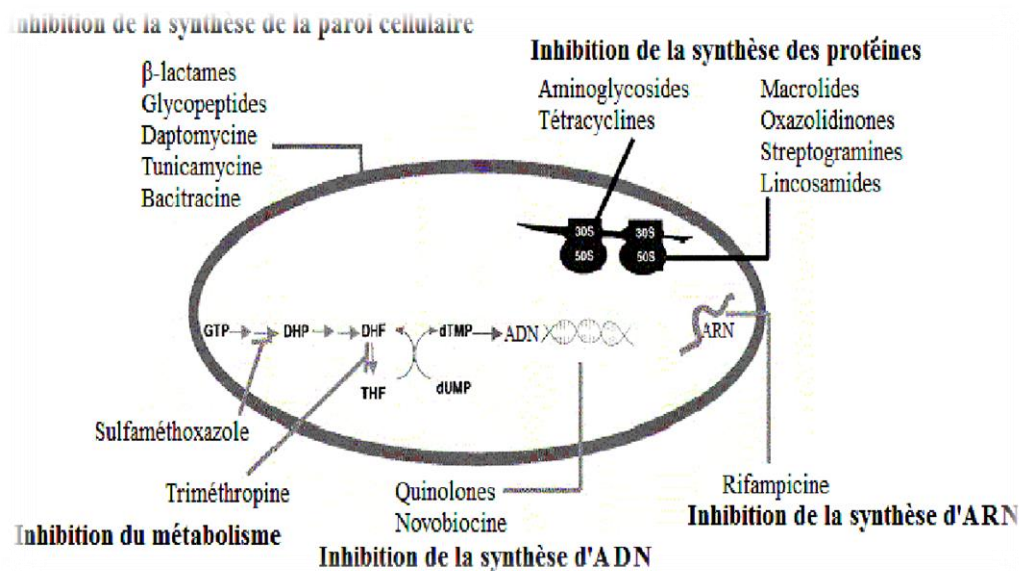


Figure n°10 : Mode d'action des antibiotiques (Singh et Barrett, 2006) Avec DHP : dihydroptéroate ; DHF : dihydrofolate ; THF : tétrahydrofolate

III.1.4. Antibiorésistance

Le phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ATB) augmente régulièrement que ce soit en milieu communautaire ou hospitalier et constitue un véritable problème de santé publique.

Les bactéries développent, de plus en plus, de la résistance en s'adaptant aux thérapeutiques antibactériennes et de ce fait l'échec de traitement (Philippon, 2008 ; Kempf et al, 2011). Environ

90-95% de souches de *Staphylococcus aureus* dans le monde sont résistantes à la pénicilline et dans la plupart des pays asiatiques 70-80% des mêmes souches sont résistantes à la méticilline (Hemaiswarya et al.2008). De même, les infections à *Acinetobacter baumannii* multi résistance aux ATBs et notamment à l'imipénème ont émergé depuis une dizaine d'années conduisant à des impasses thérapeutiques.

III.1.5. Effet antimicrobien des huiles essentielles

Des études récentes ont montré que les huiles essentielles et leurs constituants présentent un important potentiel en tant qu'agents antimicrobiens et dans plusieurs domaines industriels et médicaux. la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent , leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés , ainsi qu'une utilisation moins dommageable, car ils n'ont pas d'effets secondaires (**Amarti et al.,2008 ; Mazari et al., 2010 ;Goetz et Ghedira , 2012**) . pour la même raison, aucune résistance particulière vis –à-vis des huiles essentielles n'a été décrite et il est important de souligner que certaines d'entre elles constituent des alternatives efficaces ou des compléments aux antibiotiques sans montrer le même effet secondaire (**Rosato et al ., 2010**).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles de pistacia lentiscus et sa résine contre différents micro-organismes a été rapportés par plusieurs chercheurs (**Tassou et Nychas, 1995 ; Ben Douissa, 2004 Benhammo et al., 2008**) .

III.6.Mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries

Le mode d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé (**Kalemmba et Kunicha, 2003 ; Burt, 2004**).

Compte-tenu de variabilité quantitative et qualitative des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Bajpai et Kang, 2010**).

La principale caractéristique des huiles essentielles est attribuée à l'hydrophobicité de certains de leurs composants qui leur permet de traverser facilement la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire en provoquant une déstabilisation de sa structure et en augmentant sa perméabilité (**Souza et al. 2006**). Ces modifications entraînent des pertes anormales d'ions et de composés intracellulaires et la coagulation du contenu protéique des cellules (**Davidson et Parish, 1989 ; Uitee et al., 2002**).

Les principales localisations des sites d'action des constituants des huiles essentielles sont indiquées ci-dessous (**figure n°11**).

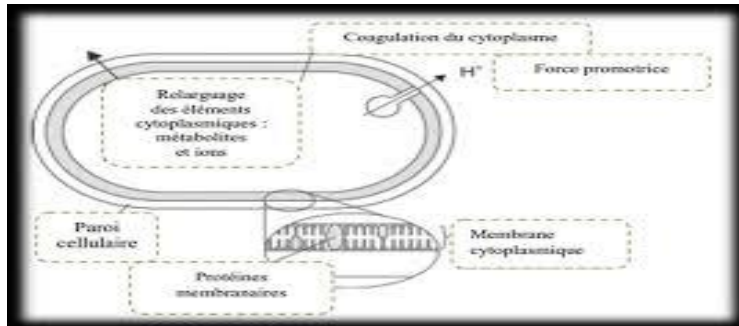


Figure n°11 : action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (**Burt,2004**).

Le mode d'action des huiles essentielles dépend du type de microorganismes. En général, les bactéries Gram négatives sont plus résistantes que les bactéries Gram positives grâce à structure de leur membrane externe. en effet, cette dernière est riche en lipopolysaccharides (LPS), ce qui la rend plus hydrophile, empêchant ainsi les composés hydrophobes des huiles essentielles d'y adhérer (**Cristiani et al., 2007**).

Partie

Expérimentale

Chapitre IV

Matériel et Méthodes

IV.1- Matériel végétal

IV.1- Extraction et caractérisation chimique des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus L.*

IV.1.1- Extraction par hydrodistillation

Les feuilles et rameaux ont été nettoyés et débarrassés de tous éléments étrangers, placés dans des sacs et transportés au laboratoire. L'extraction de l'huile essentielle des feuilles et rameaux de *Pistacia lentiscus L.* a été effectuée à l'aide d'un hydro distillateur de type Clevenger (**Figure°12**). Cela consiste à introduire 300g de matériel végétal frais dans un ballon de 02 Litres contenant de l'eau distillée (**Duru et al.,2003**). L'ensemble est porté à ébullition pendant 03 heures à l'aide d'un chauffe-ballon. L'huile essentielle obtenue a été séchée en utilisant le sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4), puis stockée à l'obscurité à 4°C Dans des flacons en verre opaque (**Gardeli et al., 2008**).



Figure n°12 : Dispositif d'hydro distillateur de type Clevenger pour l'extraction de l'huile essentielle

IV.1.2-Calcul du rendement

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétal utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE} = \text{M}' / \text{M} * 100$$

RHE : Rendement en huile essentielle en % ;

M' : Masse d'huile essentielle en gramme ;

M : Masse de la plante en gramme.

IV.2-Procédés d'étude microbiologique

IV.2.1-Souches microbiennes testées

Pour notre étude, nous avons testé la sensibilité des souches bactériennes de référence provenant de l'institut pasteur d'Alger vis-à-vis des agents antimicrobiens standards (antibiotiques) et biologiques (huiles essentielles). Il s'agit de six souches bactériennes dont quatre à Gram négatif et deux à Gram positif (**Tableau n°02**). L'ensemble des souches testées sont connues par leur pouvoir pathogène et d'altération alimentaire, le plus souvent incriminées dans diverses infections et intoxications alimentaires.

| Souche | Code | Gram | Source |
|--------------------------------|-------------|---------|--------------------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 27853 | Négatif | Institut pasteur d'Alger |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | ATCC 19606 | Négatif | |
| <i>Proteus mirabilis</i> | ATCC 35659 | Négatif | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC 6538 | Positif | |
| <i>Bacillus cereus</i> | ATCC 14579 | Positif | |
| <i>Salmonella enterica</i> | ACTCC 35664 | Négatif | |

Tableau n°02 : Liste des souches microbiennes testées.

IV.2.2- Milieux de culture utilisés

Les milieux de culture utilisés pour les différents tests microbiologiques sont les suivants :

- Gélose nutritive
- Gélose Mueller Hinton (M.H)

IV.2.3-Préparation de la suspension bactérienne (l'inoculum)

La suspension est préparée à partir d'une culture jeune en milieu de gélose nutritive de 18 à 24H, ou quelques colonies des souches cibles ont été prélevées, diluées dans un tube à essai contenant 5ml d'eau physiologique stérile à 0,9%, puis bien homogénéisées par la suite.



Figure n°13 : Prélèvement des colonies bactériennes à partir d'une culture jeune.

La suspension bactérienne a été par la suite standardisée à 0,5 McF (McFarland), soit une D.O de 0,08 à 0,10 lue à une longueur d'onde de 625 nm sur un spectrophotomètre UV (Jenway 670) (**figure n°14**).



Figure n°14 : Lecture de la densité optique de la suspension bactérienne sur un spectrophotomètre

IV.2.4- Etude de la sensibilité des souches vis –à-vis des Antibiotiques

(Antibiogramme)

La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est réalisée selon la méthode de diffusion de disques en milieu gélose et permet la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Les antibiotiques testés sont mentionnées dans le **(Tableau n°03)**

A l'aide d'un écouvillon stérile, un volume de suspension microbienne standardisée a été ensemencé par étalement sur un milieu de culture gélosé approprié (Mueller Hinton). Puis laisser sécher 10à15 min à la température ambiante **(Denis et al., 2011)**.



Figure n°15 : Prélèvement de la suspension microbienne puis ensemencement sur milieu gélosé.

Ensuite , des disques d'antibiotiques correspondants ont été déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface de milieu. Les boites de pétri ont été fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 1H. elles ont été par la suite portées à incubation à 37°C pendant 24 à 48H **(figure n°16)**.

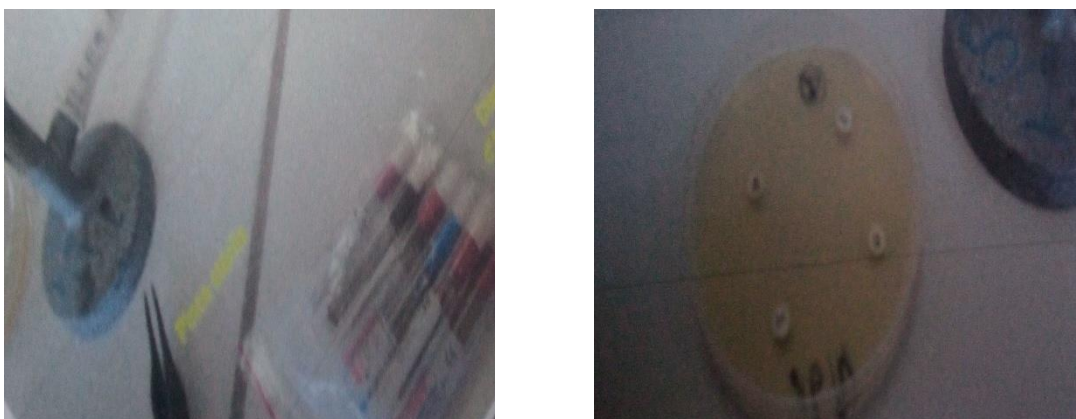


Figure n°16: Dépôt des disques d'antibiotiques à la surface du milieu gélosé.

La lecture des résultats a été faite par la mesure de la zone d'inhibition, qui est représentée par une auréole formée autour de chaque disque ou aucune croissance n'est observée.

Les résultats obtenus sont comparés aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes, ce qui permet de classer la bactérie l'une des catégories ; sensible (S), résistante (R) ou intermédiaire (I). selon la standardisation national de l'antibiogramme en médecine humaine et vétérinaire de l'année 2011 et le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (2015) (*Ammari et al., 2011 ; Jehl et al., 2015*).

Tableau n°03 : les antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme (*Ammari et al., 2011 ; Jehl et al., 2015*)

| Sigle | Antibiotique | Charge du disque en ug |
|--------------|---------------------------------|-------------------------------|
| CIP | Ciprofloxacine | 5 |
| CN | Gentamicine | 30 |
| TI | Ticarcyline | 75 |
| CAZ | Ceftazidime | 30 |
| TOB | Tobramycine | 10 |
| COL | Colistine | 10 |
| FF | Fosfomycine | 50 |
| VA | vancomycine | 30 |
| NET | Nétilmicine | 10 |
| P | Pénicilline G | 1 |
| PRL | Pipéracilline | 30 |
| FEP | Céfépime | 30 |
| LEV | Lévofloxacine | 5 |
| IPM | Imipénème | 10 |
| TIM | Ticarcilline-Acide clavulanique | 75-10 |

IV.3.1 Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

IV.3.2.Aromatogramme

L'aromatogramme est un test de laboratoire qui permet aux phytothérapeutes d'analyser in vitro l'activité antibactérienne des huiles essentielles et de sélectionner plus précisément les huiles essentielles capables de supprimer ou de détruire les germes pathogènes (**Damian et Damian ,1995**) .Différents types d'aromatogrammes , des milieux solides , liquides , sont exploitables . Cependant, dans la pratique quotidienne, le milieu solide est le plus facilement reproductibles (**Pibiri, 2005**) .

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été déterminée par la méthode de diffusion en gélose (**Hazzit et al., 2009**). On prépare des boite de pétri (90 mm de diamètre) en versant 20ml de milieu agar Mueller Hinton (MHA) et on laisse solidifier et sécher pendant 30min .

Etre-temps ,la densité des suspensions bactériennes a été ajustée par l'eau physiologique stérile en utilisant un spectrophotomètre UV pour attenindre la concentration finale de 10^6 UFC/ml (Mohapatra et al.,2011). Un volume de suspension microbienne standardisée a été ensemencé par étalement et étendu uniformément sur la gélose (MH)et laissé sécher pendant 5min .

Des disque stériles de papier Wattman de mm de diamètre , contenant 10ul d'huile essentielle pure , sont déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface des boites ensemencées (un disque par boite) .



Figure n° 17 : Dépôt des disque contenant l'huile essentielle de Pistacia lentiscus à la surface des boites ensemencées.

Les boîtes sont ensuite fermées et laissées diffuses pendant 15min à température ambiante puis incubées à 37° C pendant 24 heures. Trois essais sont réalisés pour chaque test avec témoins utilisés comme contrôle négatif négatif . Les diamètres sont mesurés en mm et le résultat étant la moyenne des trois essais.

IV.3.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance microbienne de 90% (SKandamis et Nychas ,2001). Sa détermination a été réalisée en milieu solide selon la méthode rapportée par Remmal et al., 1993 et Farah et al.,2001 .

Afin de disperser les composés de l'huile essentielle et d'améliorer leur contact avec les germes à tester , la solution mère de l'huile essentielles est préparée par émulsion à raison de 10% (DMSO)

Des dilutions successives de la solution obtenue sont ensuite effectuées dans la solution de DMSO au 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320.

1,5 ml de chacune des dilutions est introduit dans une boîte pétri contenant 13,5 ml du milieu MH et on fait tourner les boîtes d'un mouvement circulaire jusqu'à l'obtention d'un milieu homogène. la gamme de concentration finale d'huile essentielle utilisée est de : 1/100, 1/200 , 1/400 , 1/800, 1/1600 , 1/3200 , 1/6400 (v/v) (tableau n°04) (figure n°18) .

A l'aide d'une anse calibrée, un ensemencement des suspensions bactériennes standardisée est effectué en stries (figure n° 18) . Les boîtes pétri sont ensuite portés à incubation à 37°C pendant 24 -48H. Des contrôles négatifs ne contenant que le DMSO et l'inoculum ont été également préparés. Les essais sont effectués en triples pour chacune des concentrations d'huile essentielle utilisée.

| Tube | Huile essentielle (ul) | D.M.S.O (ul) | Concentration (v/v) | Gélose MH coulé (ul) | Concentrations finales (v/v) |
|--------|------------------------|--------------|---------------------|----------------------|------------------------------|
| 1 | 150 | 1350 | 1/10 | 13500 | 1/100 |
| 2 | 75 | 1425 | 1/20 | 13500 | 1/200 |
| 3 | 37,5 | 1462,5 | 1/40 | 13500 | 1/400 |
| 4 | 18,75 | 1481 ,25 | 1/80 | 13500 | 1/800 |
| 5 | 9,375 | 1490,625 | 1/160 | 13500 | 1/1600 |
| 6 | 4,687 | 1495,313 | 1/320 | 13500 | 1/3200 |
| 7 | 2,3435 | 1497 ,6565 | 1/640 | 13500 | 1/6400 |
| Témoin | 0 | 1500 | 0 | 13500 | 0 |

La lecture des résultats se fait à l'œil nu par observation et la CMI correspond à la plus faible concentration d'huile à laquelle aucune croissance microbienne n'est visible .



Figure n° 18 : Ensemencement des suspensions bactériennes standardisées

Chapitre V

Résultats et Discussion

V.1-Extraction des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus*.

V.1.1- Rendement en huile essentielle (R).

Selon le travail présenté par **Dris, (2019)**, le rendement en huile essentielle de *Pistacia lentiscus* extraite par hydrodistillation a été calculé selon la formule suivante (**vagi et al.,2005**).

$$R = \text{Masse d'huile essentielle (g)}/\text{Masse du matériel végétal utilisé (g)} * 100$$

Les résultats obtenus sont résumés dans le **tableau n°05**

Tableau n°05:Quantité d'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* extraites par hydrodistillation

| Essai N° | Masse du matériel végétal utilisé en g | Volume d'eau distillée en ml | Masse des huiles extraites en g | Rendement en huile essentielle % | Rendement moyen % |
|-----------|--|------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-------------------|
| 01 | 300 | 2000 | 1,247 | 0.415 | 0.42 |
| 02 | 300 | 2000 | 1,275 | 0.425 | |
| 03 | 300 | 2000 | 1,266 | 0.422 | |

Les résultats de **tableau n°05** montrent que le rendement en huiles essentielles obtenues à partir feuilles et rameaux du *Pistacia lentiscus* est de l'ordre de 0.42%.

Une autre étude réalisée par **Arabi (2018)** sur l'espèce provenant de la région de Mostaganem située au nord ouest de l'Algérie, a montré également un rendement en huiles essentielles assez proche estimé à 0.4 %.

V. 2-Etude de l'activité antimicrobienne

V.2.1- l'Antibiogramme

Selon l'étude menée par **Dris, (2019)**, l'évaluation de la sensibilité des bactéries testées par antibiogramme est illustrée dans les **figures (20-26)**.

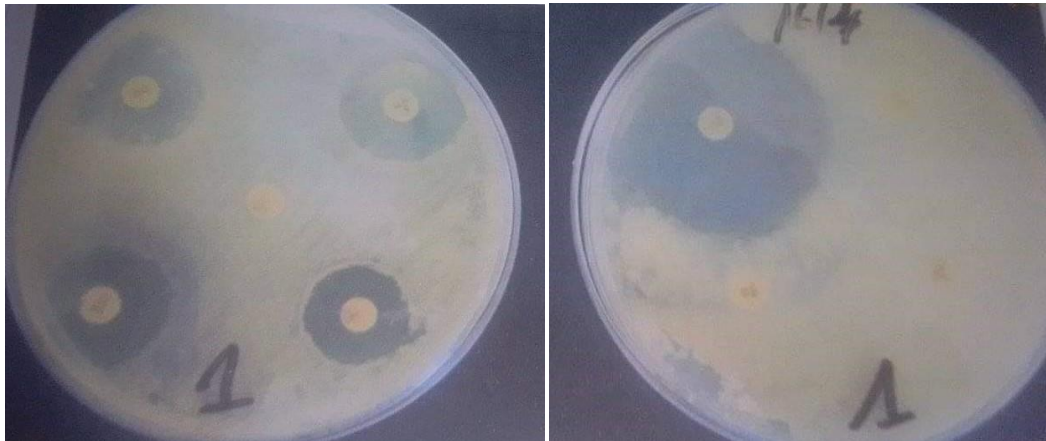


Figure n°19 : Résultats de l'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa*.

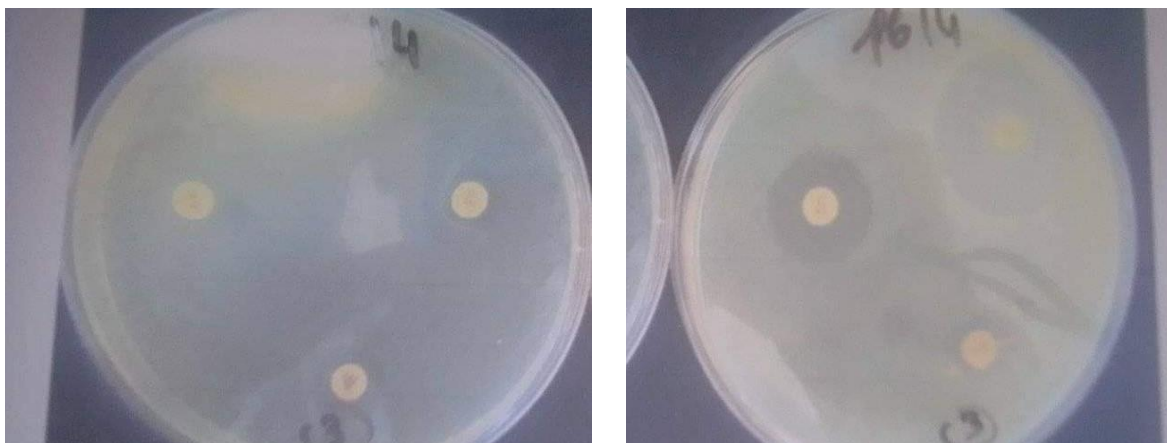


Figure n °20: Résultats de l'antibiogramme de *Proteus mirabilis*

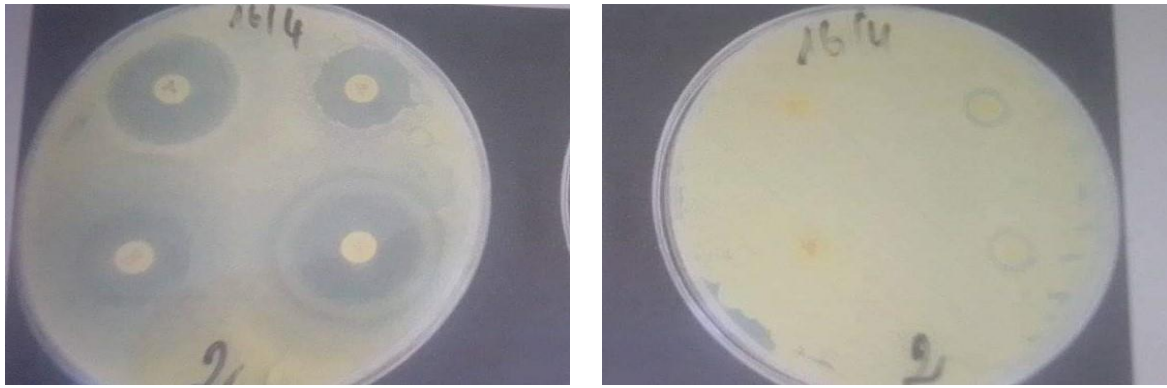


Figure n° 21: Résultats de l'antibiogramme d'*Acinetobacter baumannii*

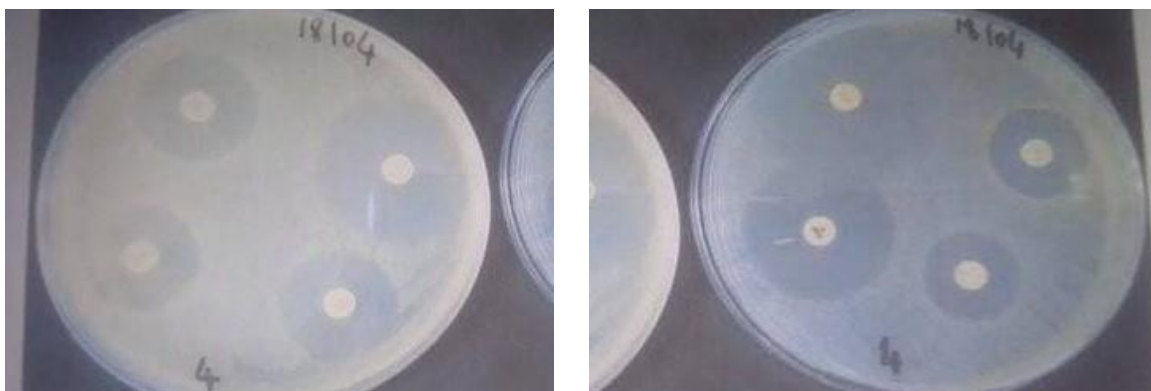


Figure n° 22 : Résultats de l'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*



Figure n° 23: Résultats de l'antibiogramme de *Bacillus cereus*

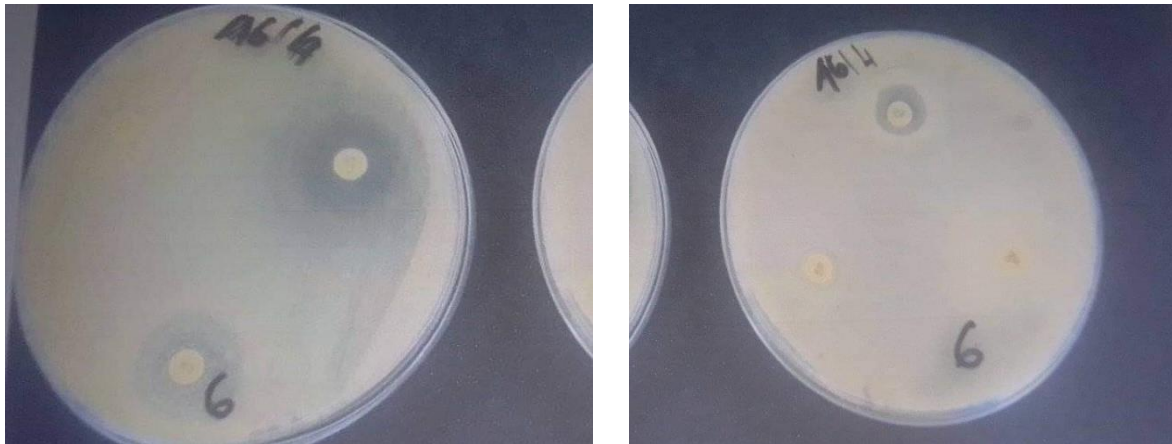


Figure n°24 : Résultats de l'antibiogramme de *Salmonella enterica*.

D'après les résultats présentés dans **tableau n°07**, l'activité antibactérienne des antibiotiques testés, on constate une large variation des diamètres des zones d'inhibition allant de 0 à 40 mm.

Selon **Ponce et al., (2003)** et **Moreira et al., (2005)**, la sensibilité des germes a été classée par le diamètre des halos d'inhibition comme suit : non sensible (-) pour les diamètres moins de 10 mm ; sensible (+) pour les diamètres de 10 à 14 mm ; très sensible (++) pour les diamètres de 15 à 19 mm et extrêmement sensible (+++) pour les diamètres de plus de 20mm.

Parmi les antibiotiques qui ont donné les plus grandes zones d'inhibition, on distingue: Imipénème contre *Pseudomonas aeruginosa* (40mm) , Fosfomycine contre *Staphylococcus aureus* , *Proteus mirabilis* (35,31mm) et Lévofloxacine contre *Acinetobacter baumannii* et *Staphylococcus aureus* (31 ,32 mm respectivement).

Tableau n°06: Résultats de l'antibiogramme exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition (mm).

| Antibiotiques | <i>P. aeruginosa</i> | <i>A. baumannii</i> | <i>p. mirabilis</i> | <i>S. aureus</i> | <i>B. cereus</i> | <i>S. enterica</i> |
|------------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|------------------|------------------|--------------------|
| Ciprofloxacine | 23±0.5 | 25±1 | 19±1 | 30±0.80 | ■ | ■ |
| Gentamicine | 21 ±1 | 20±1.50 | 19±1 | 22±0.5 | ■ | 20±0.5 |
| Ticarcyline | ■ | 08±0.1 | 13±1 | ■ | ■ | 09±0.5 |
| Ceflazidime | 0 | 0 | 14±0.5 | ■ | 0 | 0 |
| Tebramycine | ■ | 18±1.40 | ■ | 23±0.5 | ■ | ■ |
| Colistine | 07±1 | ■ | ■ | ■ | 0 | ■ |
| Fosfomycine | 22±0.8 | ■ | 31±2 | 35±1 | 19±0.5 | 19±0.5 |
| Vancomycine | ■ | ■ | ■ | 20±0.5 | ■ | ■ |
| Nétilmicine | 19±1 | ■ | ■ | 19±1 | ■ | ■ |
| Pénicilline G | ■ | ■ | ■ | 20±1 | 9±0.5 | ■ |
| Pipéracilline | ■ | 13±0.5 | 10±1 | ■ | ■ | 13±0.5 |
| Céfépime | 0 | 0 | ■ | ■ | ■ | ■ |
| Lévofloxacine | ■ | 31±0.5 | ■ | 32±1 | ■ | ■ |
| Ticarcilline-A. Clavulanique | 0 | ■ | 0 | ■ | ■ | 09±1 |

■ <10 mm Résistante (non sensible); ■ 10 à 14 mm sensible ; ■ 15 à 20 mm très sensible ; ■ > 20 mm Extrêmement sensible.

Par ailleurs, les antibiotiques qui se sont montrés inactifs contre les bactéries sont représentés par: Colistine contre *Bacillus cereus*, Ceflazidime vis-à-vis *Bacillus cereus*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*, Céfépime vis-à-vis de ces deux dernières ainsi que Ticarcilline-A Clavulanique contre *pseudomonas aeruginosa* et *Proteus mirabilis*.

Toutefois, trois bactéries ont présenté une résistance vis-à-vis des antibiotiques testés, *Acinetobacter baumannii* contre Ticarcylone (8mm), *Pseudomonas aeruginosa* contre Colistine et *Bacillus cereus* contre Pénicilline G (9mm).

V.2.2-l'aromatogramme

Selon les résultats des travaux menés par **Abed, (2018)**, l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélose a permis d'obtenir les résultats présentés dans le **tableau n°08** et la **figure n°22** illustrées ci- dessous :



Figure n°25 : Résultats de l'aromatogramme des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus*

L'activité antibactérienne des huiles essentielles pures de *Pistacia lentiscus* montrent une inhibition de croissance des souches cibles par une variation des diamètres d'inhibition allant de 16 à 23mm.

Tableau n°07 : Résultats de l'aromatogramme exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition

| N° | Souches | Diamètres (mm) |
|----|--------------------------------|----------------|
| 1 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 16 |
| 2 | <i>Acinetobacter baumannii</i> | 20 |
| 3 | <i>Proteus mirabilis</i> | 12 |
| 4 | <i>Staphylococcus aureus</i> | 19 |
| 5 | <i>Bacillus cereus</i> | 19 |
| 6 | <i>Salmonella enterica</i> | 23 |

La plupart des études ayant abordé l'activité des huiles essentielles entières sur l'inhibition des micro-organismes et agent pathogène ont conclu que les huiles essentielles sont légèrement plus actives contre les bactéries à Gram positif que celles à Gram négatif (Mahboubi et Haggi, 2008 ; Morteza-Semnani et al., 2011). Ceci semblerait prévisible, car ces germes sont dotés d'une membrane externe entourant la paroi cellulaire, ce qui limite la diffusion des composés hydrophobes à travers sa couche lipopolysaccharidique

Nous remarquons que *Salmonella enterica* est la seule souche extrêmement sensible aux huiles essentielles (23mm), suivi par *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, et *Pseudomonas aeruginosa* qui sont très sensibles (20,19,19,16,mm respectivement).

Cependant, *Proteus mirabilis* est la bactérie la moins sensible aux huiles de *Pistacia lentiscus* en comparant avec les autres souches (12mm), car celle-ci est connue pour sa faible sensibilité aux huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* (Tahiri,2008 ; Bammou et al.,2016).

(Hayder et al., 2005 ; Debbabi et al., 2017) ont montré également l'effet positif des huiles essentielles des feuilles et rameaux de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa* , *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*.

D'autres travaux confirment que l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* possède un effet antimicrobien puissant contre un large éventail de microorganismes (Magiatis et al., 1999 ; Koutsoudaki et al ., 2005 ; Mharti et al., 2011).

V.2.3 - Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Selon l'étude de Abed, (2018), la CMI de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L a été testée à des concentrations allant de 1/100 à 1/6400 (v /v) (tableau n° 09).

Tableau n°08: Concentration minimale inhibitrice (CMI) de huile essentielle de *Pistacia lentiscus* vis-a-vis les six bactéries testées

| Bactéries | Concentration de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i> (v/v) | | | | | | | |
|--------------------------------|---|-------|-------|--------|--------|--------|--------|----|
| | 1/100 | 1/200 | 1/400 | 1/800 | 1/1600 | 1/3200 | 1/6400 | T |
| | 1% | 0,5% | 0,25% | 0,125% | 0,625% | 0,312% | 0,156% | 0% |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | - | - | - | - | - | + | + | + |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | - | - | - | - | - | + | + | + |
| <i>Proteus Mirabilis</i> | - | - | - | - | - | + | + | + |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | - | - | - | + | + | + | + | + |
| <i>Bacillus cereus</i> | - | - | - | + | + | + | + | + |
| <i>Salmonella enterica</i> | - | - | - | - | + | + | + | + |

- : Absence de croissance ; + présence de croissance.

D'après les résultats obtenus dans le **tableau n°09** , il apparaît que *Pseudomonas aeruginosa* , *Acinetobacter baumannii* et *Proteus Mirabilis* ont été inhibées avec la plus faible concentration de 1/1600(v/v). Cependant, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* ont été inhibées avec la plus grande concentration de 1/400 (v/v). Par ailleurs, une concentration moyenne de 1/800(v/v) a été obtenue avec *Salmonella enterica*.

Vu les faibles concentration d'inhibition des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* contre plus de deux bactéries Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa* , *Acinetobacter baumannii* et *Proteus mirabilis*) avec 1600(v/v) , on déduit que les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* ont un effet plus prononcé contre les souches Gram négatif que contre les Gram positif. Cela rejoint l'hypothèse de **Zaika, (1988)** où les bactéries Gram positif seraient plus résistantes que les bactéries Gram négatif aux huiles essentielles. En effet, plusieurs chercheurs ont signalé qu'il existe une relation entre les composés volatils les plus abondants dans l'huile essentielle

testée et l'activité antimicrobienne (**Koutsoukadi et al ., 2005 ; Ghalem et Mohamed, 2009**).

Selon **Rios et Recio (2005)**, les extraits ou les huiles d'espèces végétales avec des valeurs de CMI inférieures à 100 sont considérés comme prometteurs en tant qu'agents antimicrobiens potentiels. **Haloui et al., (2015)** ont signalé que l'huile essentielle présentait un effet antibactérien plus élevé avec des valeurs de CMI de 0.5, 4 et 16% contre *Bacillus sp*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* respectivement.

Selon **Hafse et al., (2017)**, la concentration minimale inhibitrice pour *Bacillus sp* et *Staphylococcus aureus* était de 1/250 (v /v), tandis que les souches les plus résistants étaient *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella sp* avec une CMI de 1/125 (v /v).

D'après **Oussalah et al., (2006)**, l'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique , les groupes fonctionnels des composés majoritaires et les effets synergiques entre ces derniers et les composés mineurs. Ceci pourrait expliquer les différences constatées dans les résultats obtenus.

CONCLUSION

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Avec la prévalence des microorganismes pathogènes résistants aux antibiotiques, nous notons un regain d'intérêt pour les molécules naturelles extraites à partir de ces dernières. L'Algérie par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse.

Notre pays jouit d'une biodiversité considérable, elle possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques.

Dans le cadre d'une valorisation de ces ressources, notre travail a fait l'objet d'une étude phytochimique d'une espèce végétale à savoir *Pistacia lentiscus*, en analysant leur composition chimique de leurs huiles essentielles mais aussi, en évaluant leurs propriétés biologiques telles que, l'activité antimicrobienne.

L'analyse des huiles essentielles des feuilles et rameaux obtenues par chromatographie en phase gazeuse couplée à la masse a permis d'identifier 35 composés volatils.

Les résultats de travaux antérieurs ont également rapporté la présence de certains de ces composés majoritaires à des teneurs variées mais aussi, l'absence de certains d'autres par comparaison avec notre échantillon. Les différences de composition chimiques rencontrées dans les essentielles du point de vue qualitatif et quantitatif, peuvent être attribuées à un ou plusieurs facteurs aussi bien extrinsèques.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a permis de montrer par la méthode d'aromatogramme, une activité inhibitrice contre les 6 souches de référence testées, la plus sensible est *Salmonella enterica*.

L'activité antimicrobienne exercée par les huiles de *P. Lentiscus* pourrait être attribuée au β - Pinène, γ -terpinène, Sabinène et β -Phellandrène.

Par comparaison aux huiles essentielles de *P. lentiscus*, les antibiotiques n'étaient pas tous actifs contre les souches testées, certains étaient même inactifs tels que Cefotaxime, Céfépime et Ticarcilline – A. Clavulanique. Le plus grand diamètre d'inhibition a été enregistré par l'Imipénème (40mm) contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853.

L'ensemble des résultats obtenus au cours de notre travail , constitue une première étape dans la recherche des substance de source naturelle biologiquement active , il serait intéressant d'étayer ce travail en :

- ✚ Extrayant les huiles de d'autres parties de plante et les étudier
- ✚ S'intéressant à identifier les molécule responsable des activités biologiques afin d'élucider leur mécanisme d'action en vue de supplanter les substances synthétiques utilisées en thérapeutique ou en industrie
- ✚ Etudiant les mécanismes d'action et les facteurs influençant l'efficacité des huiles essentielles
- ✚ Propriétés biologique des huiles essentielles .

Référence
bibliographiques

- Aburjai T . ; Natsheh F.M, 2003** ,Plants used in cosmetics .Pyther .Res ,17 ,987-1000p
- AFNOR (Association Française de Normalisation), 1986** Recueil des normes française’’ huiles essentielles ‘’. AFNOR, Paris, 57p
- Ali-Shtayeh MS, Abu Ghdeib SI. 1999.** Antifungal Activity of Plant Extracts Against Dermatophytes. *Mycoses*, **42** (11-12), 665-672.
- AI-MS, Ageel AM, parmar NS, Tariq M.1986.** Evaluation of mastic, a Crude Drug obtained from pistacia lentiscus for Gastrique and Duodenal Anti-ulcer Activité. *Journal of Ethnopharmacology* ,15 271-278.
- Amarti F, Satrani B, Aafi A , Ghanmi M, Farah A , Aberchane M, EI Ajjouri M, El Antry S et Chaouch A.(2008).** Composition chimiques et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et *Thymus bleicherianus* du Maroc. *Phytothérapie* .6, 342-347
- Amazian,K. ,Rossello,J., Castella,A.,Sekkat., Terzaki,S. , Dhidah,L. et al.(2010)**(Prevalence of nosocomial infections in 27 hospitals in the Mediterranean région). *East Mediterr Health J* : 1070-1078.
- Anton R ., Lobstein A,2005,** Plantes aromatique .Epices, aromates, condiments et huiles essentielles .Tes &Doc,Paris.
- Aoued L., Benlarabi S. and Soulaymani-Benchikh R. (2010).** Maladies d’origine alimentaire Définition , Terminologie, Classification .*Toxicol.Maroc*.6, 1-16.
- Aprotosoie A.C .;Spac A.D.,Hancianu M ., Miron A., TanasescuV.F.,Dorneanu V.,Stanescu U ,2010** , the chemical profile of essenials oils obtained from fennel fruits .*FARMACIA* ,58(1), 46-54p
- Assimipoulou AN, Papageorgiou VP.2005.** GC-MS analysis of penta – and tetracyclic triterpenses from resins of pistacia species. Part I. pistacia lentiscus var.Chia . *Biomedical Chromatography*.**19** (4), 285-311.
- Bajpai V.K.,Kang S.C,2010,** Antifungal activity of essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* MiKi ex Hu.*J Am.Oil.Chem.Soc*, 87(3), 327-336p.
- Balan KV , Dementzos C, Prince J, Dimas K, Cladaras M, Han Z, Wyche JH, Pantazis P. 2005.** Induction of apoptosis inhuman colon cancer HCT116 cells treated with an extract of the plant product . Chios mastic gum. *In Vivo* , 19,93-102.
- Balan KV, Prince J,Han Z ,Dimas K ,Cladaras M ,Wyche GH , Sitaras NM,Pantazis P.2007.** Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer celles treated in vitro with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus* L. var.Chia.*Phytomedicine* ,14(4),263-172.

- Bammou M.,A.Daoudi E.,Bammou S.Zarkani I.Slimani J. Ibjbien L .Nassiri, 2016**, Valorisation du lentisque (*pistacia lentiscus* L.) : Etude ethnobotanique,Screening phytochimique et pouvoir antibactérien.Journal of Applied Biosciences 86 :7966-7975.
- Barazani OZ,Dudai N, Golan-Goldhirs A.**2003. Comparaison of Mediterranean *pistacia lentiscus* Genotype by Random Amplified Polymorphic DNA , Chemical and Morphological Analyses . Journal of Chemical Ecology , **29** (8),1939-1952.
- Barry N,2001** ,Art d'extraire les huiles essentielles ; de parfum à faire soi même .Tec &Doc .Lavoisier ,Paris , 125-128p
- Baser K.H.C.,Buchbauer G , 2010** , Handbook of essential oils : science , technology and applications . CRC Press , taylor and francis group , LLC . Boca Raton .New York 994p.
- Belhadj,S.,2000**. Les pistacheraies algériennes : Etat actuel et dégradation ,Centre Universitaire de Djelfa , Algérie .108 P.
- Ben Douissa F ., 2004.-** Etude chimique et Biologique de *pistacia lentiscus* . AbeBooks. Fr pp.330-331.
- Bernadet M ,2000** ,Phyto-aromathérapie pratique ,plantes médicinales et huiles essentielles . Dictionnaire thérapeutique de 530 affections courantes .France ,384p
- Bouchonnet S., Libong D, 2002**, le couplage chromatographique en phase gazeusespectrométrie de masse. Dépaetement de chimie, Laboratoire des mécanismes réactionnels .Ecole Polytechnique, PALAISEAU Cedex
- Bullten,2003** , introduction a extraction
- Bruneton J , 1993** , Pharmacognosie .Phytochimie ,Plante médicinales . 2éme édition, Tec &Doc .Lavoisier , paris ,915p
- Bruneton J,1999**, Pharmacognosie .Phytochimie ,Plante médicinales . 3éme édition, Tec &Doc .Lavoisier , paris ,1120p
- Burt S.** 2004. Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in foods – a review . International Journal of Food Microbiology, 94 (3), 223-253.
- Carette A.S,2000** ,La lavonde et son huile essentielle . Thèse de doctorat ,université de Toulouse ,France ,100p
- Carillon A , 2009** , Place de la phytothérapie dans les systèmes de santé au XXIéme siècle .Conférence SIP AM ,Djerba ,tunisie , Mars 2009 ,7p
- Castola V , Bighelli A, Casanova J.** 2000. Intraspecific chemical variability of the essential oil of *pistacia lentiscus* L. from Corsica .Biochemical Systematic and Ecology, **28** (1) , 79-88.

- Charef M, Yousifi M , Saidi M, Stocher P.** 2008. Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **85** ,921-924.
- Charpentier B .,Hamon-Lorleac'h F .,Harlay A ., Huard A ., Ridoux L ., Chanselle S ,2008** , Guide du préparateur en pharmacie. 3^{ème} édition , Elsevier Masson, Parie, 1358p
- Clos J ,2012**, Immunité chez animaux et les végétaux : Aspects fondamentaux et physiopathologiques. Lavoisier, Paris, 432p.
- Cristiani M., D'arrigo M ., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M.G., Micieli D , 2007**, Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes : Implication for their antibacterial activity. *Journal of agricultural and food Chemistry*, 55(15), 6300-6308p.
- CRONBERG.SBEYTOUT.J et REY.M.1988.** Maladies infectieuses,Masson, paris .P1, 49,50,106,107,109,114,115,128,129.
- Daferera D, Pappas C , Tarantilis PA, Polisiou M.**2002.Quantitative analysis of α -pinene and β -myrcene in mastic gum oil using FT-Raman spectroscopy – *Food Chemistry* , **77** (4) ,511-515.
- Dauphin,P&J.C.Aniotsbéhère.-les Galles de France (2^e édition).** Mémoires Soc. Linn.Bordeaux, Tome 2,1997.
- Davidson P.M ,Parish M.E** , 1989,Methods for testing the efficacy of food antimicrobial .*Food Technology* ,43(1) 148-155p.
- Dayan F.E. , Cantrell C.L., Duke S.O ,2009**, Natural products in crop protection *Bioorganic & Medicinal chemistry* , 17,4022 -4034p
- Degryse A.C .,Delpla I and voinier M.A ,2008** , Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles . *Atelier santé environnement – IGS-EHESP* ,87p
- Demoré B. ,Grare M. ,Duval R.E ,2012**,Généralité sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation .In :*Pharmacie clinique et thérapeutiques* (coordonné par Jcalop.,S Limat.,C Fernandez et G Aulagner),pp801-844.4^{ème} édition , Elsevries Masson,Paris.
- Derwich E,Manar A,Benziane Z ,Boukir A.**2010. GC/MS Analysis and in vitro antibacterial activity of the essential oil isolated from leaf of *pistacia lentiscus* growing in Morocco.*applied Sciences Journal*,8(10), 1267-1276.
- Desmares C.,laurent A., Delerme C ,2008** ,Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. AFSSAPS. Anatole , France ,18p

- Dethier M,1996**, Contribution à l'étude des plantes aromatique du burundi . thèse doctorat , université de montpellier 2 .france . 182p
- Dung N.T., Kim J.M. ,Kang S.C,2008** , Chemical composition , Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12), 3632-3639p.
- Edris A.E, 2007** , Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents :A review .*Phytother .Res* ,21 ,308-323p
- Fillatre Y, 2011** , Produits phytosanitaires :thèse de doctorat . Université d'Agers .France ,288p
- Franchomme P .,Pénoel D ,1990** , l'aromathérapie exactement . Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles .Edition Roger Jallois , Limoges , France , 445p
- Garnéro J , 1991** ,Les huiles essentielles , leur obtention , leur composition , leur analyse et leur normalisation .Encyclopédie des médecines naturelles , Paris ,France ,2-20p
- Gaynes,R.,and Edwards,J.R.(2005)** Overview of nosocomial infections caused by gramnegative bacilli.*Clin infect Dis* 41 : 848-854.
- Ghalem BR,Mohamed B .2009** . Antimicrobial activity evaluation of the oleoresin oil of *Pistacia vera* L. *African Journal of pharmacy and pharmacology* ,3(3)
- Giner-Larza EM,Manez S, Giner – Pons RM, Recio MC, Rios JL. 2000.**On the anti-inflammatory and anti-phospholipase A2 activity of extracts from lanostane-rich species. *Journal of Ethnopharmacology* , 73(1-2),61-69.
- Goldmann D.A.,Weinstien R.A.,Wenzel R.P., Tablan O.C .,Duma R.J.,Gaynes R.P ,Schlosser j .,Martou W.J,1996** , Strategies to prevent and control the emergence and spread of antimicrobial –resistant microorganisms in hospitals .A challenge to hospital leadership .*JAMA* ,275 (3) , 234-240p
- Grysole J ,2005** , la commercialisation des huiles essentielles . Corporation laseve .Québec , canada
- Hanberger H., Garcia –Rodriguez J.A ., Gobernado L., Goosseens H ., Nilsson L.F., Struelens M.J,1999** , Antibiotic susceptibility among aerobic gram-négative bacilli in intensive care units in 5European countries . French and portuguese ICU Study Groups . *JAMA*,281 (1) , 67-71p
- Hemma R ., Belhadj S ., Saidi F ., Hamrioui B.,2017** , Evaluation de l'activité antifongique de *pistacia lentiscus* .Conference paper ,PREMIER SEMINAIRE NATIONAL DE PHYTOTHERAPIER ET SANTE à Boumardes .

- Hernandez –Ochoa L.R,2005** , Substitution de solvants et matière actives de synthèse par combiné « Solvant \Actif ».Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de toulouse . France
- Homburger F . , Boger E , 1968**, The carcinogenicity of essential oils , flavors and spices : A review . canada Res ,28 ,2372 -2374 p
- Iauk L, Ragusa S ,Rapisarda A, Franco S, Nicolosi VM.1996**.In vitro Antimicrobial Activity of pistacia lentiscus L. Extracts : Preliminary Report. Journal of chemotherapy , **8**,207-209
- Isman M.B., 2000** ,Plant essential oils for pest and disease management . Crop Protection , 19 ,603-608 p
- Janakat S ,Al- Merie H. 2002**. Evaluation of Hepatoprotective effet of pistacia lentiscus , phillyrea latifolia and Nicotiana glauca .Journal of Ethanopharmacology, 83(1-2), 135-138.
- Kalembe D,Kunicha A . 2003**. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry Journal, **10**(10) ,813-829
- Kalembe D,Kunicha A , 2003**, Antibacterial and antifungal properties of essential oils.Curr.Med.Chem,10(10),813-829p
- Kivcak B,Akay S , Demirci B, Baser KHC.2004**. Chemical composition of essential oils from leaves and twigs of Pistacia lentiscus ,Pistacia lentiscus var . chia and Pistacia terbinthus from Turkey. Pharmaceutical biology ,**42**(4-5) , 360-366.
- Kordali S, Cakis A, Zengin H, Duru ME.2003**. Antifungal activities of the leaves of three pistacia species grown in turkey . Fitoterapia ,**74**(1),164-167.
- Kusuma HS ,Mahfud M.2017** The extraction of essential oilos from patchouli leaves using a microwave air-hydrodistillation method as a new green technique the Royal Society of chemistry , 7(3),1336 -1347 .
- Lahlou M ,2004** ,Méthods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils phytotherapy Research ,18 ,435 -448p
- Leffingwell J .C , (Consulté le 24 Janvier 2011) ,Rose (Rosa damascena).Disponible sur <http://www.leffingwell.com/rose.htm>
- Loutrari H, Magkouta S , Pyriochou A , Koika V , Kolisis FN ,Papapetropoulos A, Roussos C . 2006** .Mastic oil from Pistacia lentiscus var .chia. inhibits growth and survival of human K562 leukemia cells and attenuates angiogenesis . Nutrition and Cancer ,**55**(1) , 86-93 .

- Luigia L, Anna S , Giuseppe V .** 2007. Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L. *phillyrea latifolia* L. and *Rubia peregrina* L. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* ,8(3) , 360-364.
- Mapoli G,2003** , Variations individuelle et saisonnière de la teneur et de la composition des huiles essentielles de *E . citriodora* acclimaté à pointe-noire (Congo-brazzaville) . Mémoire d'études approfondies , Université de Congo ,58p
- Ministère de l'agriculture et de la pêche , 2008**, plan écophyto 2018 de réduction des usages de pesticides 2008 -2018 .*Ecophyto 2018* ,24p
- Marone P,Bono L , Leone E ,Bona S , Carretto E , Pervers , L.** 2001. Bactericidal activity of *Pistacia lentiscus* mastic gum against *Helicobacter pylori*.*Journal of Chemotherapy* , 13(6) ,611-614
- Mitchell A.** 1986. Le multiguide nature de tous les Arbres de nos Forêts . Edition Bordas ,414.
- More D , White J.**2005. Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde.1^e édition , Flammarion ,832.
- Morin P., Richard H , 1985** ,Thermal degradation of linalyl acetate during steam distillation in proc . 4 Fh Weurman Flav .Res .Symp .Elsevier Sci .Publ . , B.V. Amsterdam ,563-576p
- Naganuma M . , Hirose S ., Nakayama Y ., Nakajima K.,Someya T,1985** ,Astudy of the phototoxicity of lemon oil .Arch .Dermatol .Ros , 278,31-36p
- Nauciel C . , Vildé J.-L,** 2005, Bactériologie médicale : Abrégés.Connaissances et pratiques . 2^eme édition ,Elsevies Masson , Paris, 257P
- Olle M ., Bender I ,2010** , the content of oils in Umbelliferous crops and its formation *Agronomy Research* 8(3),687-696p
- Oussou K.R. , Kanko C., Guessennd K.N., Yolou S. , Koukaoua G., Dosso M. , N'guessan Y.T., Figueredo G., Chalchat J.-C,2004** , Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes de Cote d'Ivoire. *C.R.Chimie*, 7(10-11), 1087-1086p.
- Papageorgiou VP, Bakola, Christianopoulou NM, Apazidou KK.**1997. Gaz chromatography mass spectroscopic analysis of the acidic triterpenic fraction of mastic gum.*Journal of Choromatography A*, 729,263-273.

- Piochon M ,2008** , Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne ; composition chimique , activités pharmacologique et hémi-synthèse . Mémoire .Université du Quebec à chicoutimi .Canada,200p
- Quezel P.Et Santa S. , 1962-1993.** Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales . paris C.N.R.S., 2 volumes .1170p
- Razafindrakoto B.S,1988,**Huiles essentielles d'Eucalyptus de madagascar ,thèse de Doctorat ,Université de Montpellier 2 , France ,225p
- Remila S, Atmani –kilani D ,Delemasure S , Connat JL , Azib L ,Richard T ,Atmani D . 2015 .** Antioxydant ,cytoprotective , anti-inflammatoire et anticancer activities of pistacia lentiscus (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts .European journal of Integrative Medicine ,7(3) , 274 -286
- Richard H ,1992** , Epices et aromates .Edition Tec &Doc . Lavoisier , Paris ,339p
- Romani A, Pinelli P , Galardi C,Mulinacci N. 2002.** Identification and quantification of galloyl derivatives ,flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of pistacia lentiscus L. Phytochemical Analysis , **13**(2), 79-86.
- Rosato A, Piarulli M, Corbo F, Muraglia M, Carone A , Vitali ME et Vital C .** (2010). In Vitro synergistic Action of Certain Combination of Gentamicin and Essential Oils. Current Medicinal Chemistry . **17**,3289-3295.
- Saadoun S.N. ,2002.**Types stomatiques du genre Pistacia : Pistacia atlantica Desf. Ssp. Atlantica et Pistacia lentiscus L. Natural Resources Laboratory, Cité des 300 Logements , Bt .F2, No. 183, Boukhalfa ,Tizi-Ouzou, Algérie.Options Méditerranéennes , Série A, N°63.P371.
- Samira Belabed .(2018).**4.000 à 5.000 cas de toxi-infections alimentaires collectives chaque année . Revue algérienne .
- Scherrer AM, Motti R, Wecherle CS.** Traditional plant use in the areas of monte vesole and ascea, cilento national park (compania, southern Italy). Journal of Ethnopharmacology ,**97**(1) , 129-143.
- Seidemann J . 2005.** World spices Plantes :Economic Usage ,Botany , Taxonomy.Springer, 592
- Senatore F, 1996** , Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of thyme (thymus pulegioides L .) growing wild in Campania (Southern Italy).J . Agric . Food.Chem , 44,1327-1332p
- Sies H ,1991,** Oxidative stress : Introduction . in : Oxidative stress : oxidants and antioxidants (Edited by H.Sies), pp XV-XXXII. Academic press Ltd, London

Snoussi S .A ., Djazouli Z .E ., Aroun M.E.F . , Sahli Z , 2003 , Les plantes maraichères industrielles , condimentaires , aromatiques , médicinales et ornementales . Annexes sur la biodiversité Importante pour l'Agriculture en Algérie .

Souza E.L., Guerr N.B., Stamford T.L.M., Lima E.O ,2006 , Spices : alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation .Rev. Bras. Farm **87**,(1),22-25p

Tison JM, De Foucault B. 2014. Flora gallica : flore de France .Edition Biotpoe, 1196.

Tongnuanch P , Benjakul S .2014 .Essential Oils :Extraction bioactivities , and their uses for food preservation . Journal of the Science , **79** , 1231-1249

UiteeA.,Bennik M.h.J.,Moezelaar R, 2002,the phenolic hydroxy group of carvacrol is essential of action against the food-borne pathogen Bacillus cereus. Appl Environ Microbiol, **68**(4), 1561-1568p

Van Den Berg KJ,Vander Horst J, Boon JJ,Sudmeijer O.1998. Cis-1,4-poly-b-myrcene ;thestructure of the polymeric fraction of mastic resin (Pistacia lentiscus L.) elucidated .Tetrahedron Letters , 39 2645-2648.

Zhiri A.,2006, Les huilles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré . Nutra News Science , Nutrition , prévention et santé. Edité par la Frondation pour le libre chiox,12,8p

Zweifel C., Zychowska M.A.and Stephan R.(2004). Prevalence and characteristic Sgiga toxin-production Escherichia coli,Salmonella spp.isolated from slaughtered sheep in SwitzerlandI in. J.Food Microbiol. 92,45-53.