

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUE ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDE

En vue d'obtention du diplôme d'Etudes de Master II en Biotechnologie et Valorisation des
Plantes

Thème

*Activité antibactérienne et anti-inflammatoire
des extraits des feuilles d'olivier (Olea europea
L.) et du lentisque (Pistacia lentiscus L.).*

Réalisé par :

OTMANI YAMINA

SLIMANI MELISSA

Soutenu le : 16/07/2018

Devant le jury:

Présidente	M ^{me} SMAIL N.	Pr. à l'UMMTO
Promotrice	M ^{me} NAIT KACI M.	M. C. A. à l'UMMTO
Co-promotrice	M ^{elle} OUZID Y.	Dr. à l'UMMTO
Examinatrice	M ^{me} IRATNI G.H.	M. C. B. à l'UMMTO

2017- 2018

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force, le courage, la volonté, l'amour du savoir et surtout la patience pour pouvoir produire ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer toute notre gratitude à la promotrice **M^{me} NAIT KACI M** Maitre de conférence de classe A, de nous avoir encadrés, pour ses conseils, ses orientations et sa patience pour mener à bien ce mémoire de master qui nous a été précieux.

Nos vives reconnaissances vont également à **M^{elle} OUZID Y** Docteur en Biochimie et Microbiologie de nous avoir fait l'honneur d'accepter d'être Co-promotrice et de diriger notre travail du début jusqu'à la fin.

Au professeur **M^{me} YAKOUB- BOUGDAL S.** pour sa contribution à l'enrichissement de notre savoir durant notre cursus.

A **M^{me} SMAIL** Professeur d'avoir accepté de présider et d'apporter leurs jugements sur ce travail c'est un honneur pour nous de les avoir parmi les membres de jury. Qu'elles trouvent ici le témoignage de nos plus profonds respects.

A **M^{me} IRATNI G.H** Maitre de conférence de classe B d'avoir accepter d'examiner notre travail.

A tous les enseignants qui nous ont formés depuis la première année. Ce mémoire de master n'aurait pas été aussi agréable sans la bonne ambiance qui règne au laboratoire, avec les responsables, l'équipe de laboratoire, et enfin tous(es) les ingénieurs de laboratoire ressources naturelles.

Merci à tous.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mes chères parents à qui je dois tous, qui ont fait tant de sacrifices et m'ont encouragé durant tous mon parcours d'étude.

Mon frère Kamel et sa fiancé Lilia, mon petit frère Gaya et mon fiancé Moumouh qui m'ont beaucoup encouragé.

Ma grande sœur Hayette son mari et leurs fils Mastanabal, ma petite sœur Lydia.

Mes beaux parents Saïd et Nadia, mon beau frère sa femme et ses deux petits enfants.

Toute la famille Otmani, Oukara, Zeggaoui et Merhab.

Ma binôme Melissa et sa famille.

Ma promotrice M^{me} Nait kaci M. et ma co-promotrice M^{lle} Ouzid Y. a qui je dois tous mon respect profond.

Toutes mes copines et toutes personnes qui m'ont aidé à réaliser ce travail.

YAMINA

Dédicace

Je dédie ce travail

A ma cher mère, en témoignage de son amour, sa confiance, sa compréhension et son soutiens toute au long de ma vie et sans elle je ne serais jamais arrivée à ce niveau. J'espère que ce travail soit l'expression de ma pleine gratitude et de mon profond respect.

A la mémoire de mon père.

A mon cher frères : Amazigh

A mes chères tantes en particulier Meryouma

A mon cher Lilou et sa famille

A toutes la famille SLIMANI et HADJI

A ma chère binôme Yamina et sa famille

Je ne saurai terminer sans citer ma promotrice M^{me} Naït kaci et ma co-promotrice

M^{lle} Ouzid

Enfin a toute personne qui m'ont encouragée ou aidée toute au long de mes études.

MELISSA

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	titre	Page
1	Les composés triterpeniques retrouvés au niveau des feuilles d' <i>Olea europea</i> L.	9
2	Activité biologiques des différentes parties d' <i>Olea europea</i> L.	13
3	Quelques composés chimiques de <i>Pistacia lentiscus</i> L.	18
4	Les différentes activités biologiques de <i>Pistacia lentiscus</i> L.	21
5	Normes utilisées dans l'expression de la sensibilité des microbes avec des disques de 6 mm de diamètre	33
6	Test de comparaison des moyennes (NEWMAN-KEULS) des zones d'inhibitions des extraits végétaux vis-à-vis <i>S. aureus</i> (FRI 361) et <i>S. aureus</i> (LGA 251).	36
7	Test de comparaison des moyennes (NEWMAN-KEULS) des zones d'inhibitions des extraits végétaux vis-à-vis <i>E. faecalis</i> (ATCC 49453) et <i>B. cereus</i> (ATCC 10876).	37
8	Test de comparaison des moyennes (NEWMAN-KEULS) des CMI de nos extraits végétaux vis-à-vis les deux souches <i>S. aureus</i> (LGA 251) et <i>S. aureus</i> (FRI 361)	40
9	Test de comparaison des moyennes (NEWMAN-KEULS) des CMI de nos extraits végétaux vis-à-vis les deux souches <i>B. cereus</i> (ATCC 108776) et <i>E. faecalis</i> (ATCC 45493).	41

LISTE DES FIGURES

numéro	Titre	page
1	Arbre d' <i>Olea europea</i> L de la région Tizi-rached de Tizi-ouzou.	3
2	appareil végétatif de l'olivier: Feuilles (a) ; Fleurs (b) et Fruit (c)	5
3	Structure chimique de l'iridoïde et seco-iridoïde (a), lutéoline (b), oleuropeine (c), Apigénine (d) et l'acide caféique (e)	7
4	Structures chimiques des dérivés de flavonoïdes	8
5	Structure chimique la cinchonidine (a), La choline (b), Le mannitol (c), Ligustrosides (d), Hydroxytyrosol (e)	10
6	Les radicaux libres	11
7	Arbuste de <i>Pistacia lentiscus</i> L. de la région de Tizi-rached de Tizi ouzou.	14
8	Appareil végétatif du lentisque : fruit (a), feuilles, fleurs et écorces (b).	16
9	Structure chimique des tanins hydrolysables (a) (HATANO <i>et al.</i> , 2005) et des tanins condensés (b).	17
10	Structure chimique de la quercétine (a), myrcétine (b), luteoline (c), l'acide quinique (d) et de l'acide gallique (e)	19
11	Situation géographique de la zone d'étude.	22
12	Feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> L. (a) ; Feuilles d' <i>Olea europea</i> L. (b).	23
13	<i>Staphylococcus aureus</i> observation par balayage en microscopie électronique (a), observation au microscope optique (b)	25
14	<i>Bacillus cereus</i> : observation par balayage en microscopie électronique (a); observation au microscope optique (b).	25
15	<i>Enterococcus faecalis</i> : observation par balayage en microscopie électronique (a) ; observation au microscope optique (b).	26
16	Les différentes étapes de préparation de l'extrait végétal.	27
17	dépôt de disque de l'antibiotique et des extraits végétaux.	28
18	Schéma récapitulatif de la méthode de la double diffusion sur milieu solide.	29
19	schéma des différentes étapes de l'évaluation de la CMI en milieu solide.	30
20	Préparation de la gamme d'aspirine (acide acétyle salicylique).	31
21	effet inhibiteurs des extraits des feuilles d'olivier vis-à-vis <i>S. aureus</i> FRI 361 (a) ; effet inhibiteur des extraits du pistachier lentisque vis-à-vis de la souche <i>S. aureus</i> LGA 251 (b) ; et vis-à-vis de la souche <i>B. cereus</i> ATCC 10876 (c).	34
22	détermination de la CMI de <i>S. aureus</i> LGA 251 (a) , <i>B. cereus</i> ATCC 108776 (b) vis-à-vis l'extrait foliaire d' <i>Olea europea</i> .	38
23	Pourcentages d'inhibitions de la dénaturation de l'ovalbumine par les différentes dilutions des extraits éthanoliques foliaires d' <i>Olea europea</i> .	42
24	variations des Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine vis-à-vis les différentes dilutions d'aspirine.	43
25	pourcentages d'inhibitions de la dénaturation de l'ovalbumine par les différentes dilutions des extraits éthanoliques foliaires de <i>Pistacia lentiscus</i>	44

LISTE DES ABREVIATIONS

- **ROS** : espèces réactives d'oxygène
- **DMSO** : Diméthylsulfoxyde
- **T** : Température
- **%**: pourcentage
- **°** : degré
- **C°** : Degré selcus

- **ATCC** : Collection de culture de type américain
- **MH** : Muller Hinton
- **BHIB** : Brain-Heart Infusion Broth
- **BHI** : Brain Heart Infusion Agar
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- **mm** : millimètre
- **µg** : microgramme
- **mg** : milligramme
- **ml**: millilitre
- **nm** : nanomètre
- ***S. aureus*** : *Staphylococcus aureus*
- ***B. cereus***: *Bacillus cereus*
- ***E. faecalis*** : *Enterococcus faecalis*
- **LPS** : Lipopolysaccharides
- **CMI** : Concentration minimale inhibitrice
- **DO** : Densité optique
- **FRI** : Institut de recherche alimentaire (Food Research Institute)

RESUME

Les plantes médicinales constituent une source inépuisable et diversifiée en métabolites secondaires, qui ont plusieurs applications : pharmaceutiques, médicales, agroalimentaires, agronomiques et biotechnologiques. Ces métabolites sont à l'origine de plusieurs activités biologiques telles que l'activité antibactérienne, antioxydante, anti-cancérigène et anti-inflammatoire. C'est dans cette optique que nous nous sommes intéressés à deux plantes médicinales (*Olea europea* L. et *Pistacia lentiscus* L.) de la région de Tizi-Rached (Tizi-Ouzou, Algérie). Les extraits éthanoliques foliaires sont utilisés pour tester l'activité antibactérienne par la méthode de la double diffusion en milieu solide contre quatre souches bactériennes à Gram+ de référence : *S. aureus* (FRI 361), *S. aureus* (LGA 251), *B. cereus* (ATCC 108776) et *E. faecalis* (ATCC 49453), et l'activité anti-inflammatoire qui est basée sur la capacité de ces extraits foliaires à réduire la dénaturation thermique des protéines. Les résultats obtenus pour l'activité antibactérienne montrent que les extraits des feuilles de l'olivier sont doués d'un effet antibactérien modéré, la souche la plus sensible est *S. aureus* FRI 361 (12,000±0,258 mm) avec une CMI de 4950 µg/ml. Quant à l'activité anti-inflammatoire, le pourcentage d'inhibition le plus significatif est marqué par l'extrait OL1 (65,106 %) de concentration 7,181 mg/ml. Pour l'extrait foliaire du lentisque, la plus grande zone d'inhibition (10,166±0,600 mm) est enregistrée par la souche *S. aureus* (LGA 251) avec une CMI de 3030,2 µg/ml. L'effet anti-inflammatoire a indiqué un pourcentage d'inhibition remarquable (66,061 %) à une concentration de 2,186 mg/ml. Ce qui nous amène à dire que les extraits foliaires de l'olivier et du lentisque sont doués d'activités biologiques : antibactérienne et anti-inflammatoire modérées.

Mots clés : *Olea europea* L., *Pistacia lentiscus* L., extraits éthanoliques foliaires, activité antibactérienne et activité anti-inflammatoire.

SUMMARY

Medicinal plants are an inexhaustible and diversified source of secondary metabolites, which have several applications: pharmaceutical, medical, agri-food, agronomic and biotechnological. These metabolites are at the origin of several biological activities such as antibacterial activity, antioxidant, anti-carcinogenic and anti-inflammatory activity. It is in this perspective that we are interested in two medicinal plants (*Olea europea* L. and *Pistacia lentiscus* L.) in the region of Tizi-Rached (Tizi-Ouzou, Algeria). The foliar ethanolic extracts are used to test the antibacterial activity by the double diffusion method in solid medium against four Gram+ bacterial strains of reference: *S. aureus* (FRI 361), *S. aureus* (LGA 251), *B. cereus* (ATCC 108776), *E. faecalis* (ATCC 49453), and the anti-inflammatory activity which is based on the ability of these leaf extracts to reduce the thermal denaturation of proteins. The results obtained for the antibacterial activity show that the extracts of the leaves of the olive tree are with a moderate antibacterial effect, the most sensitive strain is *S. aureus* FRI 361 ($12,000 \pm 0,258$ mm) with a MIC of 4950 $\mu\text{g/ml}$. As for the anti-inflammatory activity, the most significant percentage inhibition is marked by the extract OL1 (65,106%) concentration 7,181 mg/ml. For the lentisc, the largest inhibition zone ($10,166 \pm 0,600$ mm) is recorded by the *S. aureus* strain (LGA 251) with a MIC of 3030,2 $\mu\text{g/ml}$. The anti-inflammatory activity effect indicated a remarkable percentage of inhibition (66,061 %) at a concentration of 2,281 mg/ml which leads us to say that the leaf extracts of the olive tree and the antibacterial and the anti-inflammatory lentisc are moderate. Endowed with biological activities.

Key words: *Olea europea* L., *Pistacia lentiscus* L., foliar ethanolic extracts antibacterial activity and anti-inflammatory activity.

الملخص

النباتات الطبية هي مصدر لا ينضب ومتنوع من المستقلبات الثانوية ، والتي لها العديد من التطبيقات : الصيدلانية ، الطبية ، الأغذية الزراعية ، الزراعة الحيوية والتكنولوجيا الحيوية . هذه الأيضات في أصل العديد من الأنشطة البيولوجية مثل مضاد للجراثيم ، ومضادات الأكسدة ، ومكافحة المسرطنة والنشاط المضاد للالتهابات. مع وضع هذا في الاعتبار أننا مهتمون في اثنين من النباتات الطبية (الزيتون والظ) من منطقة تيزي رشيد تيزي وزو (الجزائر). تستخدم المستخلصات الايثانولية الورقية لاختبار النشاط المضاد للبكتيريا من خلال طريقة الانتشار المزدوج في الوسط الصلب مقابل أربع سلالات جرثومية + غرامية مرجعية :المكورات العنقودية الذهبية الباسيلوس سيريس المكورات البرازية . النشاط المضاد للالتهابات الذي يستند إلى قدرة هذه المستخلصات الورقية للحد من تمسخ حراري للبروتينات. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها للنشاط المضاد للبكتيريا أن مستخلصات أوراق شجرة الزيتون قد منحت تأثير مضاد للبكتيريا معتدل. السلالة الأكثر حساسية هي : المكورات العنقودية الذهبية (مم 0 ± 12 ، 258) مع MIC 4950 ميكروغرام / مل. أما بالنسبة للنشاط المضاد للالتهابات، فإن أهم تثبيط للنسبة المئوية يميزه المستخلص (65، OL1، 106٪) من التركيز 7.181 ملغم / مل .بالنسبة لمستخلص أوراق lentisque، يتم تسجيل أكبر منطقة تثبيط ($10,166 \pm 0,600$ مم) بواسطة سلالة المكورات العنقودية الذهبية (LGA 251) مع MIC 3030.2 $\mu\text{g} / \text{ml}$ وأشار التأثير المضاد للالتهاب إلى تثبيط نسبة مئوية ملحوظة (66.061٪) بتركيز 2.186 ملغ / مل. وهو ما يقودنا إلى القول بأن المستخلصات الورقية من الزيتون والنتسك قد منحت أنشطة بيولوجية : مضاد للجراثيم ومضاد للالتهابات معتدل.

الكلمات المفتاحية: الزيتون والفسق، مستخلصات الايثانول الورقية، نشاط مضاد للجراثيم، والنشاط المضاد للالتهابات.

INTRODUCTION

Les plantes médicinales renferment un ou plusieurs molécules capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Cette diversité de composés chimiques pourrait justifier leurs utilisations traditionnelles. Selon les estimations de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 80 % de la population des pays en voie de développement ont recouru à la médecine traditionnelle pour leur besoins de santé, le plus souvent en raison du coût élevé des médicaments d'importation et de l'inaccessibilité géographique des médicaments. Ces plantes ont toujours eu une place importante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. Elles sont une source potentielle de molécules bioactives à savoir les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes, les coumarines, les flavonoïdes, les saponosides, les tanins, les triterpènes et les stéroïdes, qui sont à l'origine de plusieurs activités biologiques tels que l'activité anti-inflammatoire, antimicrobienne, antiseptique, diurétique et antioxydante (HADDOUCHI *et al.*, 2014).

Face à l'apparition de formes de résistances de plusieurs bactéries à certains antibiotiques, ainsi que l'émergence de beaucoup de maladies d'origine inflammatoire, la recherche de nouvelles molécules actives et à large spectre d'action est devenue une nécessité. Pour cela l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme l'activité antibactérienne et anti-inflammatoire demeure une tâche très utile et l'une des plus intéressantes pistes à exploiter, en particulier pour les plantes médicinales d'une utilisation rare ou non connues (CHAOUCHE *et al.*, 2013).

C'est dans ce contexte, que nous nous sommes intéressés à deux plantes médicinales méditerranéennes connues pour leurs propriétés thérapeutiques, la première est l'olivier (*Olea europea* L), qui est un arbre appartenant à la famille des oléacées connue pour ses vertus thérapeutiques à savoir l'effet hypotenseur, laxatif, diurétique, fébrifuge, nettoyant pour la peau et également utilisé pour les traitements d'infections urinaires, de calculs biliaires, d'asthme bronchique et de diarrhée (KHAN *et al.*, 2011). La seconde est représenté par le lentisque (*Pistacia lentiscus* L) qui est un arbrisseau appartenant à la famille des Anacardiacees, connue pour ses vertus dans le traitement des ulcères, l'hypertension, la toux, les maux de gorge, l'eczéma et les calculs rénaux (GARDELI *et al.*, 2008).

Notre étude a été réalisée au niveau du Laboratoire Ressources Naturelles de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Les objectifs visés sont les suivants:

- Préparation des extraits végétaux par extraction à l'éthanol à partir des feuilles de l'*Olea europea* et *Pistacia lentiscus*;
- Evaluation *in vitro* des propriétés antibactériennes des extraits végétaux par la méthode de la double diffusion en milieu solide;
- Evaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire des extraits végétaux par la méthode de dénaturation thermique des protéines.

SYNTHESE DES DONNEES BIBLIOGRAPHYQUES

I. Etude bibliographique d'*Olea europea* L.

1.1. Introduction

Olea europea L. espèce appartenant à la famille des oléacées, famille de plante dicotylédones qui comprend 900 espèces réparties en 25 à 26 genres. Ce sont des arbres qui vivent exclusivement sous le climat méditerranéen. L'olivier très répandu dans toute l'Europe du sud (Espagne, Italie, Grèce ...). Il a été introduit en Californie, au Mexique et au Japon, ainsi que dans les divers pays de l'hémisphère sud (Figure 1) (JEAN, 2009).



Figure 1 : arbre d'*Olea europea* L. de la région Tizi-rached de Tizi-ouzou.

L'olivier est connu depuis la plus haute antiquité, cet arbre à toujours symbolisé la paix et la santé. Il requiert peu de soins et pousse même sur des terrains rocheux. Il s'agit de l'une des plantes qui vivent le plus longtemps. Certains oliviers sont en effet plusieurs fois centenaires. L'olivier commence à donner beaucoup de fruits vers sa huitième année, en entamant sa première phase de croissance qui se poursuivra jusqu'à sa trentième année. Il continue ensuite de se renforcer et de croître en vigueur jusqu'à 100 ans (CECCHINI *et al.*, 2008). L'olivier s'est rapidement acclimaté dans tous les pays tempérés. Sa culture convient mieux aux sols sablonneux connus pour leur grande perméabilité et leur faible capacité de rétention, ce qui signifie que l'évaporation est très réduite (LOUSSERT *et al.*, 1978).

L'olivier est employé en tant que plante médicinale, toutes ses parties ont des propriétés thérapeutiques bien définies par la présence de composés chimiques ayant des

activités biologiques bien déterminées. Les feuilles de l'olivier sont connues pour leurs propriétés diurétiques, hypoglycémiantes et hypotensives. Elles seraient cicatrisantes en usage externe et calmant des troubles intestinaux (BRETON *et al.*, 2012).

1.2. Nomenclature et systématique d'*Olea europea*

Selon LUCIENNE (2010), plusieurs noms d'*Olea europea* ont été utilisés à savoir:

Nom commun : Arbre éternel, boutaillon, mouraou.

Nom vernaculaire : pour la variété cultivée : Amourga, zitoun, zeitar, azemmour, zzit, tassetta, tahatimt, amil.

Selon CRONQUIST (1981), la classification de l'arbre de l'olivier se fait comme suite:

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

1.3. Description botanique

L'olivier est un arbre aux feuillages persistants et branches noueuses, avec une écorce claire et au port buissonnant. Il peut atteindre 20 mètres de haut, mais généralement est taillé sur une hauteur de 5 à 8 m pour faciliter les récoltes. Les arbres centenaires ont souvent des troncs éclatés, évidés et affectent des formes très curieuses étendant leurs ramifications

énormes jusqu'à 20 à 30 m. A la base des vieux troncs naissent des excroissances épaisses, d'où portent des rejets et des racines adventives. A la partie supérieure de la souche se forment également des excroissances arrondies qui servent à la multiplication végétative.

Les branches sont en forme de perche feutrées et sont pourvues ou non d'épines.

La fleur est petite, en tube à quatre lobes et blanche .Elle comporte deux étamines et deux carpelles (Figure 2) (AIT YOUSSEF, 2006).

Le fruit est une drupe de forme ovoïde, de couleur verte puis rougeâtre et noire (pourpre noirâtre). A maturité, son noyau est fusiforme épais, très dur et résistant (Figure 2) (AIT YOUSSEF, 2006).

Les feuilles sont opposées, simples et de 3 à 8 cm de longueur Elles ont une forme oblongue à ovale lancéolée et une extrémité pointue. Leur limbe est entier, légèrement enroulé, raide, coriace et vert cendré à la face supérieure. La face inférieure a un aspect argenté et soyeux par l'abondance de poils tecteurs et présente d'une nervure médiane saillante (Figure 2) (EBERHARD *et al.* 2005).

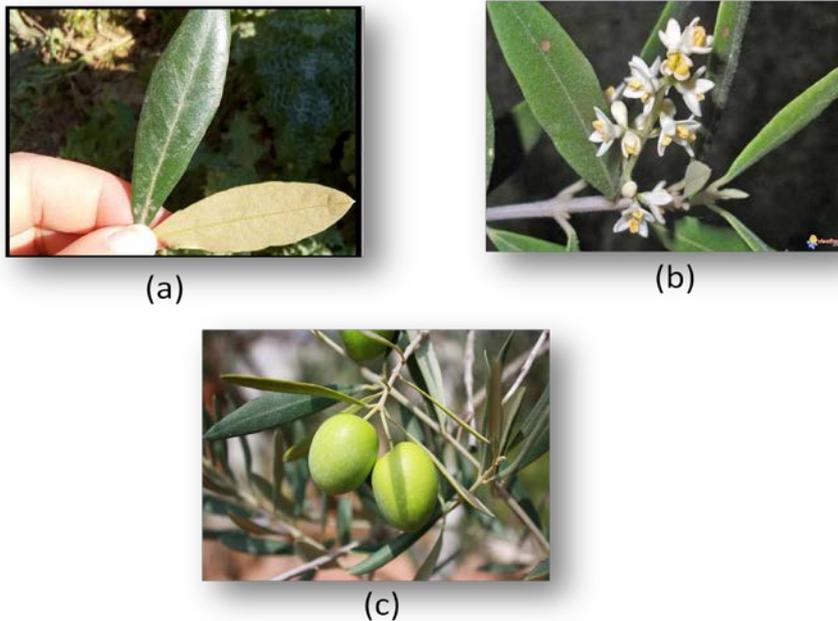


Figure 2 : appareil végétatif de l'olivier: Feuilles (a); Fleurs (b) et Fruit (c).

1.4. Etude phytochimique d'*Olea europea* L.

On désigne par métabolites secondaires toute substances présentes chez la plante qui ne

participent pas directement au développement de celles-ci, mais plutôt interviennent lors du stress biotique et abiotique. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Outre la très grande diversité chimique qu'elles représentent, ces molécules se caractérisent généralement par de faibles concentrations dans les tissus végétaux (LAURENT, 2012). Ils sont classés en trois grands groupes qui sont : les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpènes. Ces derniers se trouvent dans toutes les parties des plantes mais ils sont distribués selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une partie à une autre au niveau de la plante (HOPKINS, 2003).

L'olivier est utilisé pour ses vertus et propriétés thérapeutiques, chaque partie semble être bénéfique pour son usage en médecine traditionnelle grâce aux différents métabolites secondaires qui sont présents avec des concentrations différentes voir même des métabolites qui appartiennent à des classes différentes d'une partie à une autres.

Le fruit d'olivier est composé d'une huile riche en acide gras essentiels : acide oleique et oléocanthal, hydroxytyrosol et l'oleuropeine qui donnent à l'huile d'olive son gout amer et piquant. Ces composés sont à l'origine d'effet antibactérien, antioxydant, antiviral, anti-inflammatoire et anti hypoglycémiant (KHAYYAL *et al.*, 2002). Quant aux jeunes pousses et bourgeons, ils sont composés de flavonoïdes, stérols et de tritèrènes, qui ont un effet antihypertenseur et antidiabétique (STITI *et al.*, 2012).

La feuille de l'olivier comporte des composés appartenant à différentes classes chimiques :

- **Eau**

L'eau représente environ 80% de la feuille fraîche et 8 à 10% de la feuille séchée (MOYSEH, 2009).

- **Matières minérales**

Le taux de matières minérales est de 4 à 5%. On retrouve de calcium, du phosphore, du magnésium, de la silice, du soufre, du potassium, du sodium, du fer et du chlore (VALNET, 2008).

- **Acides organiques**

Les acides organiques majeurs sont l'acide malique, l'acide tartrique, l'acide glycolique et l'acide lactique (CASTILLO, 2000).

- **Séco-iridoïdes**

Les iridoïdes sont des monoterpènes caractérisés par la présence d'un noyau cyclopentane accolé à un noyau pyrane. Les iridoïdes tirent leur nom d'une fourmi tropical du genre *Iridomirmex* qui, pour se défendre lance un liquide à partir duquel furent isolés ces composés. Les séco-iridoïdes résultent des iridoïdes, par ouverture cyclopentane.

L'oleuropéine ou oleuropéoside est l'iridoïde majoritaire (60-90 mg/g) au niveau des feuilles sèches de la plante (Figure 3) (MONTFALCON, 1997).

D'autres iridoïdes sont retrouvés au niveau de la feuille d'olivier : Le 11-déméthyl-oleuropéoside ; le di-ester méthylique 7, 11 de l'oléoside ; L'oleuroside ; L'oléacéine, dérivé aldéhydique non hétérosidique (Figure 3) (BRUNETON, 2009).

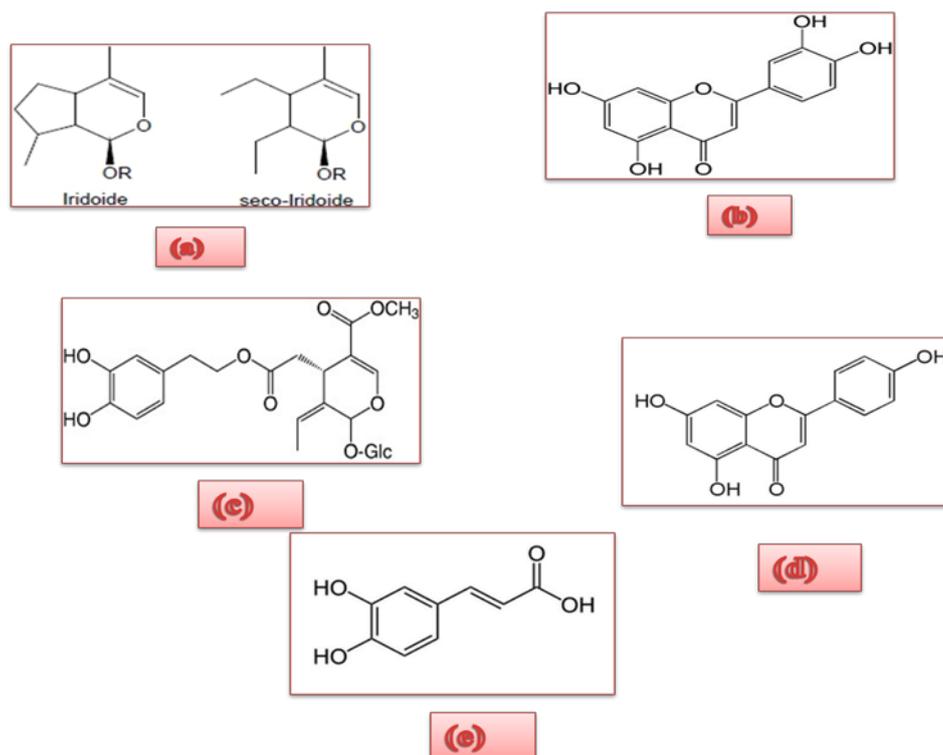


Figure 3. structure chimique de l'iridoïde et seco-iridoïde (a), lutéoline (b), oleuropeine (c), Apigénine (d) et l'acide caféique (e) (LAGUERRE *et al.*, 2009).

- **Flavonoïdes et phénols**

Les flavonoïdes et phénols présents dans la feuille d'olivier sont :

Une flavonone : le rhamnoglucoside de l'hesperidine, des flavones : la lutéoline et l'apigénine et leurs glucosides, Une chalcone : l'olivine et son glucoside ; Des dérivés cafeïques : le verbascoside et l'acide cafeïque, des composés anthocyanidiques et proanthocyaniques (Figure4) (VAN HELLEMONT, 1986).

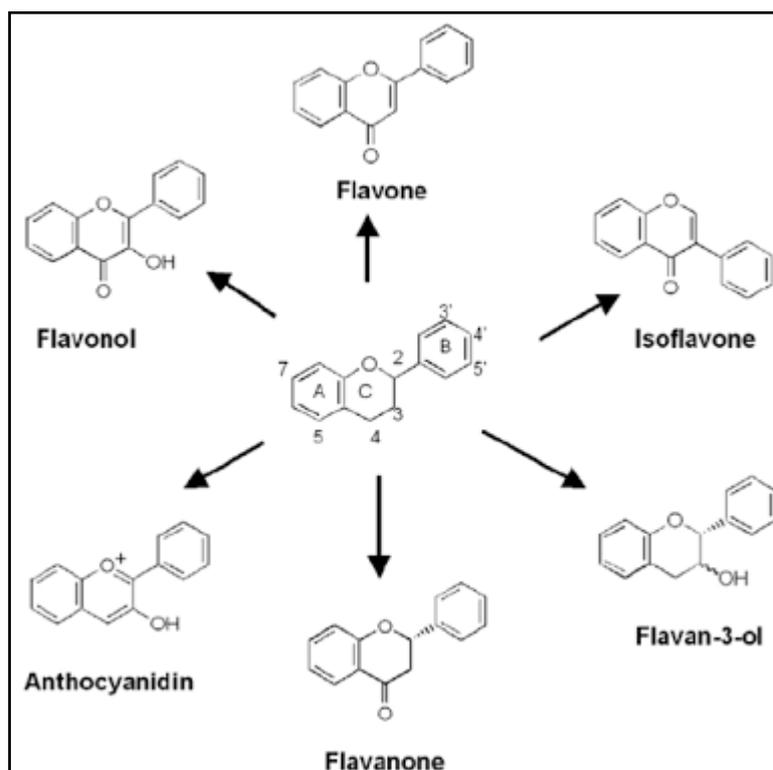
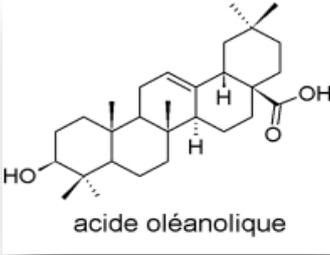
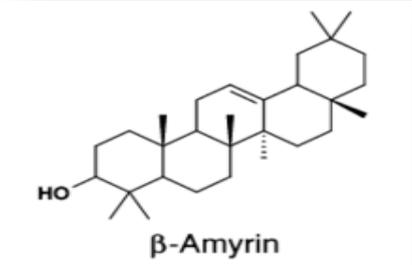
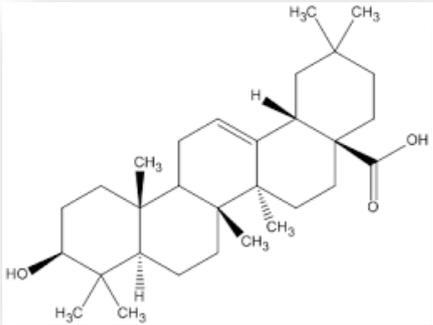


Figure 4 : structures chimiques des dérivés de flavonoïdes (MACHEIX *et al.*, 2003).

- **Dérivés triterpéniques**

On trouve dans le fruit et la feuille de l'olivier des composés triterpéniques qui sont : Acide oléanolique, la bêta-amyrin, l'erythrodiol et l'acide maslinique. Les composés triterpéniques sont énumérés dans le tableau (I).

Tableau I : les composés triterpéniques retrouvés au niveau des feuilles d'*Olea europea* L.

Composés triterpénoïque	Structures chimiques	Localisation Dans la plante	Références bibliographiques
<p>L'acide oléanolique</p>	 <p>acide oléanolique</p>	<p>Feuilles</p> <p>Fruits</p>	<p>EBERHARD <i>et al.</i>, 2005</p>
<p>La béta-amyrine</p>	 <p>β-Amyrin</p>	<p>Feuilles</p>	<p>PHILIPPE <i>et al.</i>, 2003</p>
<p>L'acide maslinique</p>		<p>Feuilles</p> <p>Fruits</p>	<p>EBERHARD <i>et al.</i>, 2005</p>

- **Alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont des produits d'origine végétale. Se sont des molécules organiques hétérocycliques azotées et pharmacologiquement actives. Ils sont présent chez beaucoup de plantes médicinales, par ailleurs, ils existent à faible concentration chez les feuilles de l'olivier, à titre d'exemple la cinchonine et la cinchonidine (Figure 5) (BRUNETON, 2009). D'autres composés chimiques ont été retrouvés chez les feuilles de l'olivier à savoir le mannitol et la choline (Figure 5) (JUDD *et al.*, 2002).

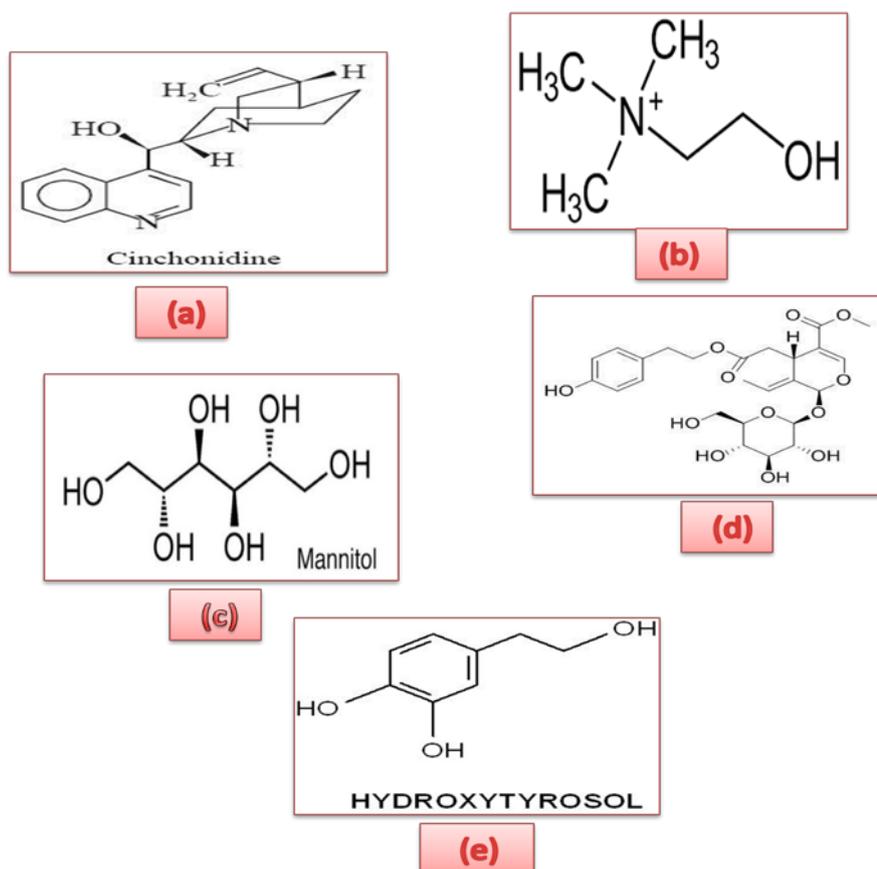


Figure 5 : structure chimique la cinchonidine (a), La choline (b), Le mannitol (c), Ligustrosides (d), Hydroxytyrosol (e) (YUHONG *et al.*, 2006).

1.5. Activités biologiques d'*Olea europea* L.

Les plantes peuvent réduire d'une manière considérable les risques d'un grand nombre de maladies chroniques (maladies cardiovasculaires, hypertension, diabète et cancer). Ces activités biologiques sont dues à la présence de composés phytochimiques possédant des

cibles moléculaires précises pouvant atteindre différents processus physiologiques.

De nombreuses études épidémiologiques et expérimentales suggèrent que les composés phytochimiques, principalement les polyphénols pourraient prévenir un grand nombre de pathologies tel que les maladies cardiovasculaires et les maladies inflammatoires. Ces différentes manifestations biologiques impliquent des propriétés très variées traduisant l'effet antioxydant, antimicrobien, hypoglycémiant et anti-inflammatoire (Tableau II) (SOMOVA *et al.*, 2003).

1.5.1. Activité antioxydante

Les antioxydants sont des substances naturellement présentes dans l'organisme, capables de protéger d'influences néfastes, notamment des réactions d'oxydation également appelées stress oxydant. Les antioxydants, qui constituent un système de défense *in vivo*, se composent de plusieurs lignes de protection. La principale d'entre elles consiste à inhiber la formation des radicaux libres et dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) isolant les ions métalliques et en détruisant l'anion superoxyde et l'oxygène singulier, réduisant le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes dans chaque cellule de l'organisme (Figure 6). Plusieurs familles de plantes tel que les Liliacées, Rubiacées, Oléacées, Anacardiacees, Solanacées, Lamiacées, sont connues pour leur effet antioxydant (PELI *et al.*, 2003). Chez l'espèce *Olea europea L.*, il a été démontré que l'oleuropéine, représentant majeur des séco-iridoïdes au niveau de la feuille et du fruit, les flavonoides et les tritérpènes, sont des puissants antioxydants (GARCIA *et al.*, 2000). Outre l'oleuropéine, l'acide oléanique aurait lui aussi des propriétés antioxydantes (Tableau IV) (SOMOVA *et al.*, 2003), ceci selon la réaction suivante :

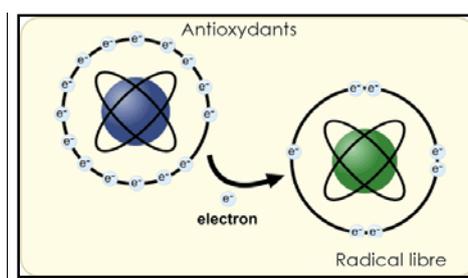


Figure 6: les radicaux libres (PELI *et al.*, 2003).

1.5.2. Activité antimicrobienne

Un antimicrobien est une substance chimique naturelle ou synthétique qui tue les microorganismes ou inhibe leur croissance. Son activité dépend des paramètres physiques (la température, le pH et l'humidité) (LEE *et al.*, 2010).

Les effets antimicrobiens des phénols issus des feuilles et des fruits de l'olivier ont été le sujet de différentes recherches qui confirment l'effet antimicrobien des polyphénols. Il a été établi que les séco-iridoïdes (oleuropéine et ses dérivés), une des classes principales des polyphénols contenues dans l'olive, l'huile d'olive et les feuilles d'olivier, empêche ou retarde le taux de croissance d'une gamme de bactéries, en inhibant le développement et la production de l'entérotoxine B de *S. aureus*, le développement de *S. enteritidis* et la germination et le développement consécutif de *B. cereus* (Tableau IV) (BISIGNANO *et al.*, 1999).

1.5.3. Activité hypoglycémiante

Les propriétés hypoglycémiantes de l'extrait des feuille d'olivier peut être expliquées par deux mécanismes de l'oleuropéoside, il augmenterait l'utilisation périphérique du glucose et favorise la libération d'insuline induite par le glucose (Tableau IV) (AL-AZZAWIE *et al.*, 2006).

1.5.4. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est un processus physiologique de défense et d'adaptation de l'organisme contre toute agression qui entraîne une altération tissulaire. Elle peut être déclenchée par une brûlure, un traumatisme, une irradiation ou par la pénétration d'agents pathogènes extérieures (virus, bactéries, antigènes...)

Les feuilles de l'olivier comportent deux iridoïdes : l'oleuropeine et ligustrosides qui augmentent la production d'oxyde nitrique (NO) dans les macrophages et l'activité fonctionnelle globale des cellules immunocompétentes, et deux tritérénoides : l'acide oléanolique et l'acide ursolique, et d'autres flavonoïdes tels que : l'apigénine et la chrysin, qui ont cet effet anti-inflammatoire (Tableau IV) (DIAZ, 2000).

Tableau II : activité biologiques des différentes parties d'*Olea europea* L.

Activité biologique	Composés	Parties	Références bibliographiques
Activité Antioxydante	Oleuropeine	Feuilles Fruits	(HAYES <i>et al.</i> , 2009).
	Acide oléanique	Feuilles Fruits	(SOMOVA <i>et al.</i> , 2003).
Activité anti-microbienne	Oleuropeine	Feuilles Fruits	(HAYES <i>et al.</i> , 2009).
	Hydroxytyrosol	Feuilles	(JUDD <i>et al.</i> , 2002)
Activité Hypoglycémiante	Oleuropeine	Feuilles Fruits	(HAYES <i>et al.</i> , 2009).
	Acide olénique	Feuilles Fruits	(CASTILLO., 2000)
Activité anti-Inflammatoire	Oleuropeines,	Feuilles Fruits	(HAYES <i>et al.</i> , 2009)
	Ligustroside	Fruits	(MACHEIX <i>et al.</i> , 2005)
	Acide oléanolique	Feuilles Fruits	(MACHEIX <i>et al.</i> , 2005)

II. Etude bibliographique de *pistacia lentiscus* L.

2.1. Introduction

Le lentisque (*Pistacia lentiscus* L.), Darou en arabe local et Amadagh en kabyle, est un arbrisseau de 1 à 3m de hauteur appartient a la famille des Anacardiaceae, qui comprend environ 70 genres et plus de 600 espèces, distribué au bassin méditerranéen à l'Asie centrale (CHAREF *et al.*, 2008 ; LAHSISSENE *et al.*, 2009 ; BOZORGI *et al.*, 2013) (figure 6).



Figure 7: arbuste du pistachier lentisque avec l'oléastre de la région de Tizi-Rached de Tizi-ouzou.

Le nom pistachier vient du grec pistakê ; le lentisque vient du latin lentus (visqueux) (FERRADJI, 2011).

Le pistachier lentisque croit mêler aux autres arbrisseaux des garrigues et des maquis, son aire s'étend sur tous le pourtour de la méditerranéen. En Europe, Asie, Afrique, en France on le rencontre au Provence et en Corse. Présent aussi en Algérie, il se trouve le long du Tell et dans les zones forestières (AIT YOUSSEF, 2006).

Il se retrouve en association avec l'Oléastre, la salsepareille et le myrte dans un groupement végétal nommé «l'Oléolentisque », mais également dans les boisements clairs à pin d'Alep ou d'autres formations de garrigues basses (chêne vert) (BELFADEL, 2009).

Le lentisque est une espèce de basses altitudes (SPICHIGER *et al.*, 2004). Elle est indifférente aux propriétés physico-chimiques du sol mais préfère des sols à faible concentration en phosphore et potassium conjugués avec des concentrations différentes en carbonates de calcium et en azote (DOGAN *et al.*, 2003).

Il est considéré comme une des espèces sempervirente la plus résistante aussi bien à la sécheresse qu'à la salinité (BARAZANI *et al.*, 2003). Il est utilisé dans la lutte contre l'érosion, qui est l'un des facteurs majeurs de désertification des écosystèmes méditerranéens semi-arides (DOGAN *et al.*, 2003).

Cette espèce est très connue et employée par la population locale pour ses propriétés médicinales. En effet, les médecines traditionnelles pratiquées de part et d'autre des rives de la méditerranée, attribuent au lentisque des vertus dans le traitement des ulcères, de l'hypertension, de la toux, des maux de gorge, de l'eczéma, des calculs rénaux et de la jaunisse (DJERROU, 2011).

2.2. Nomenclature et systématique de *Pistacia lentiscus* L.

Selon CHERAFT (2011), plusieurs noms de *Pistacia lentiscus* ont été utilisés à s'avoir :

Berbère	Tidekth, Amadagh;
Arabe	Derw, Sareys;
Français	Arbre au mastic, Pistachier lentisque, Restringe ;
Anglais	Chios, mastick tree;
Allemand	Mastix baum;
Espagnol	Lentisco, charneca comun.

La classification botanique de cette espèce est donnée comme suite :

Règne :	Plantae, (végétal)
Sous-règne :	Tracheobionta
Embranchement :	Spermaphyte
Sous-embranchement :	Angiosperme
Division :	<i>Magnoliophyta</i> .
Classe :	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe :	Rosidae
Ordre :	Sapindales
Famille :	Anacardiaceae
Genre :	<i>Pistacia</i>
Espèce :	<i>Pistacia lentiscus</i> L. (BOUKELOUA, 2009).

2.3. Description botanique

Pistacia lentiscus est un arbrisseau dioïque et thermophile de 1 à 3 mètres de hauteur, à odeur résineuse forte (BOUKELOUA, 2009), caractérisé par :

Racines : longues racines pivotantes qui pénètrent profondément dans le sol afin d'y puiser l'eau nécessaire à la plante, ce qui permet sa croissance tout en gardant son feuillage vert foncé même durant la sécheresse (QUESEL et MEDAIL, 2003).

Ecorce: Rougeâtre sur les jeunes branches et vire au gris avec le temps (MORE et WHITE, 2005)

Les feuilles possèdent un pétiole étroitement ailé ; elles sont persistantes en hiver, coriaces, luisantes, longues de 2 à 4 cm sur 8 à 15 mm de large, de couleur vert sombre brillant sur la face supérieure. Elles sont composées d'un nombre pair de folioles (4 à 5 paires), disposées comme les barbes d'une plume autour de l'axe central (feuilles dite « paripennées »). Ces folioles sont glabres et ovales-elliptique ou lancéolée (AIT YOUSSEF, 2006).

Inflorescence : est en grappe, spiciformes, denses et courtes (RAMEAU *et al.*, 2008)

Fleurs : dioïque, unisexuées, apétales ; de 3mm de large environ ; calice à 5 sépales chez les fleurs mâles et 3 ou 4 chez les fleurs femelles ; fleurs femelles verdâtres ; fleurs mâles à anthère rouge foncé (ANNIE et PERRIER, 2014).

Le fruit du pistachier est une drupe de forme ovoïde, apiculées au sommet, presque sèches, d'abord rouge, puis noir à maturité (AIT YOUSSEF, 2006).



Figure 8 : appareil végétatif du lentisque : écorces, feuilles et fleurs (a), fruit (b).

2.4. Etude phytochimique de *Pistacia lentiscus* L.

En raison de sa large utilisation en médecine traditionnelle, les différentes parties du pistachier ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques à fin d'identifier leurs métabolites secondaires. La plante est connue pour contenir :

- une huile essentielle et fixe (GROSJEAN, 2007) et une huile grasse (CHAREF *et al.*, 2008) ;
- des tanins condensés et hydrolysables (ABBAS et BOUDRICHE., 2007) (figure 8) ;
- des glycosides flavonoïques (VAYA et MAHMOOD., 2006) ;
- des anthocyanes (LONGO *et al.*, 2007) ;
- une résine « mastic de chio » (LEONTI *et al.*, 2001) ;
- des triterpènes (ATMANI *et al.*, 2009).

La composition chimique des feuilles de *Pistacia lentiscus* est caractérisée par la présence de plusieurs types de flavonoïdes, comme la quercétine glycosilé, la myricétine glycosilé, la luteoline, la catéchine ainsi que l'isoflavone genisteine. Elles contiennent 6 à 7 % du gallotannins de faible poids moléculaire, à savoir l'acide gallique et les dérivés d'acide quinique 5-O-, 3,5-O-di- et 3, 4,5-O-trigalloyl (ROMANI *et al.*, 2002).

Quant à L'huile essentielle représente 0,14- 0,17% du poids des feuilles de *Pistacia lentiscus*. Les études phytochimiques effectuées sur les huiles essentielles obtenues à partir des feuilles de lentisque ont montré la présence de longifolène, α -pinène, β -pinene, γ -cadinene, trans- β -terpinéol, α -acomeol, γ -muurolene, Sabinene et terpinén-4-ol (Figure 9) (DOB *et al.*, 2006).

Le tableau III illustre les structures chimiques de certains de ces composés

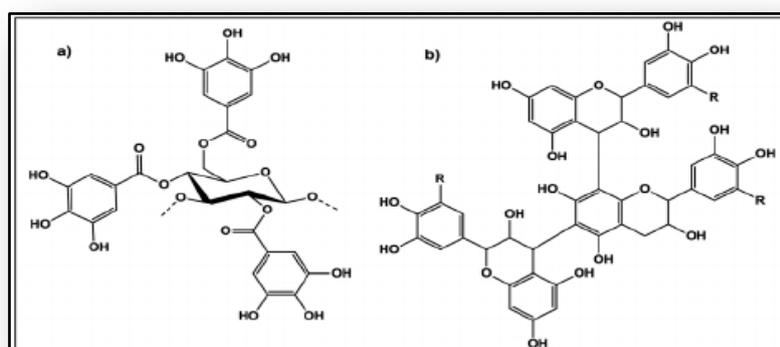
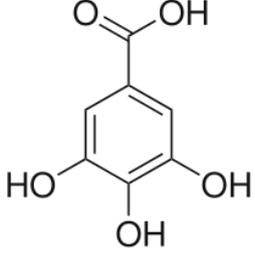
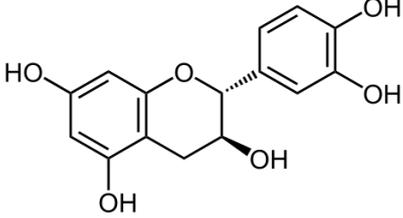
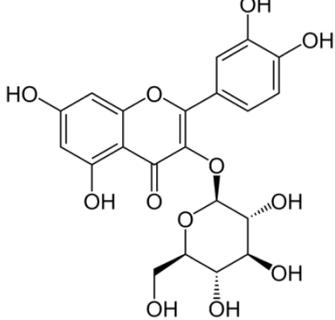
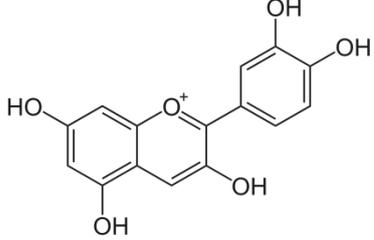
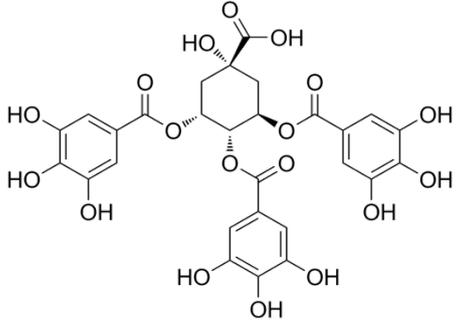


Figure 9 : structure chimique des tanins hydrolysables (a) (HATANO *et al.*, 2005) et des tanins condensés (b) (TAHIRI, 2008).

Tableau III : quelques composés chimiques de *Pistacia lentiscus* L. (BOZORGI *et al.*, 2013).

Composés chimiques	Structure chimique
Acide gallique	
Catéchine	
Quercetin-3-glucoside	
Anthocyane	
3, 4,5 Acide-tri-o-galloylquinique	

2.5. Activités biologiques de *Pistacia lentiscus* L.

Les études expérimentales effectuées sur cette plante ont mis en évidence différentes activités biologiques et pharmacologiques tels que l'activité anti-ulcéreuse, antibactérienne, anti-ulcéreux duodénal et hepatoprotecteur (AL-SAID *et al.*, 1986 ; IAUK, 1996 ; JANAKAT et AL-MERIE, 2002). Ces activités biologiques sont dues à la présence de composés phytochimiques possédant des cibles moléculaires précises pouvant atteindre différents processus physiologiques (STANGL *et al.*, 2007).

2.5.1. Activité antibactérienne

Les extraits végétaux ont un large spectre d'activité. Leur action antibactérienne a largement été démontrée. Il en ressort que les bactéries Gram – sont moins sensibles que les bactéries Gram + car leur membrane externe contient des lipopolysaccharides (LPS), qui créent une barrière contre les macromolécules et les composés hydrophobes (WALSH *et al.*, 2003 et STARLIPER *et al.*, 2015). Ces composés naturels renferment un grand nombre de principes actifs et leur principale cible est la membrane cytoplasmique (HYLDAARD *et al.*, 2012). Les composés phénoliques (acide gallique, acide digallique et 1,2,3,4,6-pentagalloylglucose) de *Pistacia lentiscus* sont un moyen de défense contre les micro-organismes.

Le nombre de groupement hydroxyle augmente la toxicité contre les micro-organismes soit par la chélation des ions métallique, soit par des interactions non spécifiques, telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires, afin d'inactiver l'adhésion des microorganismes (COWAN, 1999 ; LIN *et al.*, 2005).

2.5.2. Activités anticancéreuses

la gomme du mastic de *Pistacia lentiscus* contient des composés qui inhibent la prolifération et induisent l'apoptose des cellules cancéreuses du côlon chez les humains (BALAN *et al.*, 2007).

2.5.3. Activité antioxydante

La richesse des différentes parties de *Pistacia lentiscus* en polyphénols et en flavonoïdes lui confère l'activité antioxydante et cela par le piégeage direct des espèces réactives d'oxygène (ERO), l'inhibition des enzymes génératrices d'ERO, la chélation des ions de métaux de transition, responsables de la production des ERO et l'induction de la biosynthèse d'enzymes antioxydantes (HALLIWELL, 1994 ; ATMANI *et al.*, 2009 ; BOZORGI *et al.*, 2013).

2.5.4. Activité anti-inflammatoire

La présence de flavonoïdes dans les différentes parties de *Pistacia lentiscus* lui confère cette activité anti-inflammatoire. En effet, certains flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la production des prostaglandines, des molécules pro-inflammatoires très actives. Cet effet serait dû à la réduction du métabolisme de l'acide arachidonique par l'inhibition de la lipooxygénase, de la cyclooxygénase et de la phospholipase A2 (MANTHEY, 2000 ; BOZORGI *et al.*, 2013).

Selon CHERAFT (2011), les différentes activités de l'espèce *Pistacia lentiscus* L. se résument dans le tableau suivant ;

Tableau IV: les différentes activités biologiques de *Pistacia lentiscus* L.

Activités Biologiques	Extraits/composés	Parties	Références
Anti-oxydante	Acide gallique et 1, 2, 3, 4, 6-Pentagalloylglucose	Fruits	(ABDALWAHED <i>et al.</i> , 2007)
	Triterpènes	Résine	(ASSIMOPOULOU <i>et al.</i> , 2005)
	Extrait éthanolique	Feuilles	(BENHAMMAOU <i>et al.</i> , 2008)
	Extraits phénoliques	Feuilles	(ATMANI <i>et al.</i> , 2009)
	Acide Di gallique	Fruits	(BHORI <i>et al.</i> , 2010)
Anti-microbienne	Extrait éthanolique	Feuilles	(BENHAMMAOU <i>et al.</i> , 2008)
	Ether alcool, éther de pétrol, éthyle acétate, chloroforme	Feuilles	(KORDALI <i>et al.</i> , 2003)
	Huiles essentielles	Feuilles et Résine	(DJERROU, 2011).
Anti-Apoptotique	Polaires	Résine	(DEDOUSSIS <i>et al.</i> , 2004)
Anti-cancéreuse	Extrait éthanolique	Résine	(JANAKAT et Al-MERIE, 2002).
Anti-génotoxique	Acide Di gallique	Fruits	(BHORI <i>et al.</i> , 2010)
Anti-hémolytique	Extraits Phénoliques	Feuilles	(DJERIDANE <i>et al.</i> , 2007)
Hépatoprotective	Extraits aqueux	Feuilles	(LJUBUNCIC <i>et al.</i> , 2005)
	Résine		(BHORI <i>et al.</i> , 2010)

PARTIE EXPERIMENTALE

II. Présentation de la zone d'étude

L'échantillonnage a été réalisé au mois de Mars 2018 dans la région de Tizi-Rached située dans la wilaya de Tizi-Ouzou (altitude : 216 m, coordonnées Lambert : 36°41'15.11'' N, 12°39.27'' E). Notre site d'étude est une oliveraie de 70 ans environ, où l'oléastre, l'olivier et le lentisque se sont installés suite à un incendie au niveau des vergers oléicoles il y a une dizaine d'années.



Echelle : 1/200.00

Figure 11 : situation géographique de la zone d'étude.

La zone d'étude est à 17 Km du chef lieu de la wilaya située dans le haut Sebaou (MESROUK, 1984). Elle est limitée administrativement au nord par la commune Ouguenoun, au sud par la daïra de Larbaa Nath Irathen, à l'est par la daïra de Mekla et à l'ouest par la daïra de Tizi-Ouzou.

La station est située au nord-est du socle de la grande Kabylie, en contact dans ses bordures septentrionales avec les terrains néogènes (post-nappes) du bassin du Sebaou par l'intermédiaire d'un système de failles d'effondrement d'orientation moyenne est-ouest. A l'est, les terrains métamorphiques plongent sous l'oligomiocène (conglomérat) lequel supporte l'édifices des olistostromes et flyschs du haut Sebaou. Le socle est constitué de gneiss, micaschistes calcaires cristallins et schistes datés du précambrien. On trouve également des roches intrusives dans la série métamorphique (RAYNOLD, 1976 ; GERARD 1979 in ISSAOUN et YAHIAOUI, 2008).

II. Matériels et méthodes

Au cours de cette étude nous nous sommes intéressés aux effets bénéfiques que l'on peut retrouver en exploitant des composés naturels. Nous avons évalué les effets biologiques d'extraits de feuilles de deux plantes médicinales du pourtour méditerranéen à savoir *Pistacia lentiscus* L. et *Olea europea* L. Le choix de ces plantes est justifié par leur large utilisation en médecine traditionnelle. Les effets biologiques ciblés dans notre étude sont : l'activité antibactérienne et l'activité anti-inflammatoire.

2.1. Matériels

2.1.1. Matériel végétale

Le matériel végétal utilisé est les feuilles d'un seul arbre de *Pistacia lentiscus* L. et des feuilles de sept arbres d'*Olea europea* L. récoltées à Tizi-rached au mois de Mars 2018 (figure 12).



Figure 12 : Feuilles de *Pistacia lentiscus* L. (a) ; Feuilles d'*Olea europea* L. (b).

2.1.2. Matériel utilisés

- Pipettes Pasteur ;
- Ecouvillons ;
- Tubes à essais ;
- Flacons en verre ;
- Boîtes de Pétri en verres et en plastiques.

➤ Appareillages

- Etuve ;
- Autoclave ;
- Rota vapeur ;

- Agitateur magnétique;
- Réfrigérateur ;
- Spectrophotomètre ;
- Vortex ;
- Balance de précision.

➤ **Produits chimiques et milieux de cultures**

- BHIB (Brain-Heart Infusion Broth) (Annexe 2) ;
- BHI (Brain Heart Infusion Agar) (Annexe 3) ;
- DMSO 10% ;
- Ethanol (96°) ;
- MH (Muller Hinton) (Annexe 1) ;
- Ovalbumine ;
- Acide acétyle salicylique (Aspirine) ;
- Eau distillée ;
- Antibiotique (Chloramphénicol).

2.1.3. Souches bactériennes testées

L'extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus* L. et d'*O. europea* L. est testé pour son effet antibactérien vis-à-vis des souches bactériennes utilisées sont des souches pures de références connues, fournies par Monsieur TITOUCHE du laboratoire microbiologie de l'Université MOULOUD MAMMERI de Tizi Ouzou, qui sont *Staphylococcus aureus* (LGA 251), *Staphylococcus aureus* (FRI 361), *Bacillus cereus* (ATCC 108776) et *Enterococcus faecalis* (ATCC 49453) (Annexe 2).

- ***Staphylococcus aureus***

S. aureus est une bactérie qui se présente sous forme coccique en amas (Grappe de raisin) à Gram positif ubiquitaire appartenant à la famille des staphylococcaceae (Figure 13). Elle est commensal pour l'homme et se révèle être pathogène opportuniste, responsable d'infection nosocomiales, d'intoxication alimentaires et sa résistance aux antibiotiques est parfois un grand problème pour le traitement des patients (QUECK, 2008).



Figure 13 : *Staphylococcus aureus* observation par balayage en microscopie électronique (a), observation au microscope optique (b) (QUECK, 2008).

- ***Bacillus cereus***

B. cereus est une bactérie à Gram positif, appartenant à la famille des bacillaceae. Elle correspond à un grand bacille en forme de bâtonnet de 1µm de largeur et de 3 à 4 µm de longueur (Figure 14), aérobic anaérobic facultative, mobile, bêta-hémolytique. Elle est communément retrouvée dans le sol et les aliments. Certaines souches sont nocives pour les humains et causent des toxi-infections alimentaires, tandis que d'autres souches peuvent être bénéfiques comme probiotiques pour les animaux (ROBERT, 2009).

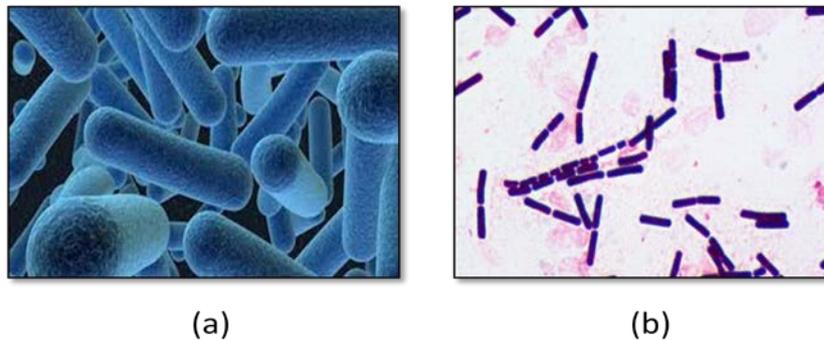


Figure 14 : *Bacillus cereus* : observation par balayage en microscopie électronique (a); observation au microscope optique (b) (ULTEE *et al.*, 1999).

- ***Enterococcus faecalis***.

E. faecalis est une bactérie à Gram positive, appartenant à la famille des enterococcaceae, se présente habituellement sous forme de chaînettes (Figure 15), anaérobic facultative, qui habite le tube digestif des humains et d'autres mammifères. Elle cause des infections mortelles chez l'homme, particulièrement dans les environnements hospitaliers.

Elle possède un haut niveau de résistance naturelle aux antibiotiques tels que les aminoglycosides, l'aztréonam, les céphalosporines, la clindamycine (ULTEE *et al.*, 1999).

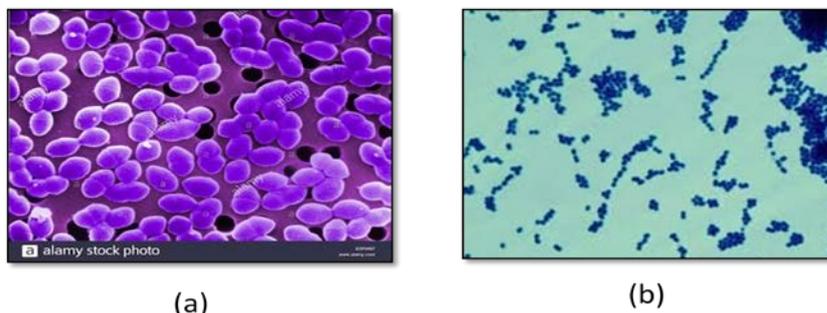


Figure 15 : *Enterococcus faecalis* : observation par balayage en microscopie électronique (a) ; observation au microscope optique (b) (ULTEE *et al.*, 1999).

2.2. Méthodes

2.2.1. Préparation de l'extrait éthanolique

Les feuilles de *P. lentiscus* L. ont été récoltées à partir d'un seul arbre (Le). Par ailleurs, les feuilles d'*O. europea* L. ont été récoltées à partir de sept arbres différents, ces feuilles sont additionnées après broyage de l'Est à l'Ouest selon leur âge.

Arbre 1+ Arbre 2 ➡ Olivier 1 (OL1)

Arbre 3+ Arbre 4 ➡ Olivier 2 (OL2)

Arbre 5+ Arbre 6+ Arbre 7 ➡ Olivier 3 (OL3)

Les feuilles des deux espèces ont été séchées à l'abri de la lumière à une température ambiante, durant environ 13 jours en moyenne jusqu'à ce que l'humidité disparaisse complètement. Elles ont ensuite été broyées à l'aide d'un broyeur, jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et homogène. La poudre obtenue a été conservée dans un bocal en verre à l'abri de la lumière.

Une quantité de 10 mg à 15 mg de poudre est macérée pendant 24 heures dans 100 ml à 150 ml d'éthanol à l'abri de la lumière sous agitation. Puis on procède à la filtration à l'aide du papier Wattman N°1. Le filtrat obtenu est évaporé au Rotavapeur à 45°C (figure 16). Les résidus obtenus sont répartis dans des boîtes pétri a fin d'éliminer le maximum du solvant, après 3 jours la pâte obtenue est gratter avec du DMSO a 10% pour l'activité antibactérienne et avec de l'eau distillé pour l'activité anti-inflammatoire.

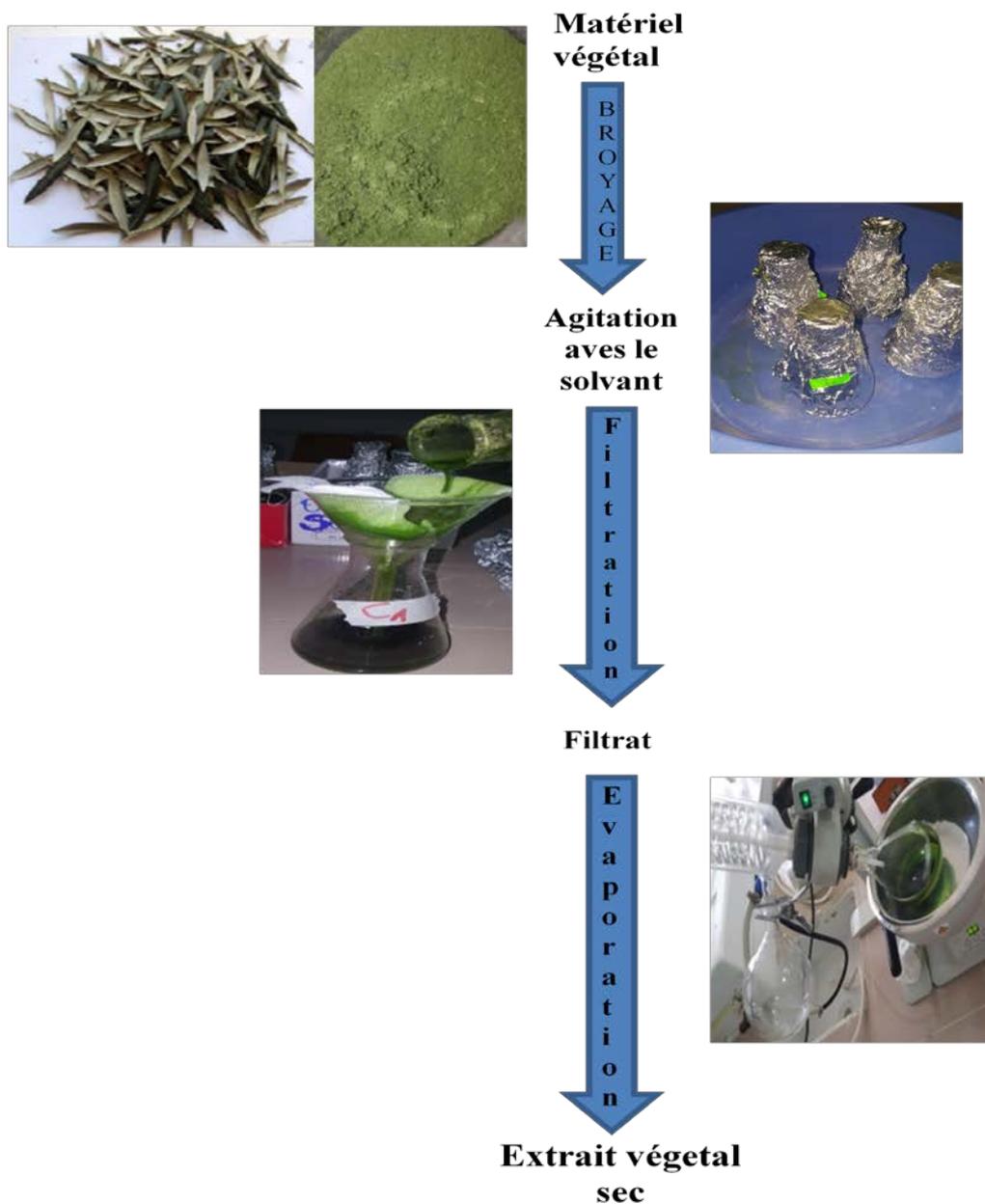


Figure 16 : les différentes étapes de préparation de l'extrait végétal

2.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne par la technique de la diffusion sur milieu solide

L'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus* et d'*Olea europea* est réalisée par la méthode de la double diffusion en milieu solide (figure 18). La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été estimée pour chacun de nos extraits (figure 19) (BILLERBECK *et al.*, 2002).

La revivification des souches bactériennes dans le milieu BHIB, réparti en tubes en verre préalablement ensemencé par les souches de références à tester, puis incubées pendant 18h à 24h à 37° C. Par la suite chaque souche est ensemencée sur le milieu BHI, afin d'obtenir une culture jeune. Des colonies bactériennes bien isolées sont mises en suspension dans de l'eau physiologique stérile, cette suspension est ajustée à une densité optique (DO) entre 0,08 à 0,1 à 625 nm, ce qui correspond à une suspension contenant environ 10⁸ UFC/ml. Cette dernière est ensemencée dans boîtes de Pétri contenant le milieu MH et incubé pendant 18h - 24h à 37° C (BILLERBECK *et al.*, 2002). La suspension préalablement ajustée à 0,08 – 0,1 de DO est ensemencée par écouvillonnage dans des boîtes de Pétri contenant MH. Des disques de 6 mm de diamètre ont été imprégnés avec les différentes dilutions des extraits (Le, OL1, OL2, OL3), et déposés à la surface de la boîte de Pétri. Le disque de l'antibiotique (Chloramphénicol) a été utilisé comme standard pour notre manipulation, ainsi un disque de témoin négatif imbibé de DMSO (10%) est réalisé (figure 17). Les diamètres des zones d'inhibitions ont été mesurés en mm. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque zones d'inhibition (GULLUCE *et al.*, 2007).

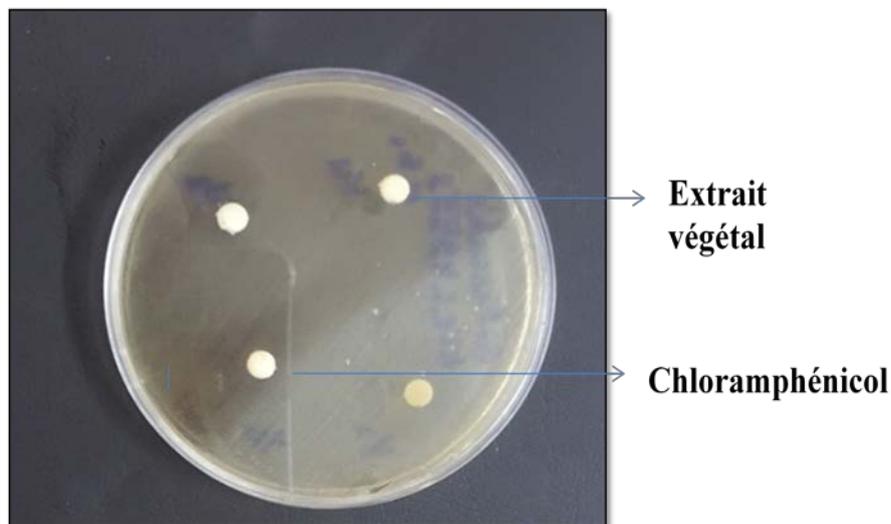


Figure 17 : dépôt de disque de chloramphénicol (30 mg/ml) et des extraits végétaux.

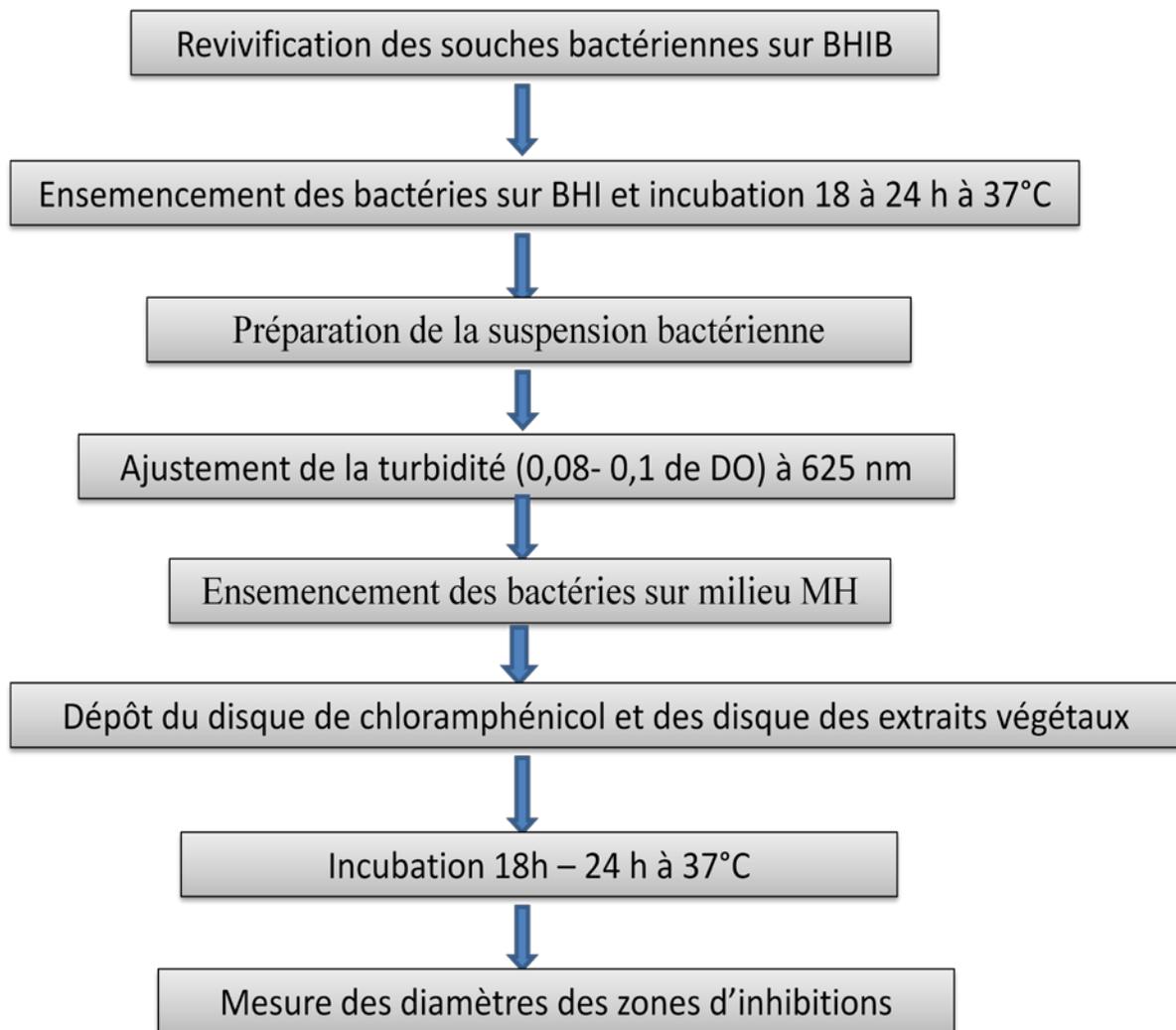


Figure 18 : schéma récapitulatif de la méthode de la double diffusion sur milieu solide.

- **Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) en milieu solide**

Cette méthode permet la détermination de la CMI à partir d'une gamme de concentration d'extrait. Les différentes concentrations des extraits végétaux ont été préparées dans des tubes par la méthode de dilution successive (1/2, 1/4, 1/6, 1/8) (OSSOU *et al.*, 2004), à partir d'une solution mère de concentration initiale de 2ml des extraits, puis diluer à 1/8 les extraits éthanoliques foliaires des deux espèces (figure 19).

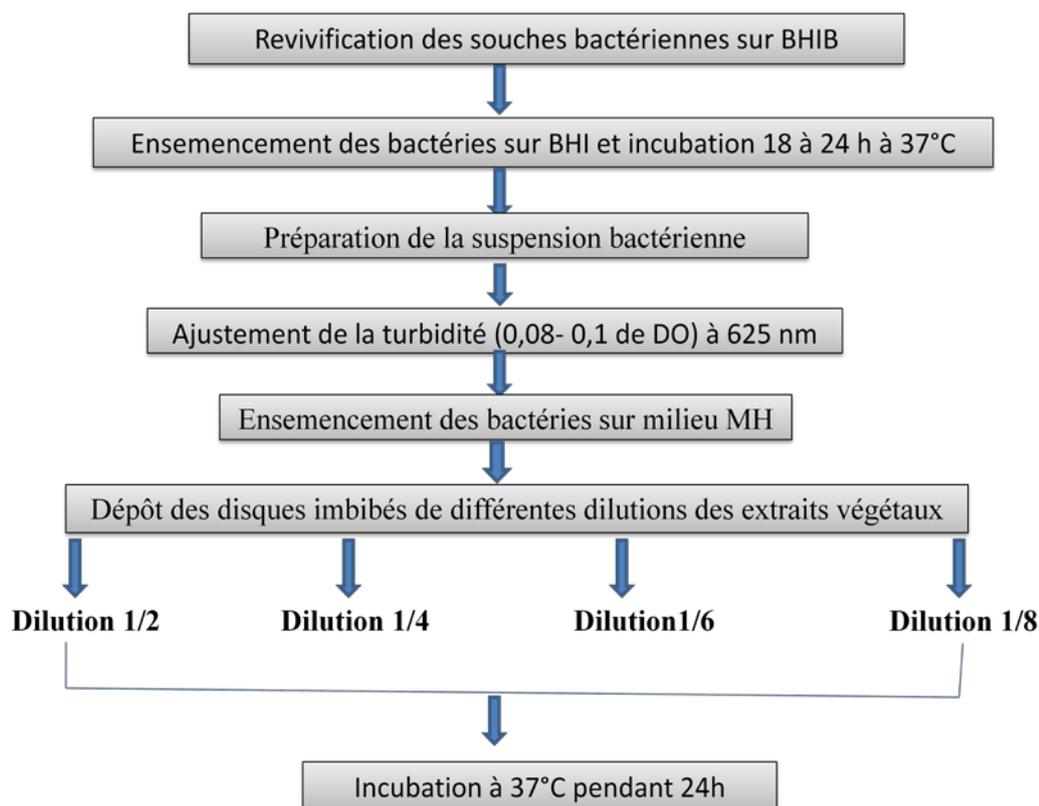


Figure 19 : schéma des différentes étapes de l'évaluation de la CMI en milieu solide.

2.2.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

La dénaturation des protéines tissulaires est bien connue comme étant l'une des conséquences des maladies inflammatoires et arthritiques, aboutissant à la production d'auto-antigènes (WILLIAMS *et al.*, 2008).

Le model de la dénaturation de l'ovalbumine a été choisi dans cette étude.

Le principe de cette technique est basé sur la capacité de ces extraits à réduire la dénaturation thermique de l'Ovalbumine (protéine de référence choisi pour sa stabilité lors du processus anti-inflammatoire) (BOUHLALI *et al.*, 2016).

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée selon le protocole de CHANDRA *et al.* (2012) avec quelques modifications. Les différentes étapes sont résumées comme suite :

- Un volume de 1 ml de solution d'ovalbumine à 2%, préparée dans de l'eau distillée, est ajouté à 1 ml de solution d'extrait à différentes concentrations ;
- Le contrôle est préparé en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée ;

- De l'aspirine a été utilisé comme standard (Figure 20) ;
- Les tubes ont été incubés à 72°C pendant 5 min ;
- La lecture est faite à 660 nm.

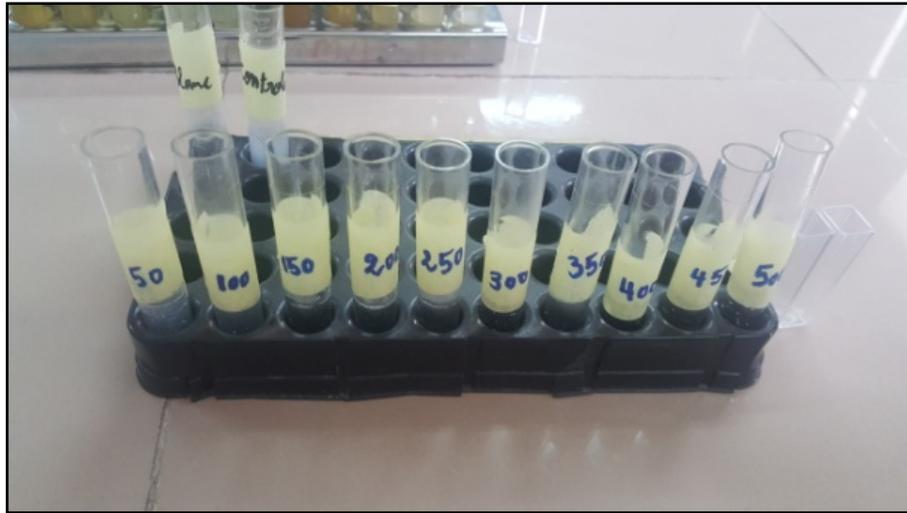


Figure 20 : préparation de la gamme d'aspirine (acide acétyle salicylique).

Des pourcentages d'inhibition de la dénaturation ont été calculés selon la formule suivante (BOUHLALI *et al.*, 2016) :

$$\% I = \frac{(Abs C - Abs T)}{Abs C} \times 100$$

Abs C : absorbance du contrôle.

Abs T : absorbance du test.

III. Résultats et discussions

3.1. Evaluation de l'activité anti bactérienne *in vitro* des extraits de feuilles d'*Olea europea* L. et de *Pistacia lentiscus* L.

L'effet antibactérien de l'extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus* L. et d'*O. europea* L. est testé sur quatre souches bactériennes à Gram+ de référence à savoir : *S. aureus* (FRI 361), *S. aureus* (LGA 251), *B. cereus* (ATCC 108776), *E. faecalis* (ATCC 49453). Les zones d'inhibitions obtenues sont comprises entre $6,354 \pm 1,536$ mm et $12,000 \pm 0,258$ mm.

Les résultats révèlent que l'extrait éthanolique foliaire de l'olivier 1 (OL1) possède un effet inhibiteur vis-à-vis de la souche bactérienne *S. aureus* (FRI 361) avec un diamètre de zones d'inhibitions allant de $9,833 \pm 0,166$ mm à $10,500 \pm 0,223$ mm. De même pour l'extrait éthanolique de l'olivier 2 (OL2), où le diamètre des zones d'inhibitions est compris entre $11,333 \pm 0,494$ mm à $12 \pm 0,258$ mm. Pour le sujet 3 (OL3), le diamètre de la zone d'inhibition varie quant à lui de $10,000 \pm 0,258$ mm à $10,83 \pm 0,542$ mm vis-à-vis *S. aureus* (FRI 361) qui est de même supérieure à 9 mm, comparativement aux diamètres des zones d'inhibitions du chloramphénicol qui varient de $27,333 \pm 0,122$ mm à $30,166 \pm 0,166$ mm vis-à-vis de la même souche. Ces résultats indiquent que la souche bactérienne *S. aureus* (FRI 361) est la souche dite très sensible vis-à-vis l'extrait de feuilles d'*Olea europea* (tableau V).

Les résultats révèlent que l'extrait éthanolique foliaire du lentisque (Le) possède un effet inhibiteur vis-à-vis de la souche bactérienne *S. aureus* (LGA 251) suivie de *B. cereus* (ATCC 108776) avec des diamètres de $8,666 \pm 0,494$ mm à $10,166 \pm 0,600$ mm et $8,833 \pm 0,477$ mm à $10,000 \pm 0,930$ mm respectivement, ce diamètre est compris entre qui sont inférieure à ceux marqués par le chloramphénicol avec des diamètres compris entre $26,666 \pm 0,212$ mm à $29,000 \pm 0,365$ mm et $29,000 \pm 0,516$ mm à $30,333 \pm 0,421$ mm respectivement (figure 21) . Nos résultats obtenus indiquent une divergence entre les diamètres des zones d'inhibitions vis-à-vis des souches bactériennes testées pour les extraits éthanoliques des feuilles de l'olivier et du pistachier (tableau V).

Selon RAVELOMANANTSOA, (2004), les zones d'inhibitions sont classées en suivant les normes suivantes (tableau VI) :

Tableau VI : normes utilisées dans l'expression de la sensibilité des microbes avec des disques d'antibiotique de 6 mm de diamètre (RAVELOMANANTSOA, 2004).

Diamètre de la zone d'inhibition (Z.i) en mm.	Sensibilité des microbes.
Z.i < 7	Résistant
7 < Z.i < 9	Sensible
Z.i > 9	Très sensible

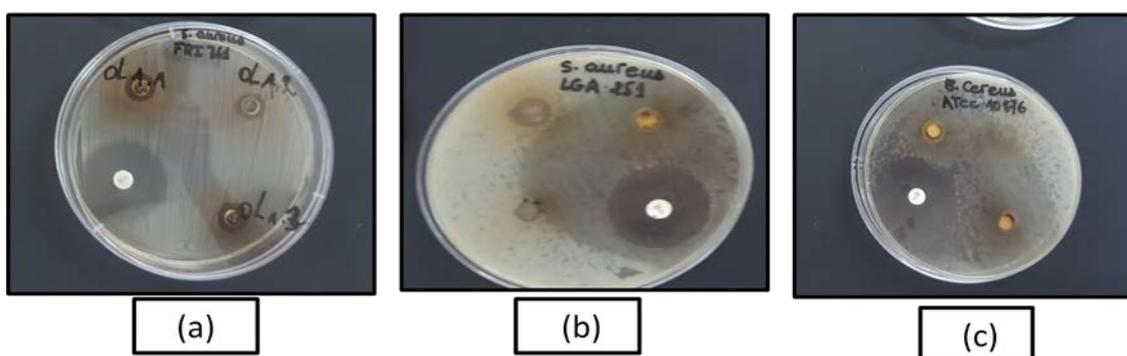


Figure 21 : effet inhibiteurs des extraits des feuilles d'olivier vis-à-vis *S. aureus* FRI 361 (a); effet inhibiteur des extraits du pistachier lentisque vis-à-vis de la souche *S. aureus* LGA 251 (b); et vis-à-vis de la souche *B. cereus* ATCC 10876 (c).

La taille des zones d'inhibitions dépend essentiellement de la capacité de diffusion dans le milieu gélosé des différents composés contenus dans les extraits végétaux bruts. Cette capacité est associée à la polarité des substances diffusibles (CARNEIRO *et al.*, 2008).

Les extraits d'olivier sont plus actifs sur *S. aureus* FRI 361 avec des diamètres supérieurs à 9 mm, ceci indique que cette souche bactérienne est très sensible à cet extrait. Les diamètres marqués par *S. aureus* LGA 251 vis-à-vis de l'extrait (OL1) sont inférieures à 7 mm ce qui signifie que cette souche est peu sensible envers l'extrait (OL1), néanmoins, la même souche a marquée une sensibilité remarquable vis-à-vis l'extrait foliaire (OL3), les autres souches étudiées à part celle cité précédemment ont toutes marquées des diamètres compris entre 7 mm et 9 mm, ce qui signifie leurs sensibilité vis-à-vis de l'extrait foliaire d'*Olea europea*.

SUDJANA et ses collaborateurs (2009), ont testé un extrait aqueux de feuilles d'olivier contre 122 espèces microbiennes. Ils ont constaté que cet extrait a exercé un effet antimicrobien trop restreint, car parmi l'ensemble des microorganismes testés, uniquement *C. jejuni*, *Helicobacter pylori* et *S. aureus* ont manifesté une certaine sensibilité envers cet extrait.

Les extraits des feuilles du pistachier sont plus actifs sur *S. aureus* LGA 251 et sur *B. cereus* avec des diamètres supérieures à 9 mm, ce qui indique que les deux souches sont très sensibles à l'extrait éthanolique foliaire de *Pistacia lentiscus*, contrairement à *S. aureus* LGA 361 et *E. faecalis* qui ont marquées des diamètres compris entre 7 mm et 9 mm, ces souches dites sensible vis-à-vis l'extrait végétal. Des travaux sur l'activité antimicrobienne de deux extraits bruts de feuilles d'olivier de deux variétés Kabyles (chemlal et azerradj) et d'un extrait polyphénolique vis-à-vis d'*E. Coli*, ont montré que la bactérie présente une certaine résistance aux extraits testés, contrairement à *S. aureus* qui a marquée une certaine sensibilité vis-à-vis de ces extraits. Selon certains auteurs, les molécules polyphénoliques comme l'oleuropéine pourraient s'hydrolyser, ce qui provoque une baisse dans l'activité antimicrobienne (BRAINTE *et al.*, 2000).

Nos résultats indiquent l'effet antibactérien des deux extraits foliaires d'*O. europea* et *P. lentiscus*, cette activité est attribuée aux constituants majoritaires contenu dans l'extrait végétal de ces plantes. SUDJANA (2009), a confirmé la présence de l'oleuropeine et hydroxytyrosol au niveau d'*Olea europea*. De même, pour le α -pinène et linalol qui sont présent au niveau du lentisque (KOUTSOUDAKI *et al.*, 2005 ; BOZORGI *et al.*, 2013).

Les diamètres des zones d'inhibitions de l'extrait éthanolique des feuilles de *P. lentiscus* retrouvés lors de notre étude sont moins important que ceux rapportés par RAJAEI *et al.*, (2010), qui signalent des zones d'inhibitions entres 11.7 mm et 12.6 mm lors d'une étude sur l'extrait de graine de *P. vera* vis-à-vis de souches de *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*. Plusieurs études ont signalé que l'huile essentielle des parties aériennes (feuilles et fruits) de *Pistacia lentiscus* possède des propriétés antifongiques et antibactériennes appréciables (BONSIGNORE *et al.*, 1998; KORDALI *et al.*, 2003; GARDELI *et al.*, 2008).

Une étude menée par BAMMOU *et al.*, (2015) sur l'activité antibactérienne de *Pistacia lentiscus* indique que les extraits des feuilles n'ont aucun effet sur *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae*, par contre *S. aureus* et *Proteus mirabilis* laissent voir une certaine sensibilité.

La variation de la composition chimique explique l'effet antibactérien différent observé chez les extraits éthanoliques foliaires d'*Olea europaea* et *Pistacia lentiscus*. L'efficacité optimal d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés contenue dans cet extrait (ESSAWI *et al.*, 2000). Ces différences de composition sont dues principalement aux variations édapho-climatiques et agronomiques dont sont issus ces arbres (PONCE, 2003).

LEE *et al.*, (2010) ont indiqué que les feuilles d'olivier sont douées d'une grande capacité biologique naturelle. En effet, deux composés phénoliques propres aux feuilles d'olivier (oleuropéine et acide caféique) sont à l'origine d'un effet antioxydant et antimicrobien. Cependant, l'effet antimicrobien observé est beaucoup plus important lorsque les deux composés étaient appliqués sous forme combinée. En accord avec ces observations, BENAVENTE-GARCIA *et al.*, (2000) ont suggéré que les extraits de feuilles d'olivier peuvent exercer une action synergique grâce à la présence de l'oleuropéine et d'autres composés phénoliques. Selon COWAN, (1999) les polyphénols sont les principaux composés antimicrobiens des plantes possédants des modes d'action divers et des activités inhibitrices et létales vis-à-vis d'un nombre important de microorganismes.

- **Etude statistique**

Les ANOVA réalisées pour les extraits de l'olivier (OL1, OL2 et OL3) et du lentisque (Le) vis-à-vis des souches *S. aureus* (FRI 361) et *S. aureus* (LGA 251) ont démontrées une différence hautement significative ($P= 0,00$) (annexe 4). De ce fait, un test complémentaire de comparaison des moyennes (NEWMAN-KEULS) a été réalisé. Pour la souche *S. aureus* FRI 361, trois groupes homogènes (A, B et C) ont été formés (tableau VII), le groupe A est constitué de l'extrait Le avec une moyenne de 8,67 mm, par ailleurs le groupe B est constitué des extraits OL1 et OL3 avec des moyennes rapprochées de 10,22 mm à 10,44 mm le groupe C est constitué de OL2 avec une moyenne de 11,72mm.

Pour la souche *S. aureus* (LGA 251), deux groupes homogènes (A et B) ont été formés, le groupe A est constitué de l'extrait OL1 avec une moyenne de 6,22, le groupe B est constitué d'OL2, OL3 et Le avec des moyennes rapprochées de 8,72 à 9,39.

Tableau VII: test de comparaison des moyennes (NEWMAN-KEULS) des zones d'inhibitions des extraits végétaux vis-à-vis *S. aureus* (FRI 361) et *S. aureus* (LGA 251).

<i>S. aureus</i> FRI 361			<i>S. aureus</i> LGA 251		
	Groupe	Moyenne		Groupe	Moyenne
Le	A	8,67	OL1	A	6,22
OL1	B	10,22	OL2	B	8,72
OL3	B	10,44	OL3	B	9,17
OL2	C	11,72	Le	B	9,39
chlo		28,75	chlo		28,29

36

Les quatre extraits appartiennent au groupe A pour les deux souches *E. faecalis* (ATCC 49453) et *B. cereus* (ATCC 10876), avec des moyennes très rapprochées allant de 7,00 mm à 9,28 mm pour *E. faecalis* et 8,33 mm à 9,50 mm pour *B. cereus* (tableau IX).

Tableau VIII : test de comparaison des moyennes (NEWMAN-KEULS) des zones d'inhibitions des extraits végétaux vis-à-vis *E. faecalis* (ATCC 49453) et *B. cereus* (ATCC 10876).

<i>E. faecalis</i> ATCC 49453			<i>B. cereus</i> ATCC 10876		
	Groupe	Moyenne		Groupe	Moyenne
OL3	A	7,00	OL1	A	8,33
OL1	A	7,00	OL3	A	8,44
Le	A	7,11	OL2	A	8,78
OL2	A	9,28	Le	A	9,50
chlo		21,13	chlo		30,25

36

- **Détermination de concentration minimale inhibitrice CMI**

La CMI correspond à la première concentration pour laquelle on observe la valeur la plus basse des zones d'inhibitions autour des disques imprégnés de différentes concentrations des extraits végétaux. Les résultats obtenus dans notre étude ont montré que nos extraits inhibent la plupart des germes testés. Ces bactéries ne présentent pas la même sensibilité par les extraits.

Nos résultats indiquent, que les trois extraits foliaires éthanoliques de l'olivier sont les plus performant vis-à-vis des souches *B. cereus* et *S. aureus* (LGA 251) en terme de valeur de CMI qui correspond à 2176,2µg/ml pour l'extrait 1(O11) vis-à-vis de *bacillus*, 2176,2µg/ml et 2475 µg/ml vis-à-vis *S. aureus* (LGA 251) pour les deux extraits O12 et O13 respectivement. Pour le lentisque deux valeurs de CMI ont été enregistrées, la valeur la plus élevée est marquée pour les deux souches *B. cereus* et *E. faecalis* avec une concentration de 2272,6 µg/ml suivi par la souche *S. aureus* avec une valeur de 3030,2µg/ml (annexe 4).

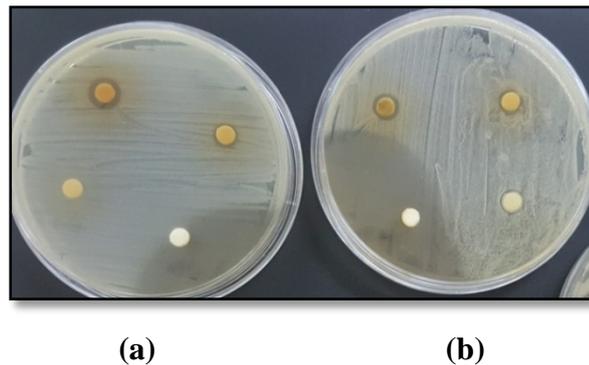


Figure 22 : détermination de la CMI de *S. aureus* LGA 251 (a), *B. cereus* ATCC 108776 (b) vis-à-vis l'extrait foliaire d'*Olea europea*.

En comparant nos résultats avec ceux d'AIME et ses collaborateurs (2015), qui ont défini l'échelle suivante et considèrent qu'un extrait végétal présente une action: Significative vis-à-vis d'une souche si la CMI est inférieure à 100 µg/ml ; modérée vis-à-vis d'une souche si la CMI est comprise entre 100 et 625 µg/ml et faible vis-à-vis d'une souche si la CMI est supérieure à 625 µg/ml.

Ce qui nous amène à dire que sur la base de cette échelle l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques foliaires d'*O. europea* et de *P. lentiscus* est considérée faible.

Cet effet antibactérien limité peut s'expliquer par la méthode et le solvant d'extraction. Dans ce contexte, YIIDIRIM *et al* (2001) ont observé une différence de l'effet antibactérien d'extrait de feuilles de *Rumex crispus* L. en fonction du solvant d'extraction. Ils ont noté les plus basses valeurs des diamètres des zones d'inhibition avec l'extraction aqueuse, comparativement aux autres solvants d'extraction. La présence des polyphénols au niveau des feuilles de l'olivier à savoir l'oleuropeine et hydroxytyrosol (SUDJANA, 2009), et du lentisque tel que α -pinène, linalol et quercétine (KOUTSOUDAKI *et al.*, 2005; BOZORGI *et al.*, 2013).

En effet, les molécules polyphénoliques comme l'oleuropeine pourraient s'hydrolyser, ce qui provoque une baisse dans l'activité antimicrobienne (BRAINTE *et al.*, 2000). L'action antibactérienne est étroitement liée à la composition chimique de l'extrait végétal. Elle est proportionnelle au constituant majoritaire. Le degré de sensibilité des bactéries testées vis-à-vis d'un même extrait végétal est supposé varier selon la composition pariétale (YIIDIRIM *et al.*, 2001).

➤ **Etude statistique**

Les ANOVA des CMI réalisée pour nos extraits vis avis de *S. aureus* LGA 251 et *S. aureus* FRI 361, ont démontrées une différence hautement significative (P=0) (annexe 4). De ce fait un test complémentaire de comparaison des moyennes (NEUMANN KEULS) à été réalisé.

- Pour la souche *S. aureus* LGA 251, Quatre groupes homogènes ont été formés (tableau X) :

Le groupe A constitué de la dilution 1/8 de *Pistacia lentiscus* avec une moyenne nulle ;

Le groupe AB constitué de la dilution 1/8 de l'extrait OL3 avec une moyenne de 2,33 mg/ml;

Le groupe B est constitué de la dilution 1/8 de l'extrait3 (OL3) avec une moyenne de 2,33mg/ml ;

Le groupe C est constitué des différentes dilutions des extraits de l'olivier et du lentisque avec des moyennes rapprochées allant de 7,00 mg/ml à 9,00 mg/ml.

- Pour la souche *S. aureus* FRI 361, six groupes homogènes ont été formés (tableau XI) :
 Le groupe A est constitué des différentes dilutions des extraits de l'olivier et du pistachier avec une moyenne 0,00 mg/ml ;
 Le groupe B est constitué de la dilution 1/6 du lentisque avec une moyenne de 5,83 mg/ml ;
 Le groupe BC constitué de la dilution 1/2 de l'extrait (OL2) avec une moyenne de 7,17 mg/ml;
 Le groupe CD constitué de deux dilutions 1/2, 1/4 pour les deux extraits Le, OL3 respectivement avec deux moyennes rapprochées 7,83 mg/ml et 8,50 mg/ml ;
 Le groupe DE est constitué de la dilution 1/4 de l'extrait OL2 avec une moyenne de 9,33 mg/ml;
 Le groupe E est constitué de la dilution 1/2 de l'extrait OL3 avec une moyenne de 10,50 mg/ml.

Tableau X : test de comparaison des moyennes (NEWMAN-KEULS) des CMI de nos extraits végétaux vis-à-vis les deux souches *S. aureus* LGA 251 et *S. aureus* FRI 361.

<i>S. aureus</i> FRI 361			<i>S. aureus</i> LGA 251		
	Groupe	Moyenne		Groupe	Moyenne
OL2 1/6	A	0,00	Le 1/8	A	0,00
OL2 1/8	A	0,00	OL3 1/8	AB	2,33
OL3 1/6	A	0,00	OL3 1/4	B	3,50
OL1 1/8	A	0,00	Le 1/6	C	7,00
OL3 1/8	A	0,00	Le 1/6	C	7,00
Le 1/4	A	0,00	OL2 1/8	C	7,00
Le 1/8	A	0,00	OL3 1/2	C	7,00
OL1 1/6	A	0,00	OL1 1/6	C	7,17
OL1 1/2	A	0,00	OL2 1/6	C	7,67
OL1 1/4	A	0,00	OL3 1/6	C	8,00
Le 1/6	B	5,83	OL1 1/4	C	8,17
OL2 1/2	BC	7,17	Le 1/2	C	8,17
Le 1/4	CD	7,83	OL1 1/2	C	8,33
OL3 1/4	CD	8,50	OL2 1/4	C	9,00
OL2 1/4	DE	9,33	OL1 1/8	C	9,00
OL3 1/2	E	10,50	OL2 1/2	C	9,00

- Pour la souche *B. cereus* ATCC 10876, six groupes homogènes ont été formés (tableau XI)
 Le groupe A est constitué de différentes dilutions des extraits de l'olivier avec une moyenne nulle
 Le groupe AB est constitué de la dilution 1/8 de l'extrait OL1 avec une moyenne de 2,33 mg/ml ;
 Le groupe BC constitué de la dilution 1/4 de l'extrait OL1 avec une moyenne de 5,00 mg/ml ;

Le groupe CD constitué des différentes dilutions (1/8, 1/6, 1/4) de l'extrait Le et une dilution (1/2) de l'extrait OL3 avec des moyennes rapprochées de 7,00 mg/ml à 8,00 mg/ml ;

Le groupe DE est constitué de la dilution 1/2 de l'extrait Le avec une moyenne de 8,83 mg/ml ;

Le groupe E est constitué de la dilution 1/2 de l'extrait OL1 avec une moyenne de 11,50 mg/ml.

- Pour la souche *E. faecalis*, deux groupes homogènes ont été formés (tableau XI)

Le groupe A est constitué de différentes dilutions des extraits d'olivier (OL1, OL2, OL3) avec une moyenne nulle ;

Le groupe B est constitué de différentes dilution des extrais de l'olivier et le lentisque avec des moyennes rapprochées de 7,00 mg/ml à 7,33 mg/ml.

Tableau XI : test de comparaison des moyennes (NEWMAN-KEULS) des CMI de nos extraits végétaux vis-à-vis les deux souches *B. cereus* et *E. faecalis*.

<i>B. cereus</i> ATCC 108776			<i>E. faecalis</i> ATCC 45493		
	Groupe	Moyenne		Groupe	Moyenne
OL3 1/8	A	0,00	OL2 1/8	A	0,00
OL1 1/6	A	0,00	OL2 1/2	A	0,00
OL2 1/2	A	0,00	OL2 1/4	A	0,00
OL2 1/4	A	0,00	OL1 1/6	A	0,00
OL2 1/8	A	0,00	OL1 1/4	A	0,00
OL3 1/6	A	0,00	OL3 1/4	A	0,00
OL2 1/6	A	0,00	OL3 1/2	A	0,00
OL3 1/4	A	0,00	OL2 1/6	A	0,00
OL1 1/8	AB	2,33	OL3 1/8	A	0,00
OL1 1/4	BC	5,00	OL1 1/8	B	7,00
Le 1/8	CD	7,00	OL3 1/6	B	7,00
OL3 1/2	CD	7,50	Le 1/4	B	7,00
Le 1/6	CD	7,67	Le 1/2	B	7,00
Le 1/4	CD	8,00	Le 1/6	B	7,00
Le 1/2	DE	8,83	Le 1/8	B	7,00
OL1 1/2	E	11,50	OL1 1/2	B	7,33

3.2. Evaluation *in vitro* de l'activité anti inflammatoire des extraits des feuilles d'*Olea europea* et *Pistacia lentiscus*

L'activation incontrôlée ou prolongée de l'inflammation peut provoquer des altérations dangereuses, tel que la dénaturation des protéines. Ces dernières subissent une perte de leurs structure qui aboutit à l'exposition d'auto antigènes (CLOS, 2012). RATHISRE et *al.*, (2013), indiquent que la méthode de dénaturation protéiques est la plus utilisée pour l'évaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire des extraits végétaux.

De ce fait, les résultats de l'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine par nos extraits végétaux indiquent une divergence entre les pourcentages d'inhibitions obtenus.

Les résultats mentionnés au niveau du tableau XII, révèlent que les pourcentages d'inhibitions de la dénaturation de l'ovalbumine par les différentes dilutions des extraits éthanoliques foliaires d'*Olea europea* (OL1, OL2, OL3), sont proportionnels aux différentes dilutions allant de (1/16 à 1/26). Le pourcentage d'inhibition le plus haut marqué pour l'extrait OL1, est de 65,106 % à une dilution de 1/24 qui convient à la concentration de 7,181 mg/ml. Ce pourcentage est nulle à la dilution 1/20 qui correspond à la concentration de 86,175 mg/ml, comparativement aux extraits OL2 et OL3 qui ont marqués un pourcentage d'inhibition assez remarquable qui varie de 58,115 % et 36,717 % pour la même dilution qui est de 1/26 qui convient aux concentrations de 6,703 mg/ml et 7,615 mg/ml respectivement.

Une valeur nulle est mentionnée pour OL2 par la dilution de 1/20 qui convient à la concentration de 8,705 mg/ml, les dilutions 1/18, 1/20, 1/22 qui correspond aux concentrations 12,375 mg/ml, 11 mg/ml et 9,9 mg/ml respectivement (figure 23).

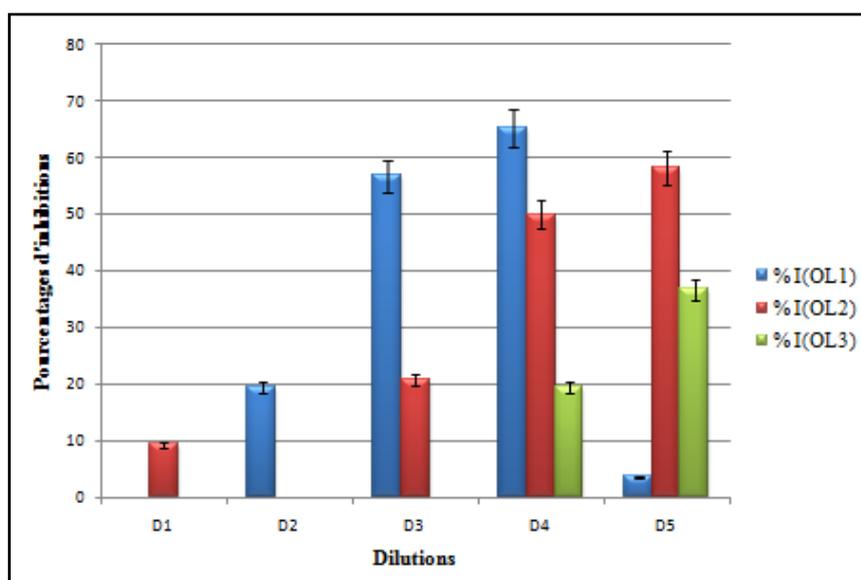


Figure 23: pourcentages d'inhibitions de la dénaturation de l'ovalbumine par les différentes dilutions des extraits éthanoliques foliaires d'*Olea europea* L.

L'augmentation de l'effet anti-inflammatoire des extraits éthanoliques de l'olivier est proportionnel aux dilutions, plus on dilue d'avantage l'activité mieux apparait. Ce ci traduit que les composés ayant cette activité soit ont été masqués avec d'autres composés majoritaires, ou bien existaient en quantités insuffisantes pour induire cet effet.

La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation (SANGEETHA, 2011). C'est un phénomène durant lequel la protéine perd sa structure tridimensionnelle, suite à son exposition à la chaleur, à un agent infectieux ou chimique (acide ou base forte) (LANNEAU, 2010), induisant l'exposition de certains sites qui vont devenir des auto-antigènes (JACQUIER-ARLIN et POLLA, 1994).

Le témoin utilisé (Aspirine) a donné les pourcentages d'inhibition représentés en figure 24, avec un pourcentage d'inhibition d'environ 43 % à une concentration de 100 µg/ml et un pourcentage d'environ de 90% entre 150 et 400 µg/ml (Figure 24).

La dénaturation protéique *in vivo* peut être la cause de l'apparition d'auto-antigènes dans certaines maladies arthritiques. Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération des liaisons électrostatique, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintient la structure tridimensionnelle des protéines (BAGAD, 2011). Les agents possédant des propriétés protectives contre la dénaturation protéique, seraient de bons candidats pour le développement de nouvelles molécules anti-inflammatoires (CHANDRA *et al.*, 2012).

L'activité anti-inflammatoire des extraits pourrait être due à l'interaction de certains composants avec deux sites présents au niveau de certaines protéines comme l'ovalbumine, de liaisons riches en Tyrosine, Thréonine et Lysine (WILLIAMS *et al.*, 2002). LU et ses collaborateurs (2008), ont rapportés que les composants des plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle, exercent leurs effets pharmaceutiques grâce à leur capacité de se lier aux protéines plasmatiques.

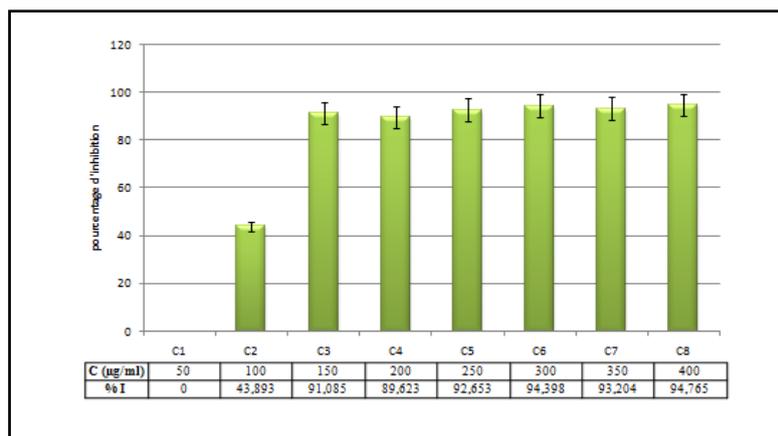


Figure 24: variations des Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine vis-à-vis les différentes dilutions d'aspirine.

Les résultats de l'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine vis-à-vis de l'extrait éthanolique foliaire du lentisque indiquent une différence entre les dilutions réalisées (figures 25).

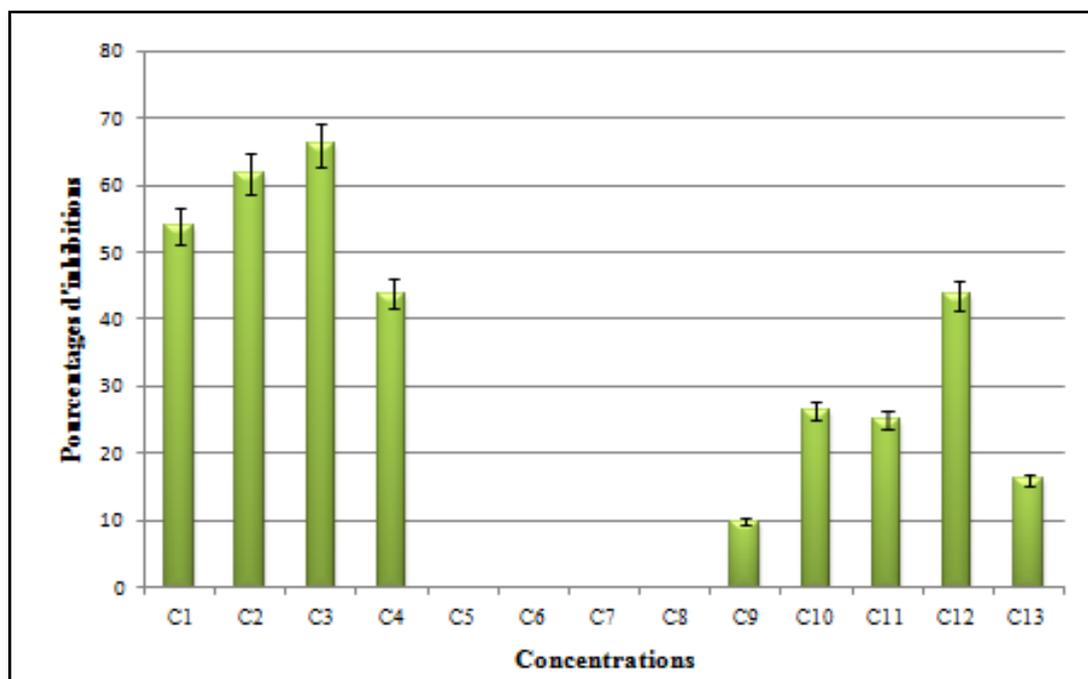


Figure 25: pourcentages d'inhibitions de la dénaturation de l'ovalbumine par les différentes dilutions des extraits éthanoliques foliaires de *Pistacia lentiscus*.

Selon les résultats représentés au niveau de la figure 25, on constate que l'inhibition de la dénaturation des protéines est inversement proportionnelle aux dilutions et proportionnelle aux concentrations. De ce fait, le pourcentage d'inhibition le plus élevé est de 66,061% qui est obtenu avec la concentration de 2,186 mg/ml. Ces résultats coïncident avec ceux obtenus par WILLIAMS *et al.*, (2008), selon lesquels l'activité anti-inflammatoires des composés naturels isolés à partir des plantes, est plus importante lorsque la concentration est faible (WILLIAMS *et al.*, 2008).

Les extraits des deux espèces étudiées (*Olea europea* L. et *Pisatacia lentiscus* L.) sont capables de contrôler la production d'auto-antigène par l'inhibition de la dénaturation des protéines. L'activité inhibitrice de la dénaturation de l'ovalbumine est peut être attribuée à la présence de différents composés bioactifs tels que les flavonoïdes et les tannins (SANGEETHA, 2011).

CONCLUSION

Les extraits naturels issus des plantes contiennent des métabolites secondaires à l'origine d'un effet inhibiteur envers les microorganismes et des capacités anti-inflammatoires.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés aux effets antimicrobiens et anti-inflammatoires des extraits éthanoliques des feuilles d'*Olea europea* L. et de *Pistacia lentiscus* L., plantes largement utilisées en médecine traditionnelle à travers le monde.

Des extraits éthanoliques foliaires d'olivier et du lentisque sont préparés, l'effet antimicrobien de ces composés est déterminé par la méthode de double diffusion sur milieu solide vis-à-vis de quatre souches bactériennes: *Staphylococcus aureus* (LGA 251), *Staphylococcus aureus* (FRI 361), *Bacillus cereus* (ATCC 108776), *Enterococcus faecalis* (ATCC 45493). Ces composés se sont révélés actifs contre l'ensemble des bactéries testées. Les extraits éthanoliques foliaires de l'olivier OL1, OL2 et OL3 ont montrés une forte activité vis-à-vis *S. aureus* (FRI 361) avec des diamètres de 10,5 mm, 12,00 mm et 10,83 mm respectivement, les deux souches *S. aureus* (LGA 251) et *B. cereus* (ATCC 108776) ont marquées des zones d'inhibitions significantes avec des diamètres de 10,16 mm et 10,00 mm respectivement. Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) indiquent que les trois extraits de l'olivier sont les plus performant vis-à-vis *B. cereus* et *S. aureus* (LGA 251), par ailleurs, le lentisque a indiqué une CMI plus élevées chez les deux souches *B. cereus* et *E. faecalis*.

L'activité anti-inflammatoire des extraits éthanolique foliaire de l'olivier et du lentisque a été mise en évidence par l'évaluation de leur effet inhibiteur, contre la dénaturation thermique de l'ovalbumine. Nos différents extraits de l'olivier ont révélé une inhibition de la dénaturation thermique de l'ovalbumine avec des pourcentages maximaux de 65,106 % pour OI1, 58,115 % pour OI2 et 36,717% pour OI3. Cependant, l'extrait éthanolique foliaire du lentisque a marqué le plus grand pourcentage de 66,061%. L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits éthanolique foliaire de l'olivier et du lentisque montre que ces deux plantes possèdent un pouvoir pharmacologique, ce qui valide leur usage traditionnel pour soulager diverses affections inflammatoires.

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

- Elargir l'éventail des espèces microbiennes testées (bactéries, levures et moisissures, hospitalières et de référence), et faire des associations entre ces extraits pour voir d'éventuel effet synergique.
- Approfondir l'investigation phytochimique et biologique sur ces plantes afin d'isoler les molécules responsables des activités observées, ce qui permettra d'élargir l'arsenal thérapeutique des médicaments à base de plantes.
- Evaluer *in vitro* d'autres activités biologiques à savoir l'activité antiulcéreuse, anticancéreuse, antioxydante, antimitotique, et procéder à des tests *in vivo*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **ABBAS M., BOUDRICHE D. (2007).** Identification et Extraction des Molécules Bioactives de *Pistacia lentiscus* L. et détermination de Quelques Effets Pharmacologiques, Centre de recherche et de développement, Saidal, Alger.
- **ABDELWAHED A., BOUHLEL I., SKAMDRANI I., VALENTI K., KADRI M., GUIRAND P., STEIMAN R., MARIOTTE A.M., GHERDIA K., LAPORTE F., DIJOUX F., RANCA M.G., AND CHEKIR-GHEDIRA L. (2007).** Study of antimutagenic and antioxidant activities 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloylglucose from *Pistacia Lentiscus* confirmation by microarray expression profiling. *Chem. Biol. Inter.* **165**, 1-13.
- **AIME G., FANKAM S., JULES R., VITOR K. (2015).** Antibacterial and antibiotic resistance modifying activity of the extracts from *allanblackia gabonensis*, *combretum molle* and *gladiolus quartinianus* against Gram negative bacteria including multidrug resistant phenotypes. *Complementary and Alternative Medicine.* **15 (206)**.
- **AIT YOUCEF M. (2006).** Plantes médicinales de Kabylie. Edition Ibis press. Pp: 260, 349.
- **AL-AZZAWIE. H., ALHAMDANI. M. (2006):** Antihypertensive and antyoxydant activity for triterpenoids isolated from *Olea europea* L. leaves. *Biological and pharmaceutical bulletin.* **23 (11)**, 1307-1313.
- **AL-SAID M.S., AGEEL A.M., PARMAR N.S., TARIQ M. (1986).** Evaluation of mastic, a Crude Drug obtained from *Pistacia lentiscus* for Gastric and Duodenal Anti-ulcer Activity, *Ethnopharmacol.* **15(3)**, 271-8.
- **ANNIE M., PERRIER L. (2014).** Guide des arbres et arbustes de France .éditions sud oueste. ; Loire offset titoulet à Sainte –Etienne (42), 78-80.
- **ASSIMOPOULOU A.N., ZLATANOS S.N. and PAPAGEORGIU V.P. (2005).** Antioxidant activity of natural resins and bioactive triterpenes in oil substrates. *Food Chemistry.* **92**, 721– 727.
- **ATMANI D., CHAHER N., BERBOUCHA M., AYOUNI K., LOUNIS H., BOUDAUD H., DEBBACHE N., ATMANI D. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Fond Chemisiry.* **112**, 303-309.

- **BAGAD.Y. M., UMARKAR. A. R., TATIA. A. U., SURANA S.J. (2011).** Investigation of antiinflammatory and analgesic activity of *bridelia airyshawii* (Euphorbiaceae). *J pharm.* 1326-1332.
- **BALAN K. V., PRINCE J., HAN Z., DIMAS K., CLADARAS M., WYCHE J. H., PANTAZIS P. (2007).** Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated in vitro with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus* L. var. chia. *Phytomedicine.* **14(4)**, 263-272.
- **BAMMOU M., DAOUDI A., SLIMANI I., NAJEM M., BOUIAMRINE E., IBIJBIJEN J., NASSIRI L. (2015).** Valorisation du lentisque « *Pistacia lentiscus* L.». Etude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of applied biosciences.* **86**, 7966 – 7975.
- **BARAZANI O., DUDAI N., GOLAN-GOLDHIRSH A. (2003).** Comparison, of Mediterranean *Pistacia lentiscus* genotypes by random amplified polymorphic DNA chemical and morphological analysis, *J of Chemical Ecology.* **29**, 1939-1951.
- **BELFADEL F. (2009).** Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* Caractéristiques physicochimiques et effets biologiques. Mémoire présentée pour obtenir le diplôme de Magistère en chimie organique, Université Constantine 1. Pp: 139.
- **BENHAMMOU N., BEKKARA F.A., KADIFKOVA P.T. (2008).** Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology.* **2(2)**, 022-028.
- **BHOURI. W., DERBEL. S., SKANDRANI. I., BOUBAKER. J., BOUHLEL. I., SGHAIER. M., KILANI. S., MARIOTTE. A; DIJOUX FRANCA. M. (2010).** Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Toxicology in Vitro.* **24**, 509–515.
- **BISIGNANO G., TOMAINO A., LO CASCIO R., CRISAFI G., UCCELLA N., 1999.** On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *J Pharm Pharmacol.* **51 (8)**, 971- 4.
- **BILLERBECK G. (2002).** Les contaminations biologiques des biens culturels : Essai d'utilisation d'huile essentielle en traitement de l'aire. Ed, Elsevier.357-365.
- **BONSIGNORE L., COTTIGLIA F., LOY G. (1998).** Antibactenal activity of *Pisiacia lentiscus* aerial parts. *Fitoterapia.* Volume LXIX, No 6.

- **BOUHLALI E., SELLAM K., BAMMOU M., ALEM C et FILALI-ZEHZOUTI, Y. (2016).** In vitro Antioxidant and anti-inflammatory properties of selected Moroccan medicinal plants. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. **6 (05)**, 156-162.
- **BOUKELOUA A. (2009).** Caractérisation botanique et chimique et évaluation pharmacotoxicologique d'une préparation topique à base d'huile de *Pistacia lentiscus* L. (anacardiaceae). Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magistère Université Mentouri Constantine. Pp : 60.
- **BOZORGI M., MEMARIANI Z., MOBILI M., HOSSEIN M., SURMAGHI S., SHAMS-ARDEKANI M.R., RAHIMI R. (2013).** Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): a review of their traditional uses, phytochemistry and pharmacology, *The ScientificWorld Journal* 1-33.
- **BRAINTE R, FRANCESCO L. C, FERDINANDO F, MAURIZIO P., ROBERTO N. (2000).** Hydrolysis of Oleuropein by recombinant β -glycosidases from hyper thermophilic *Archea sulfobolus* immobilised on chitosan matrix. *J. Biotechnol.* **71**, 275-286.
- **BRETON. C., BERVILLE A. (2012) :** Histoire de l'olivier. Edition Quae. Paris 6. PP : 27-28.
- **BRUNETON J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} éd. Lavoisier. 942 - 945.
- **CARNEIRO A. L. B., TEIXEIRA M. F. S., OLIVEIRA V. M. A. D., FERNANDES O. C. C., CAUPER G. S. D.B., POHLIT A. M. (2008).** Screening of Amazonian plants from the Adolpho Ducke forest reserve, Manaus, state of Amazonas, Brazil, for antimicrobial activity. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* **103(1)**, 31-38.
- **CASTILLO. J., LORENTE. J., ORTUNO. A., DEL RIO. J.A. (2000).** Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chem.* **68**, 457-462.
- **CECCHINI. T., TICLI. B. (2008).** Les plantes médicinales. Nouvelle Edition Vecchi S.A. Paris. PP : 212-213, 239.

- **CHANDRA S., CHATTERJEE P., DEY P et BHATTACHARYA S. (2012).**
Evaluation of in vitro anti inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 178-180.
- **CHAUCHE T. M., HADDOUCHI. F., KSOURI. R., et al. (2013).** *In vitro* evaluation of antioxidant activity of the hydro-methanolic extracts of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. *Phytothérapie*. **11(4)**, 244–9.
- **CHAREF M., YOUSFI M., SAIDI M and STOCKER P. (2008).** Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria. *J Am Oil Chem Soc*. **85**, 921–924.
- **CHERAFT N. (2011).** Activité biologique *in vitro* des extraits de *Pistacia lentiscus* contre les radicaux ABTS•+, O₂•⁻ et •NO et caractérisation des fractions actives, Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister En Biologie Option : Biochimie Appliquée aux Substances Végétales Bioactives.
- **COWAN M. M.** Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microb. Rev.* **12**, 564-582.
- **CRONQUIST A. (1981).** An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press. *ESTEM*. **210**, 414-415.
- **DE BILLERBECK V. G., ROQUES C., VANIERE P. et MARQUIER P. (2002).** Activity antibactérienne et antifongique de produit à base d'huiles essentielles. Hygiènes volume X N° 3
- **DEDOUSSIS G. V. Z., KALIORA A. C., PSA RRAS S., CHIOU A., MYLONA A., PAPADOPOULOS N. G., ANDRIKOPOULOS N. K., (2004).** Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis*. **174**, 293-303.
- **DIAZ A-M, 2000.** In vitro, l'activité anti inflammatoire des iridoids et triterpenoids composés isolés de l'olivier. Ed : Masson. Paris. P : 226-228.
- **DJERROU Z. (2011).** Etude des effets pharmaco-toxicologique de plante médicinales d'Algérie : l'activité cicatrisante et innocuité de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L. Thèse de Doctorat en sciences. Université Mentouri, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Constantine, 156 p.

- **DOB T., DAHMANE D., CHELGHOU M. C. (2006).** Chemical Composition of the Essential Oils of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*. **17**, 642-644
- **DOGAN Y., BASLAR S., AYDIN A. and MERT A.H. (2003).** A Study Of The Soil-Plant Interactions Of *Pistacia Lentiscus* L. Distributed In The Western Anatolian Part Of Turkey. *Acta Bot. Croat.* **62(2)**, 73–88.
- **EBERHARD. T., ROBERT. A., ANNE LISE L. (2005).** Plantes aromatiques (épices, aromates, condiments et huiles essentielles). Edition Tec et Toc. PP : 355-356.
- **FERRADJI A. (2011).** Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcoolique et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*, Mémoire Présenté Pour l’obtention du Diplôme de Magister en biochimie Sétif. *Food chem.* 457- 462. for antibacterial activity. *J Ethnopharm.* **70**, 343-349.
- **GARCIA J., CASTILO J., LORENTE A. 2003.** Hypoglycemic and antioxydant effect of oleuropein in alloxan- diabetic rabbits In vitro antimicrobial activity of olive. *J.Ethnofarmacol.* **84** , 299-305.
- **GARDELI. C., VASSILIKI. P., ATHANASIOS. M., KIBOURIS. M., KOMAITIS. M. (2008).** Essential Oil Composition of *Pistacia Lentiscus* L. And *Myrtus Communis* L. Évaluation of Antioxidant Capacity of Methanolic Extracts. *Food chemistry.* **107 (3)**. 1120-1130.
- **GROSJEAN N. (2007).** L'Aromathérapie, édition Eyrolles. Pp : 163.
- **GULLUCE M., PATTNAIK L., SACCHETTI O. (2007)** Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *Longifolia*. in *Food Chemistry* . **103(4)**, 1449-1456.
- **HADDOUCHI. F., CHAUCHE T. M., KSOURI. R., et al. (2014)** Phytochemical screening and *in vitro* antioxidant activities of aqueous-extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre* and *Phagnalon saxatile* subsp. *saxatile*. *Chin J Nat Med* **12(6)**, 415–22.
- **HALLIWELL B. (1994).** Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition reviews.* **52(8)**, 253-265.

- **HARBORNE J. B., WILLIAMS C. A. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. **55**, 481-504.
- **HATANO T., KUSUDA M., INADA K., OGAWA T.O., SHIOTA S., TSUCHIYA T., YOSHIDA T. (2005).** Effects of tannins and related polyphenols on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*. **66**, 2047–2055.
- **HAYES. J.E., STEPANYAN. V., ALLEN. P., OGRADY. M.N., OBRIEN. N.M., KERRY. J. P. (2009).** The effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on lipid oxidation and oxymyoglobin oxidation in bovine and porcine muscle model systems. *Meat Science*. **83 (2)**, 201-208.
- **HOPKINS. G. (2003).** Physiologie végétale. 1ère Ed. De boeck. Paris, Bruxelles. 53.56p.
- **HYLDGAARD M., MYGIND T., MEYER R. L. (2012).** Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy*. **3(12)**, 1-24.
- **IAUK L., RAGUSA S., RAPISARDA A., FRANCO S., NICOLOSI V M. (1996).** In vitro Antimicrobial Activity of Pistacia lentiscus L. Extracts: Preliminary Report, *Chemother*. **8(3)**, 207-9. *PubMed PMID: 8808717*
- **JANAKAT S., AL-MERIE H. (2002).** Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*. *Journal of Ethnopharmacology*. **83(1-2)**, 135-138.
- **JEAN-MARIE. P. (2009) :** Olivier pas a pas. Compagnie des Editions de la lesse. PP : 142
- **JUDD W. S., CAMPBELL C. S., KELLOGE. A., STEVENS P (2002).** Botanique systématique. Une perspective phylogénétique. Editions De Boeck Université. Paris.
- **KHAN A.M., QUERESHI R.A., ULLAH F., GILANI S.A., NOSHEEN A. (2011).** Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. *Journal of Medicinal Plants Research*. **5**, 6017-6023.
- **KHAYYAL M. T., EL-GHAZALY M. A., NASSAR M. M., OKPANYI S. N. (2002).** Blood pressure lowering effect of an olive leaf extract in L- NAME induced hypertension in rats. **52 (11)**, 797-80.

- **KORDALI S., CAKIR A., ZENGİN H et DURU M.E. (2003).** Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey. *Fitoterapia*. **74**, 164–167.
- **KOUTSOUDAKI C., KRSEK M., RODGER A. (2005).** Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus* Var. chia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **53(20)**, 7681-7685.
- **LAGUERRE, M., LOPEZ GIRALDO, L.J., PIOMBO, G., FIGUEROA-ESPINOZA, M.C., PINA, M., BENAÏSSA, M., COMBE, A., ROSSIGNOL CASTERA, A., LECOMTE, J., VILLENEUVE, P. (2009).** Characterization of Olive Leaf Phenolics by ESI-MS and Evaluation of their Antioxidant Capacities by the CAT Assay. *J Am Oil Chem Soc*. **86**, 1215-1225.
- **LAHSISSENE H., KAHOUADJI A., & HSEINI S. (2009).** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc Occidental). *Lejeunia, Revue de Botanique*.
- **LANNEAU D. (2010).** Rôle des protéines de choc thermique HSP90 et HSP70 dans la différenciation macrophagique. *Sciences agricole s. Université de Bourgogne*.
- **LAURENT B. (2012).** initiation à la botanique et découverte des petits secrets du monde vert Interactions végétales Conservation du jardin botanique de la ville Paris science végétale la guerre biologique est déclarée vu da8ns6l’officiel jardin motoculture - n°150 janvier/février le magazine référence de l’acmotoculture de jardin –espaces verts l’officiel jardin tualité jardin – espaces verts.
- **LEE O.H., LEE B.Y. (2010).** Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresource Technology*. **101(10)**, 3751-3754.
- **LEONTI M., CASU L., SANNA F., BONSEGNORE L. (2001).** A Comparison of Medicinal Plant Use in Sardinia and Sicily, *De Materia Medica*. **72**, 09 122.
- **LIN Y. T., VATTEM D., LABBE R. G., SHETTY K. (2005).** Enhancement of antioxidant activity and inhibition of *Helicobacter pylori* by phenolic phytochemicalenriched alcoholic beverages. *Process Biochemistry*. **40(6)**, 2059-2065.

- **LJUBUNCIC P., SONG H., COGAN U., AZAIZEH H., BOMZON A. (2005).** The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease. *J of Ethnopharmacology*. **100**, 198–204.
- **LONGO L., SCARDINO A., VASAPOLLO G. (2007).** Identification and Quantification of Anthocanins in The Berries of *Pistacia lentiscus* L. Elsevier, Italy.
- **LOUSSERT. R., BROUSSE. G. (1978).** L'olivier. Techniques agricoles et productions méditerranéennes. (Eds.) Maisonneuve et Larousse, Paris, France, 480 p.
- **LU S., DUGANATH N., RUBESH KUMAR S., KUMANAN R et JAYAVEERA K.N. (2008).** Evaluation Of Anti-Denaturation Property And Anti-Oxidant Activity Of Traditionally Used Medicinal Plants. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. **1(2)**, 1-7.
- **LUCIENNE A.D. (2007).** Les plantes médicinales d'Algérie. Edition Berti, Algérie. PP : 147-148.
- **MACHEIX J.J., FLEURIET A. ET SARNI-MANCHADO P. (2003).** Composés phénoliques dans la plante - Structure, biosynthèse, répartition et rôles. Dans Les polyphénols en agroalimentaire. Eds.; Lavoisier. Paris. pp 1-28.
- **MANTHEY J. A. (2000).** Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirculation*, 7(S1). medicinales utilisees dans la region de Zaër (Maroc Occidental). *Lejeunia, Revue de botanique*.
- **MESROUK A. (1984).** Caractérisation et genèse des sols de la région de Tizi-Ouzou, Grande Kabylie, Algerie. Thèse de doctorat, 173p.
- **MONTAFALCON. G. (1997).** Contribution à l'étude de la feuille d'olivier *Olea europea* L. Thèse Doct. Pharm. Aix en Provence.
- **MORE D; WHITE J. (2005).** Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde, Flammarion, 18-24. *Mycoses* 2003 ; **46 (3-4)** : 132- 136.
- **MOYSEH H., PARIS R.R. (2009).** Précis de matière médicale. Edition Masson. 231p.
- **OSSOU B., BELHAMEL K., DAHIA M. (2004)** .Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. in *Food Chemistry*. **14**, 112.

- **PELLI K., LYLly M. (2003).** Les antioxydants dans l'alimentation. *VTT Biotechnology Finlande.* (3), 9p.
- **PHILIPPE A., FRANCOIS I. (2003).** L'olive (de l'arbre à la table). Edition. Paris. PP : 11.
- **PONCE. A.G., FRITZ. R., DEL VALLE. C ET ROURA SI. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LW u.-Technol.* **36**, 679-684. 55
- **QUECK S. Y., OTTO M. (2008).** Staphylococcus epidermidis and other Coagulase-Negative Staphylococci, In: Staphylococcus Molecular Genetics, Caister Academic Press, Norfolk, UK.
- **QUEZEL P et MEDAIL F., 2003 :** Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen. Edition scientifique et médicales Elsevier SAS, Paris. PP : 37-38, 48, 69, 85, 115, 131, 136, 318, 320, 333.
- **RATHISRE P. R., MOHAN R ET MURUGESAN K. (2013).** In-vitro Anti-Inflammatory Activity of Methanolic Root Extract of *Erythrina Indica* Lam. *International Journal of Research in Chemistry and Environment.* **3(4)**, 48-51.
- **RAMEAU J-C., MANSION D., DUME G., GAUBERVILLE C., BARDAT J., BRUNO E., KELLER R. (2008).** Flore forestière française, Guide écologique illustré vol.3 région Méditerranéen.2426p.
- **RAYNOLD D. (1976).** Evolution sédimentaire et tectonique du Nord-Ouest de la grande Kabylie (Algerie) au cours du cycle Alpin. Thèse de doctorats d'état. Université Pierre et Marie Curie. Paris 6. 152p.
- **ROBERT A., RASTAL L., (2009).** Prébiotiques et probiotiques Science et technologie. *Springer Science & Business Media.* pp. 627.
- **ROMANI P., PINELLI C., GALARDI N., MULINACCI M and TATTINI L. (2002).** Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia Lentiscus* L. *Phytochem Anal.* **13(2)**, 79-86.
- **SANGEETHA. M., KOUSALYA. K., LAVANYA. R., CHERUKURU. S CHAMUNDEESWARI. D., MAHESWARA. R. 2011.** In-vitro Anti inflammatory and Anti-arthritis Activity of Leaves of CleodendronInerme. *RJPBCS.* **2 (1)**, 822-827.

- **SOMOVA L.I., SHODE F.O., RAMNANAN P., NADAR, A. (2003).** Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies africana leaves. **84(2-3)**, 299-305.
- **STITI N., HARTMANN M. A. (2012).** Nonsterol triterpenoids as major constituents of *Olea europaea* L. **45(2)**, 120-138.
- **SUDJANA. A. N., DORAZIO. C., RYAN. V., RASOOL. N., N. G. J., ISLAM. N., RILEY. T. V ET HAMMER. K. A. (2009).** Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *I. J. Antimicrob. Agents.* **33**, 461-463.
- **SPHICHIGER R., SAVOLAINEN V., FIGEAT M ET JEANMONAD D., 2004 :** Botanique systématique des plantes à fleurs. 3eme édition Press polytechniques et universitaires Romandes. PP : 413.
- **STARLIPER C. E., KETOLA H. G., NOYES A. D., SCHILL W. B., HENSON F. G., CHALUPNICKI M. A., DITTMAN D. E. (2015).** An investigation of the bactericidal activity of selected essential oils to *Aeromonas* spp. *Journal of Advanced Research.* **6(1)**, 89-97.
- **TAHIRI O. (2008).** Caractérisation de l'activité anti-bactérienne des extraits de *Pistacia lentiscus* et de *Fraxinus angustifolia*, Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de MAGISTER En Biologie Moléculaire. Université A. MIRA de Bejaia.
- **ULTEE A., KETS E.P.W., SMID E.J. (1999).** Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology.* **65 (10)**, 4606- 4610.
- **VALNET J. (2008).** Phytothérapie. Traitement des maladies par les plantes. Edition Maloine. 198p.
- **VAN HELLEMONT J. (1986).** Compendium de phutothérapie. Association pharmaceutique Belge. 190 p.
- **VAYA J et MAHMOOD S., (2006).** Flavonoid Content in leaf Extracts of The fig (*Ficus carica* L.), Carob (*Ceratonia siliqua* L.) and Pistachio (*Pistacia lentiscus* L.), Biofactors. **28(3-4)**, 169-75.

- **WALSH S. E., MAILLARD J. Y., RUSSELL A. D., CATRENICH C. E., CHARBONNEAU D. L., BARTOLO R. G. (2003)** Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and negative bacteria. *Journal of Applied Microbiology*. **94(2)**, 240-247.
- **WILLIAMS L., CONNARA O., LATORE L., DENNIS O., RINGER S., WHITTAKER J.A., CONARD J., VOGLER B., ROSNER H et KRAUS W. (2008)**. The in vitro Anti-denaturation Effects Induced by Natural Products and Non-steroidal Compounds in Heat Treated (Immunogenic) Bovine Serum Albumin is Proposed as a Screening Assay for the Detection of Anti-inflammatory Compounds, without the use of Animals, in the Early Stages of the Drug Discovery Process. *West Indian Med J*. **57 (4)**, 327- 331.
- **YILDIRIM A., MAVI A., KARA A. (2001)**. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **49(8)**, 4083-4089.
- **YUHONG L., QINGSHENG L., HUIQING K., CHEN, Z., XIONG L., QIUYAN L., MEILING L. (2006)**. Study on analyzing structure of flavonoids antioxidants from olive leaves. *Shipin Yu Fajiao Gongye*, **32(9)**, 28-31.
- **ZAIKA L. (1988)**. Spices and Herbs: Their Antimicrobial Activity and Its Determination. *Journal of Food Safety*. **9(2)**, 97-118.

ANNEXE

❖ Annexe 1

MILIEU DE CULTURE

- **Mueller-Hinton (MH)**

La gélose de Mueller-Hinton a été utilisée pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux extraits naturels. Elle est solide et constitue également un excellent milieu de base pour la préparation d'une gélose au sang. La composition est la suivante :

Infusion de viande de bœuf	300 ml.l ⁻¹
Peptone de caséine	17,5 g.l ⁻¹
Amidon de maïs	1,5g.l ⁻¹
Agar	17 g.l ⁻¹

Préparation

38g de poudre MHA + 1 ml d'eau distillé, laissé agiter en chauffant légèrement (50°- 70°C), mettre à l'autoclave à 120 °C pendant 20min.

- **BHIB (Brain-Heart Infusion Broth)**

Milieu nutritif tamponné utilisé pour la culture d'une très grande variété de microorganismes aérobie ou anaérobie incluant levures et moisissures, la composition est la suivante :

Protéose-peptone	10.0 g
Infusion de cervelle de veau	12.5 g
Infusion de cœur de veau	5.0 g
Glucose	2.0g
Chlorure de sodium	5.0 g
Hydrogénophosphate de sodium	2.5 g

pH=7.4

Préparation

18.5g de poudre de BHIB dans 500 ml d'eau distillé, laissé agiter et autoclavé à 120°C pendant 20 min.

- **BHI= (Brain Heart Infusion Agar)**

Milieu solide qui contient les perfusions hautement nutritives recommandées pour la culture d'organismes exigeants.

Préparation

18.5g (BHIB) + 7.5g (Agar), ajusté jusqu'à 500ml avec de l'eau distillé, laissé 20min à 120°C.

❖ **Annexe 2**

INFORMATIONS CONCERNANT LES SOUCHES DE REFERENCES

Numéro de référence	Origine	Gènes codant pour les entérotoxines staphylococciques par PCR conventionnelle
<i>S. aureus</i> FRI 361	Poulet, Collection FRI USA	<i>sec, sed, ser, seg, sei, sej</i>
<i>S. aureus</i> LGA 251	Collection USA	<i>mecC</i>
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	ATCC, Collection USA	-----
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49453	ATCC, Collection USA	-----

FRI: Food Research Institute

Se: Staphylococcal enterotoxin (gene codant pour les enterotoxines staphylococciques)

ATCC: American Type Culture Collection

