

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de biologie animale et végétale

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention d'un diplôme de Master en science biologique

Option : Diversité et adaptation de la flore méditerranéenne

**Extraction et dosage des polyphénols totaux du *Pistacia lentiscus L.*
et évaluation de leur activité antibactérienne vis-à-vis de
Staphylococcus aureus et de *Escherichia coli*.**

Présenté par : Cherfi Katia

Omani Sara

Présidente: M^{elle} Meguenni N.

Maitre assistante à l'UMMTO

Promoteur: M^r Medjkoun N.

Maitre assistant à l'UMMTO

Co-promotrice: M^{me} Smail-Saadoun N.

Professeur à l'UMMTO

Examineur : M^r Sebbane H.

Maitre assistant à l'UMMTO

Promotion 2015 /2016

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donnée la force et la patience.

Tout d'abord nous tenons surtout à adresser nos plus vifs remerciements à notre promoteur M_r. Medjkoun N, qui nous a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils précieux.

Nous remercions également notre Co-promotrice M_{me}. Smail-Saadoun N, de nous avoir offert l'opportunité d'effectuer une partie de ce travail au sein de son laboratoire, pour l'aide précieux, pour sa disponibilité et pour ses orientations judicieuses.

Nous remercions M_{elle} Meguenni N, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.

Nous remercions également M_r. Titouche Y, d'avoir accepté de juger ce modeste travail et participer au jury.

Nous remercions aussi les doctorantes Ghazi Amel et Ouzid Yassmine pour leur aide, pour leur compréhension, pour les conseils éclairés et les encouragements tout au long de ce travail.

Nous remercions finalement toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous.

Je dédie ce travail :

À mes très chers parents, à
ma famille, ainsi qu'à
toutes mes amies.

Omani sara

Je dédie ce travail :

À mes très chers parents, à
ma famille, ainsi qu'à
toutes mes amies.

Cherfi katia

Liste des figures

Figure 1: arbrisseau de <i>Pistacia lentiscus</i> (Photo originelle)	4
Figure 2: Feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> (Photo originelle)	5
Figure 3: fruits de <i>Pistacia lentiscus</i>	6
Figure 4: Aire de répartition de <i>Pistacia lentiscus</i> autour du bassin méditerranéen.....	7
Figure 5 : Biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués par la voie de shikimate.....	11
Figure 6: Structure générale des flavonoïdes	13
Figure 7: structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B).....	14
Figure 8 : localisation de la station d'étude (el azaïb).....	21
Figure 9 : séchage des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i>	23
Figure 10: procédés d'extraction des extraits de <i>Pistacia lentiscus</i>	24
Figure 11: courbe d'étalonnage de l'acide gallique	26
Figure 12 : histogramme de la teneur en polyphénols (mg EAG/g MS) des extraits méthanoliques et éthanoliques	27
Figure 13: structure de la paroi des bactéries Gram positif.....	34
Figure 14: structure de la paroi des bactéries Gram positif.....	34
Figure 15 : histogramme de comparaison des zones d'inhibition (mm) des deux extraits sur <i>S.aureus</i>	42

Liste des tableaux

Tableau I: Structure des squelettes des polyphénols	12
Tableau II : appareillages et produits utilisés	22
Tableau III : teneur en phénols totaux des extraits de <i>Pistacia lentiscus</i> des deux extraits (méthanolique et éthanolique)	27
Tableau IV : diamètre de la zone d'inhibition des différents antibiotiques testé sur les deux souches étudiées.....	40
Tableau V : moyenne des diamètres (mm) des zones d'inhibition des extraits éthanoliques des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i>	41
Tableau VI : moyenne des diamètres (mm) des zones d'inhibition des extraits méthanoliques des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i>	41

Sommaire

Remerciements

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 1

Chapitre I : *Pistacia lentiscus* L.

1. Classification	3
2. description botanique	4
3. Répartition géographique.....	6
4. Les exigences édapho-climatiques.....	7
4.1.Exigences climatiques	7
4.2.Exigences édaphiques.....	8
5. Usage traditionnelle de <i>Pistacia lentiscus</i>	8

Chapitre II : composés phénoliques

1. Généralités	10
2. Biosynthèse.....	11
3. Classe des polyphénols	11
3.1. Les flavonoïdes	13
3.2.Tannins.....	14
3.2.1. Tannins hydrolysables.....	14
3.2.2. Tannins condensés.....	15
3.2.3. Acides-phénols	15
3.2.4. Coumarines	15
3.2.5. Quinones	15
3.2.6. Stilbènes	16
3.2.7. Lignines.....	16
3.2.8. Lignanes.....	16
4. Polyphénols et résistance des plantes aux agents phytopathogènes	17
a. Composés pré-infectionnels	17
b. Composés post-infectionnels	17
5. Propriétés des polyphénols	17

5.1. Propriété antioxydant	17
5.2. Propriété anti-fongique et anti-bactérienne.....	17
5.3. Propriété de la couleur	18
6. Impact sur la santé	18
a- Protection cardio-vasculaire.....	18
b- Activité anti-cancérogène	18
c- Activité anti-inflammatoire.....	18
d- Activité oestrogénique	19

Matériel et méthodes

1. Matériel.....	20
1.1. Matériel végétal	20
1.2. Site d'échantillonnage	20
1.3. Matériel et équipements.....	22
2. Méthodes.....	22
2.1. Préparation des extraits.....	23
2.2. Préparation de la courbe étalon.....	25
2.3. Dosage des polyphénols	25

Résultats et discussion

1. Teneur en polyphénols totaux.....	26
--------------------------------------	----

Chapitre III : activité antibactérienne

1. Généralités.....	30
2. Relations hommes – bactéries	31
3. Les différents types de bactéries	31
a. Bactérie saprophyte	31
b. Bactérie commensale.....	31
c. Bactérie pathogène	31
4. Les bactéries symbiotiques fixatrices d'azote.....	32
5. Structure des bactéries.....	33
a. Bactéries à Gram positif	33
b. bactéries à Gram négatif.....	34
6. La résistance bactérienne	35
7. La nature de l'activité antibactérienne	35
8. Mode d'action contre les bactéries.....	36

9. Action des agents extérieurs sur les bactéries	36
a- Action de la température.....	36
b- Action de la lumière	36
c- Action de la sécheresse.....	36
d- Action des substances chimiques	36
10. Généralités sur les bactéries étudiées	37
a- <i>Escherichia coli</i> (<i>E.coli</i>).....	37
b- <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S.aureus</i>).....	37

Matériel et méthodes

1. Matériel	38
1.1. Matériel biologique	38
a- Les extraits.....	38
b- Bactéries pathogènes	38
1.2. Milieu de culture	38
1.3. Réactifs chimiques et autres matériels	38
2. Méthodes	38
a- Solubilisation des extraits à tester.....	38
b- Préparation des cultures	38
c- Préparation des milieux de culture	39
d- Evaluation de l'activité antimicrobienne	39
e- Etude de l'antibiogramme.....	39

Résultats et discussion

1. Activité antibactérienne	40
-----------------------------------	----

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Depuis l'antiquité, les produits naturels, notamment ceux d'origine végétale ont toujours été une source importante d'agents thérapeutiques. Ces dernières années, les recherches scientifiques s'intéressent aux composés des plantes destinés à l'utilisation dans le domaine phytopharmaceutique et biopesticide. Les molécules issues des plantes dites naturelles sont considérées comme une source très importante de médicaments; sachant que plus de 120 composés provenant de plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont appliqués selon leur usage traditionnel (Bérubé, 2006).

Environ 25-30% de tous les médicaments disponibles pour le traitement des maladies sont dérivés des produits naturels (plantes, animaux, bactéries et champignons) (Muanda, 2010). En effet, il existe environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 possèdent des propriétés médicinales (Quyoun, 2003).

L'extraction des principes actifs à haute valeur ajoutée à partir de la matière végétale, notamment le cas des polyphénols, qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêts par rapport à leur pouvoir antioxydant, est une étape très importante dans l'isolement ainsi que dans l'identification des composés secondaires (Mahmoudi et *al.*, 2013).

La résistance aux antibiotiques chez les micro-organismes pathogènes est devenue un problème de santé publique de plus en plus important dans le monde. Les composés antimicrobiens issus des plantes sont capables d'inhiber la croissance bactérienne, en agissant sur des cibles cellulaires différentes de celles visées par les antibiotiques actuellement utilisés tels que les pénicillines, macrolides ou tétracyclines. Ils pourraient également présenter une valeur clinique significative dans le traitement des infections aux souches microbiennes résistantes (Abedini, 2013).

Pour notre part, notre choix s'est porté sur le lentisque ou *Pistacia lentiscus* qui est une source très riche en polyphénols que l'on rencontre dans les feuilles. Elle est largement utilisée dans le bassin méditerranéen pour ses nombreuses vertus thérapeutiques. L'objectif de notre travail vise à montrer la richesse de cette plante en polyphénols et à déterminer leur activité antibactérienne.

Pour ce faire, notre travail est composé de deux parties. Dans la première partie nous avons commencé par des généralités sur *Pistacia lentiscus* L. d'une part et d'autre part une étude bibliographique sur les polyphénols en tant que classe de composés secondaires des plantes, puis nous avons décrit le matériel et les méthodes utilisés afin d'extraire et de doser les polyphénols totaux, à partir des feuilles de *Pistacia lentiscus* L., puis nous avons présenté les résultats et la discussion relatifs à cette expérimentation.

Dans la deuxième partie, nous avons donné quelques connaissances bibliographiques sur les bactéries, ensuite nous avons décrit le matériel et les méthodes utilisées afin de déterminer l'activité antimicrobienne des extraits obtenus vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et d'*Escherichia coli*, puis nous avons présenté les résultats et la discussion relatifs à cette expérimentation menée. Enfin, nous avons terminé par une conclusion, ainsi que des perspectives de recherche future.

1. Classification

Pistacia lentiscus est une espèce appartenant à la famille des Anacardiacees. En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, en l'occurrence *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica* (Quézel et Santa, 1962).

Parmi les espèces de *Pistacia*, *Pistacia lentiscus L.* est un arbrisseau très commun dans notre pays (Mitcheh, 1986, Baudière et al., 2002).

Le lentisque possède plusieurs noms : en berbère, cette plante est appelée selon les différentes régions amadgh, imdhek, imidh mais le plus utilisé est le nom de thidhekt (Ait Youssef., 2006). En arabe, il est nommé Edharw (Bellakhdar., 1997) ou même oum ennas (Ait youssef, 2006), en langue anglaise il est appelé Cyprus sumac, lentisk (Benoit, 2009).

Selon Guignard (2001) et Spichiger et al. (2004), *Pistacia lentiscus* se classe comme suit :

Règne : végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicotylédones

Sous-classe : Rosidées

Ordre : Sapindales

Famille : Anacardiacees

Genre : *Pistacia*

Espèce : *Pistacia lentiscus L.*

2. description botanique

Arbuste ou arbrisseau dioïque, vivace (Iserin, 2001) et aromatique à croissance lente (Tassin, 2012), peut atteindre de 1 à 3 mètres de hauteur (Rameau et *al.*, 2008), dégage une odeur résineuse très prononcée (Ait Youssef, 2006) dont l'écorce est d'un brun rougeâtre et devient avec l'âge rugueuse et écailleuse (Mathieu, 1860).

Cet arbuste peut atteindre de 4 à 6 m de haut sur 1 à 1m 80 de circonférence, sa souche est très volumineuse et émet de nombreuses et fortes racines longuement traçantes et repoussent vigoureusement, le bois qui est veiné, à l'aubier blanc ou blanc grisâtre, le cœur rougeâtre et même brun jaunâtre ou verdâtre, les vaisseaux du bord interne sont rares et à peine plus gros que les autres et la zone qu'ils forment se distingue difficilement (Mathieu, 1860).



Figure 1: arbrisseau de *Pistacia lentiscus*

(El azaïb, 2016)

Les feuilles de ce petit ligneux sont persistantes, paripennées (Boullard, 2001), composées, alternes, à pétioles étroitement ailés, à 4-10 folioles, petites disposées en deux rangées (Rameau et *al.*, 2008). Ces folioles sont glabres et ovales-elliptiques ou lancéolées (Ait Youssef, 2006), d'un vert foncé et luisantes dessus et plus pales et mates dessous prenant en hiver une teinte pourprés (Brosse, 2005) portant une nervure centrale profonde (Bremness, 2005). La feuille dégage une odeur de térébenthine lorsqu'on la froisse et a une saveur amère et camphrée (Ait Youssef, 2006).

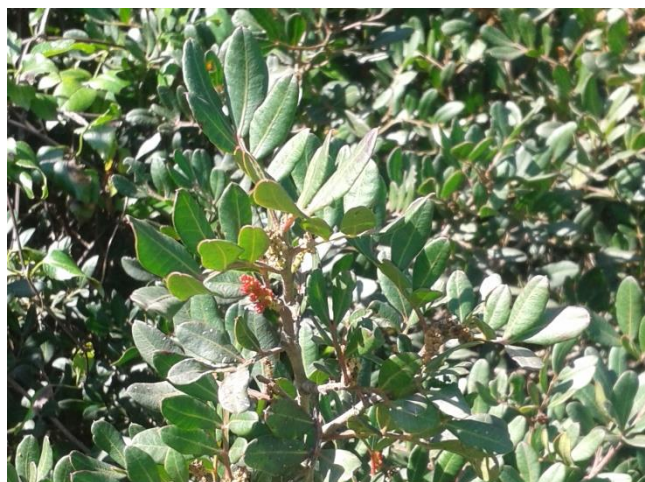


Figure 2: Feuilles de *Pistacia lentiscus*

(El azaïb, 2016)

L'inflorescence est en grappe spiciforme, rameuse et courte, leur longueur égale au plus la longueur d'une foliole, elles apparaissent seule ou par deux à l'aisselle d'une feuille (Ait Youssef, 2006). Elles sont denses pédicellées (Rameau et *al.*, 2008). La floraison se fait au printemps (avril-mai) (Brosse, 2005).

La fleur est unisexuée et sans pétale. Elle est verte ou rougeâtre, les fleurs mâles sont munies d'un calice à 5 lobes, 3-5 étamines courtes et de grandes anthères, les fleurs femelles munies d'un calice à 3-4 lobes, ovaire sphérique et style court (Bartels, 1998).

Les fruits sont petits et globuleux. Ils comportent un noyau (Ait Youssef, 2006). Ces drupes sont de forme ovoïdes, apiculés au sommet presque sèches (Rameau et *al.*, 2008) de 4 mm de diamètre (Hensel, 2008), peu charnues et incomestibles. Il fructifie en Octobre-novembre (Brosse, 2005), les fruits sont d'abord rouges, puis noires à maturité (Iserin, 2001).



Figure 3: fruits de *Pistacia lentiscus* (Bammou et *al.*, 2015)

3. Répartition géographique

Pistacia lentiscus L. est une espèce forestière, originaire du sud européen (Crété, 1965). Cet arbrisseau est courant en sites arides de la région méditerranéenne (de l'Asie, l'Europe, l'Afrique jusqu'aux Canaris) (Boullard, 2001). C'est un arbre de plaine ou de côtes, il est très abondant en Algérie (Mathieu, 1860).

Cette espèce est signalée comme très commune sur la frange littorale, où elle constitue une formation caractéristique avec l'oléastre. Elle est également présente dans les formations de *Quercus ilex L.* Par ailleurs, elle forme souvent des maquis. En Algérie elle est très commune dans tout le pays, surtout dans les forêts et les maquis (Ait Youssef, 2006).

En Algérie, il préfère les étages thermo et méso méditerranéen qui ne dépassent pas généralement 500 m d'altitude (Quézel et Médail, 2003, Quézel et Santa, 1963).

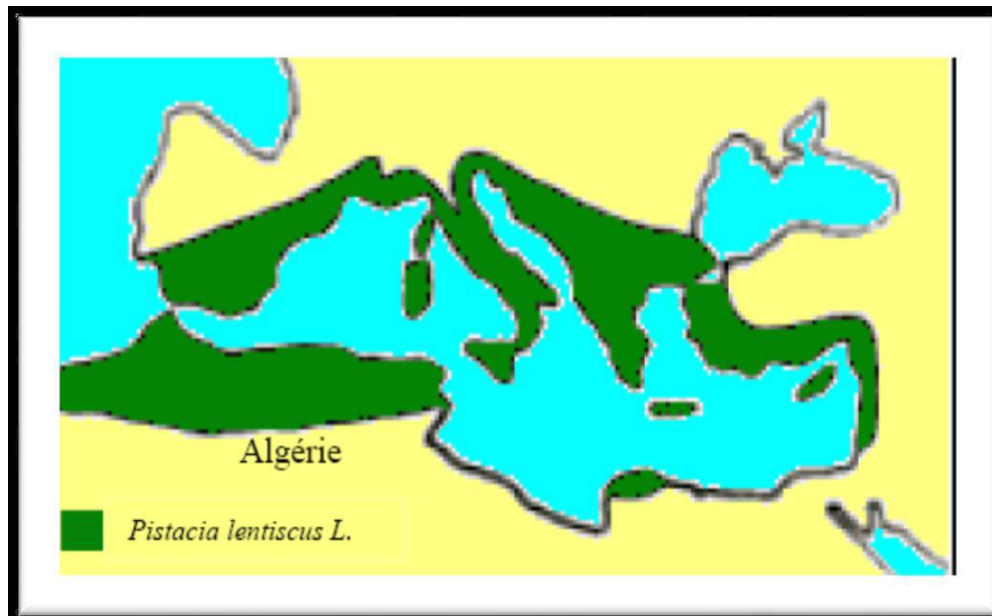


Figure 4 : Aire de répartition de *Pistacia lentiscus* autour du bassin méditerranéen (Seigue., 1985).

4. Les exigences édapho-climatiques

4.1. Exigences climatiques

Le pistachier lentisque est distribué d'une façon disjointe qui correspond aux régions à hiver pluvieux et été sec (Spichiger et *al.*, 2004). Il nécessite des emplacements chauds, lumineux et aérés (Poletti, 1987), ce qui lui donne non seulement un caractère thermophile, mais encore l'appartenance aux végétaux sclérophylles (Quézel et Médail, 2003).

Le lentisque est répandu dans les variantes chaudes et tempérées des bioclimats semi-arides, subhumides et même humides. Néanmoins, il peut résister à certains degrés de froid, les fleurs supportent le froid jusqu'à -14°C et les bourgeons jusqu'à -16°C (Quézel et Médail, 2003).

4.2. Exigences édaphiques

Le lentisque s'adapte à tout type de sol (Bartels, 1998). Il pousse essentiellement sur substrat calcaire (Quézel et Médail, 2003), bien qu'il préfère les sols siliceux (Ali-Delille, 2010).

5. Usage traditionnelle de *Pistacia lentiscus*

Le pistachier lentisque est très utilisé dans divers domaines :

La racine est employée sous forme de décocté, cette dernière est conseillée pour le traitement de l'asthme, elle est utilisée aussi en bain de bouche pour soigner les algies dentaires et les gingivites, comme cicatrisant et comme antirhumatismal (Ait Youssef, 2006)

Les feuilles sont diurétiques et emménagogues (Boullard, 2001) ; elles sont utilisées pour teindre en noir la laine des tapis et pour tanner les peaux (Rameau et *al.*, 2008). La poudre ou décoction de feuilles est utilisée pour guérir les troubles gastro-intestinaux (Boullard, 2001).

Les fruits non comestibles fournissent une huile claire pouvant servir à l'éclairage (Rameau et *al.*, 2008) et servant de liniment en cas de douleurs dorsales (Boullard, 2001). Ils sont consommés pour apaiser le pyrosis (Ait Youssef, 2006).

Le bois dur est utilisé en menuiserie ou en ébénisterie, bois blanc, jaune ou rosé, c'est un excellent bois de chauffage qui est aussi utilisé pour fabriquer les cure-dents (Rameau et *al.*, 2008), les cendres du bois sont employées comme savon (Ait Youssef, 2006).

La résine, connue sous le nom de « mastic » (Mathieu, 1860) est recueillie par incision du tronc et des branches (Bardeau, 2009). Elle est connue pour ses vertus calmantes et emménagogues, astringentes, carminatives, diurétiques, toniques (Boullard, 2001). La résine était utilisée comme « chewing-gum » pour rafraîchir l'haleine, fortifier les gencives et apporter un bien être digestif bien avant que l'on découvre ses propriétés bactéricides et bactériostatiques (Bardeau, 2009), aussi pour préparer les ciments employés en art dentaire, ainsi que certains vernis. En Orient, on le brûle comme encens (Brosse, 2005). En Egypte, on l'utilisée pour embaumer les morts (Iserin, 2001).

L'huile essentielle de l'oléorésine est aussi utilisée en parfumerie pour fabriquer les déodorants, en cosmétique et comme un agent de flaveur dans des préparations alimentaires (Delazar *et al.*, 2004 in Benhammou et Atik Bekkara, 2009).

1. Généralités

Les polyphénols ou composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement (Bruneton, 1993). A l'heure actuelle, plus de 8000 molécules ont été isolées et identifiées (Mompon et *al.*, 1998).

Tous les végétaux contiennent des composés phénoliques, mais comme c'est le cas pour la plupart des substances naturelles qualifiées de métabolites secondaires, leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, les organes, les tissus et les stades physiologiques. Ils correspondent à une très large gamme de structure chimique et sont un très bon témoin de l'extraordinaire capacité de biosynthèse des plantes, capacité qui permet à l'homme de les utiliser dans des domaines aussi variés que l'alimentaire ou la pharmacologie. (Sarni – Manchado, Cheynier, 2006).

Selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent en une dizaine de classes chimiques, qui présentent tous un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Hennebelle et *al.*, 2004).

La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (Macheix et *al.*, 2005)

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois), et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines, ou la maturation des fruits (Boizot et charpentier, 2006).

Ils sont divisés en plusieurs catégories : anthocyanes, coumarines, lignanes, flavonoides, tannins, quinones, acides phénols, xanthones, et autres phloroglucinols où les flavonoides représentent le groupe le plus commun et largement distribué (Bruneton, 1993).

2. Biosynthèse

L'origine biosynthétique des composés phénoliques des végétaux est proche, tous dérivant de l'acide shikimique. Cette voie shikimate (**Figure 5**). Conduit à la formation des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés : acide benzoïques, acétophénones, lignanes et lignines, coumarines (Bruneton, 1993).

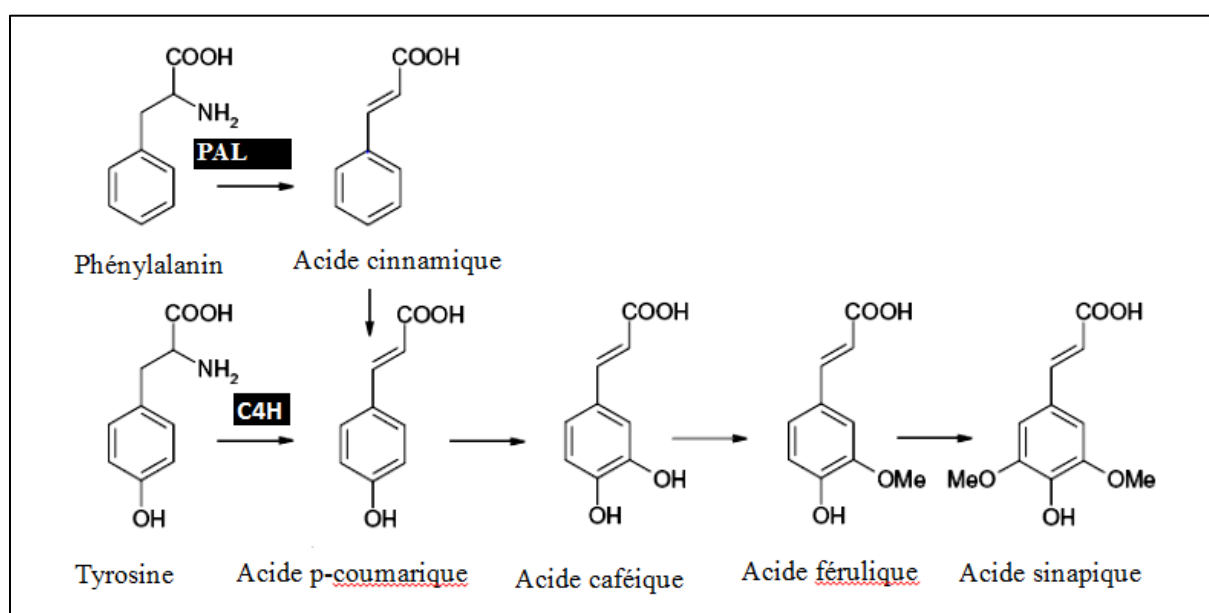



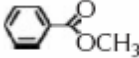
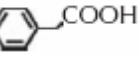
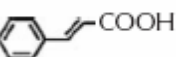
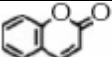
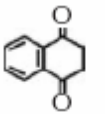
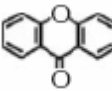
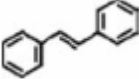
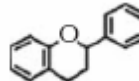
Figure 5 : biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués par la voie de shikimate (Crozier *et al.*, 2006).

PAL : phénylalanine ammonia-lyase ; **C4H** : cinnamate 4-hydroxylase.

3. Classe des polyphénols

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (**Tableau I**). Ces molécules sont généralement trouvés conjuguées aux sucres et les acides organiques

Tableau I: structure des squelettes des polyphénols (Crozier *et al.*, 2006).

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C ₆ -C ₁	Acides phénols	Acide gallique	
8	C ₆ -C ₂	Acétophénonnes	Gallacetophénone	
8	C ₆ -C ₂	Acide phénylacétique	Acide <i>p</i> -hydroxyphénylacétique	
9	C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinamiques	Acide <i>p</i> -coumarique	
9	C ₆ -C ₃	Coumarines	Esculitine	
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinones	Juglone	
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Mangiferine	
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resveratrol	
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Naringénine	

3.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux. Presque toujours hydrosolubles, ils sont responsable de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Les flavonoïdes sont également présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, assurant ainsi la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet.

L'ensemble des flavonoïdes, de structure générale C₁₅ (C₆-C₃-C₆), comprend à lui seul plusieurs milliers de molécules regroupées en plus de dix classes, dont certaines ont une grande importance biologique et technologique (Macheix et *al.*, 2005).

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres. Elles sont omniprésentes dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels le thé et le vin rouge et d'autres parties de la plante (Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006). Ce sont des pigments ubiquistes des végétaux. Ils existent le plus souvent sous forme d'hétérosides : les flavonosides, les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C₆ (A et B), reliés par une chaîne en C₃ (**Figure 6**) (Bruneton, 1999 ; Reynaud et Lussignol, 2005).

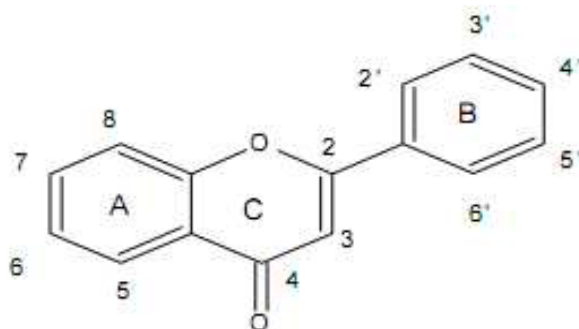


Figure 6: structure générale des flavonoïdes (Girotti-Chanu, 2006).

3.2. Tannins

Utilisés depuis l'Antiquité par l'homme pour le traitement des peaux d'animaux, les tannins ont une importance économique et écologique considérable et sont responsables de l'astringence de nombreux fruits et légumes et de leurs produits dérivés. (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Il est classique de distinguer deux grands groupes de tannins, différent à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition : les tannins hydrolysables et les tannins condensés.

3.2.1. Tannins hydrolysables

Ce sont des oligo- ou polyesters d'un sucre et d'un nombre variable de molécules d'acide-phénol. Le sucre est généralement représenté par le glucose. L'acide-phénol est soit l'acide gallique dans le cas des *tannins galliques*, soit l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tannins classiquement dénommés *tannins ellagiques* (**Figure7**) (Bruneton, 1993).

Ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique ou enzymatique.

Les tannins hydrolysables sont abondants dans le bois de nombreux arbres et arbustes (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

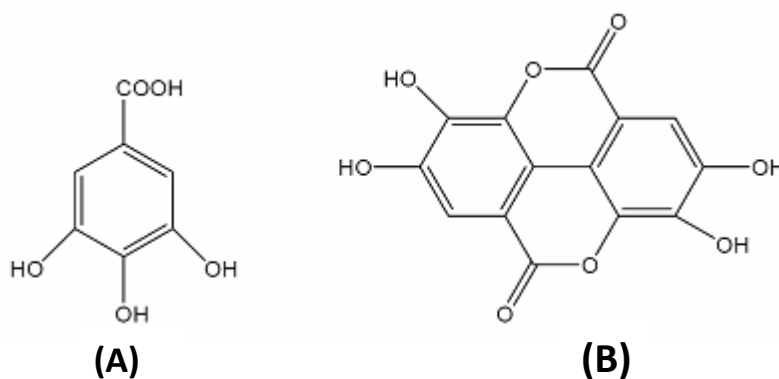


Figure 7: structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B) (Peronny, 2005).

3.2.2. Tannins condensés

Ils se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavoniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone (Bruneton, 1999).

Les tannins condensés sont très abondants dans certains organes végétaux consommés ou utilisés par l'homme, par exemple de nombreux fruits (pommes, prune, fraise...) ou des boissons fermentées ou non (thé, vin, cidre...) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

3.2.3. Acides-phénols

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique (Bruneton, 1993).

3.2.4. Coumarines

Ce sont des composés phénoliques cyclisés qui dérivent des acides *t*-cinnamique et *p*-coumarique pour la majorité d'entre eux (Boubekri, 2014).

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorata* Wild.) d'où elles furent isolées en 1982 (Bruneton, 1999).

Présentes dans de nombreux végétaux, les coumarines ont une structure de base (C6-C3). Elles sont produites en grande quantité en réponse à une attaque biotique ou abiotique et semblent constituer un moyen de défense de type phytoalexique. Ces composés sont connus pour leurs propriétés anti-coagulantes (Collin et Crouzet, 2011).

3.2.5. Quinones

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisées par un motif

1,4-dicéto cylohexa-2,5-diénique (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5- diénique (ortho-quinones) (Bruneton, 1993).

3.2.6. Stilbènes

Plus de 30 stilbènes et glycosides de stilbènes sont présents naturellement dans le règne végétal (collin et crouzet, 2011).

Les membres de cette famille possèdent la structure C₆-C₂-C₆ comme les flavonoïdes. Ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les micro-organismes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (Crozier *et al.*, 2006).

3.2.7. Lignines

Ce sont des précurseurs de polymères pariétaux des plantes constituant des facteurs de défense contre les agents pathogènes (collin et crouzet, 2011).

Les lignines constituent 15 à 35 % du bois des Angiospermes et des Gymnospermes, ce qui représente une biomasse considérable produite annuellement par les végétaux. En raison de leur caractère hydrophobe marqué. Les lignines s'accumulent au niveau des parois des cellules. Elles sont présentes au niveau des vaisseaux conduisant la sève brute et sont responsables de la rigidité des fibres végétales (Sarni–Manchado et Cheynier, 2006).

La lignine est un polymère fortement ramifié, formé par trois alcools phénoliques simples. Les alcools sont oxydés en radicaux libres par une enzyme ubiquiste chez les plantes; la peroxydase. Les radicaux libres réagissent ensuite spontanément et au hasard pour former la lignine (Hopkins, 2003).

3.2.8. Lignanes

Les lignanes répondent à une représentation structurale de type (C₆C₃)₂ ; l'unité C₆C₃ est considérée comme un propylbenzène. Les plantes les élaborent par dimérisation oxydante de deux unités d'alcool coniférique. Quand cette dimérisation implique une liaison oxydante par les C₈ des chaînes latérales de deux unités d'alcool coniférique liées, formant la liaison C₈ –C₈' , les métabolites résultants portent le nom de lignane. Le terme neolignane est employé pour définir tous les autres types de liaisons (Bruneton, 1999).

4. Polyphénols et résistance des plantes aux agents phytopathogènes

Selon qu'ils soient présents ou non avant l'infection et selon leurs réponses post-infectionnelles, deux classes de polyphénols sont distinguées : les composés pré-infectionnels et les composés post-infectionnels. Chacune renferme deux sous-classes :

a. Composés pré-infectionnels

- **Pro-inhibitines** : métabolites préexistants qui réduisent partiellement ou totalement le développement des micro-organismes *in vivo* ;
- **Inhibitines** : métabolites dont les teneurs augmentent après infection pour atteindre des doses toxiques.

b. Composés post-infectionnels

- **Post-inhibitines** : métabolites toxiques issus de l'hydrolyse ou de l'oxydation de substrats préexistants peu ou pas toxiques ;
- **Phytoalexines** : métabolites toxiques nouvellement synthétisés après infection par dérèglement de gènes ou activation d'un système enzymatique latent (Regnault-Roger, 2008).

5. Propriétés des polyphénols

5.1. Propriété antioxydant

Les polyphénols peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène pour produire des radicaux phénoxy stables.

Ils peuvent aussi réagir comme des antioxydants grâce à leur capacité à complexer les ions métalliques (collin et crouzet, 2011).

5.2. Propriété anti-fongique et anti-bactérienne

Les stilbénes sont connus depuis longtemps pour leur propriété anti-fongique. Le *trans*-resvératrol, par exemple inhibe la germination de solutions de conidies de *Botrytis cinerea* (collin et crouzet, 2011).

Rauha et *al.*, (2000) rapportent également une activité anti-bactérienne envers *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *pseudomonas aeruginosa* pour la quercétine et la maringéne.

5.3. Propriété de la couleur

Les polyphénols responsables de la couleur ont été beaucoup étudiés. En présence d'acétaldéhyde, la condensation entre les anthocynes, déjà colorée à la base, et les flavonols génèrent des adduits liés par leur position 6 ou 8, par l'intermédiaire d'un pont méthylméthine. Les pigments formés présentent des notes violettes ou bleutées.

Ils sont beaucoup plus résistants à l'hydratation ou à la décoloration (collin et crouzet, 2011).

6. Impact sur la santé

Bien que l'éthanol soit un des principaux responsables de cancers, la consommation modérée de vin rouge est connue pour avoir certains effets bénéfiques sur la santé.

Les polyphénols contribuent très probablement à cet effet protecteur (collin et crouzet, 2011).

a- Protection cardio-vasculaire

Les flavonols et les flavonoïdes sont à l'origine d'un effet cardio-protecteur via leurs effets anti-oxydants (protection contre l'oxydation des LDLs), l'inhibition de l'activité plaquettaire et leurs propriétés vasodilatrices (collin et crouzet, 2011).

b- Activité anti-cancérogène

Le *trans*-resvérôl inhibe l'initiation et la croissance des tumeurs, il inhibe la cyclo-oxygénase.

Les flavonoïdes pourraient réduire le risque de cancer, bien que certaines activités procarcinogènes aient également été signalées (collin et crouzet, 2011).

c- Activité anti-inflammatoire

Les flavonodes altèrent la synthèse des éicosanoïdes (médiateurs de l'inflammation).

Ils diminuent le rapport leucotriène/protacycline en modifiant l'activité lipoxigénasique (collin et crouzet, 2011).

d- Activité oestrogénique

Les prémylflavonones ont surtout été étudiés pour leur activité oestrogénique. Les auteurs recommandent son application dans la prévention ou le traitement des symptômes de la ménopause et de l'ostéoporose.

Une activité oestrogénique a récemment été signalée pour certaines stilbénes, tel que l'isomère *trans* de resvératrol (collin et crouzet, 2011).

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal que nous avons utilisé est constitué des parties aériennes (feuilles) de *Pistacia lentiscus*. Les feuilles du lentisque ont été cueillies en mois d'avril 2016 au niveau de la station d'El azaïb (Tigzirt) sur cinq pieds différents (arbres adultes).

1.2. Site d'échantillonnage

- Village : El azaïb
- Commune de Tigzirt
- Wilaya Tizi-Ouzou
- Longitude : 4.082435
- Latitude : 36.863335

Notre site d'échantillonnage se situe à 36.86 d'altitude et à 2.32 km de la commune de Tigzirt, cette station est située au nord de la wilaya de Tizi-ouzou et distante de celle-ci de 40km et à l'est de la capitale de Alger à 125km (**Figure8**)

La présence de la mer méditerranée et de la végétation contribue à l'adoucissement des températures moyennes qui sont de l'ordre de 21,11°C.

Les pluies s'étalent du mois d'octobre jusqu'au mois d'avril, avec un maximum de précipitations au mois de décembre, les précipitations annuelles peuvent atteindre les 952mm et l'humidité annuelle est de 69.66.

La présence de la mer méditerranée et de la végétation contribue à l'adoucissement des températures moyennes qui sont de l'ordre de 21,11°C.

Les pluies s'étalent du mois d'octobre jusqu'au mois d'avril, avec un maximum de précipitations au mois de décembre, les précipitations annuelles peuvent atteindre les 952mm et l'humidité annuelle est de 69.66.

Cette région présente un tapis végétal riche de plusieurs espèces, elle présente aussi une superficie dense, sous-bois et maquis, qui comporte de différentes variétés de chênes, de frênes et de lentisques ainsi que de cèdres, qui alternent avec une arboriculture de montagne (oliviers, figuiers...)

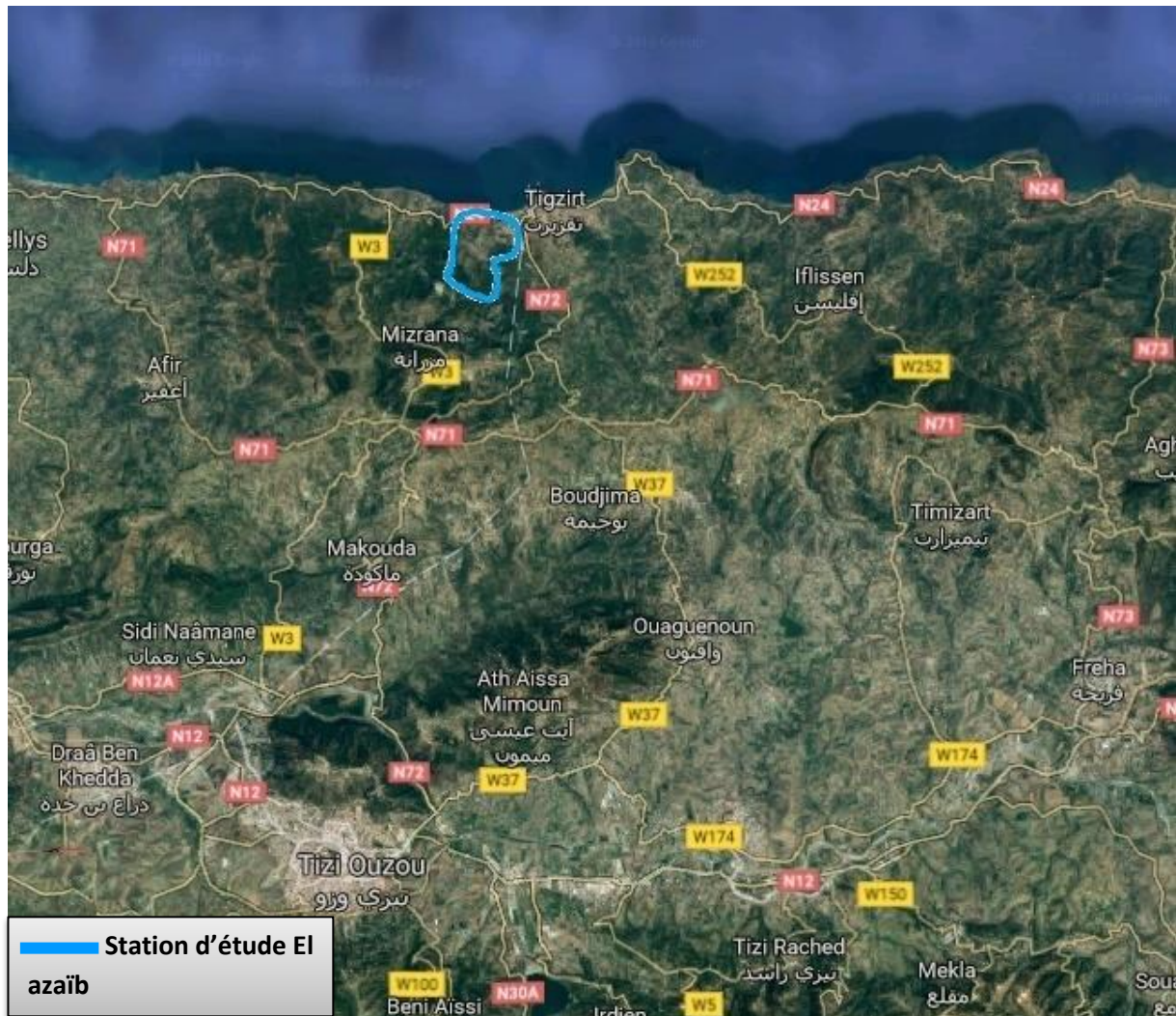


Figure 8 : localisation de la station d'étude (el azaïb)
(source : www.google.fr/maps).

1.3. Matériel et équipements

La liste des appareils et produits utilisés sont donnés dans le **Tableau (II)**

Tableau II : appareillages et produits utilisés

Appareillage et réactifs	Utilisation
Broyeur	Broyer les feuilles sèches du lentisque
Balance	Peser la poudre obtenue par les feuilles
Agitateur	Macérer le mélange (poudre + alcool)
Spectrophotomètre	Mesurer la densité optique des extraits
Ethanol	Extraction des polyphénols par solvant
Méthanol	
Carbonate de sodium (Na ₂ CO ₃)	Doser les polyphénols des extraits obtenus
Acide gallique	
Folin-Ciocalteu	

2. Méthodes

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* fraîchement récoltées sont séchées à l'abri de la lumière, dans un endroit sec et aéré (**Figure 9**). Une fois séchées elles sont broyées à l'aide d'un mixeur jusqu'à leur réduction en poudre. Elles sont ensuite récupérées dans des sachets (05 sachets). Nous avons prélevé de chaque sachet 150 g de poudre puis mélangés dans le même lot, enfin le tous a été partager en 03 boites

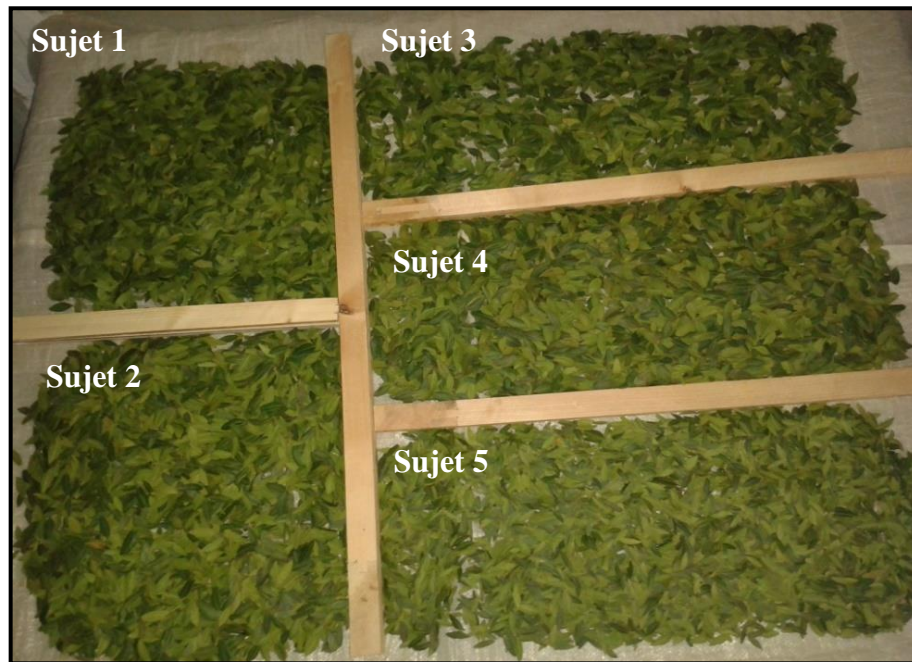
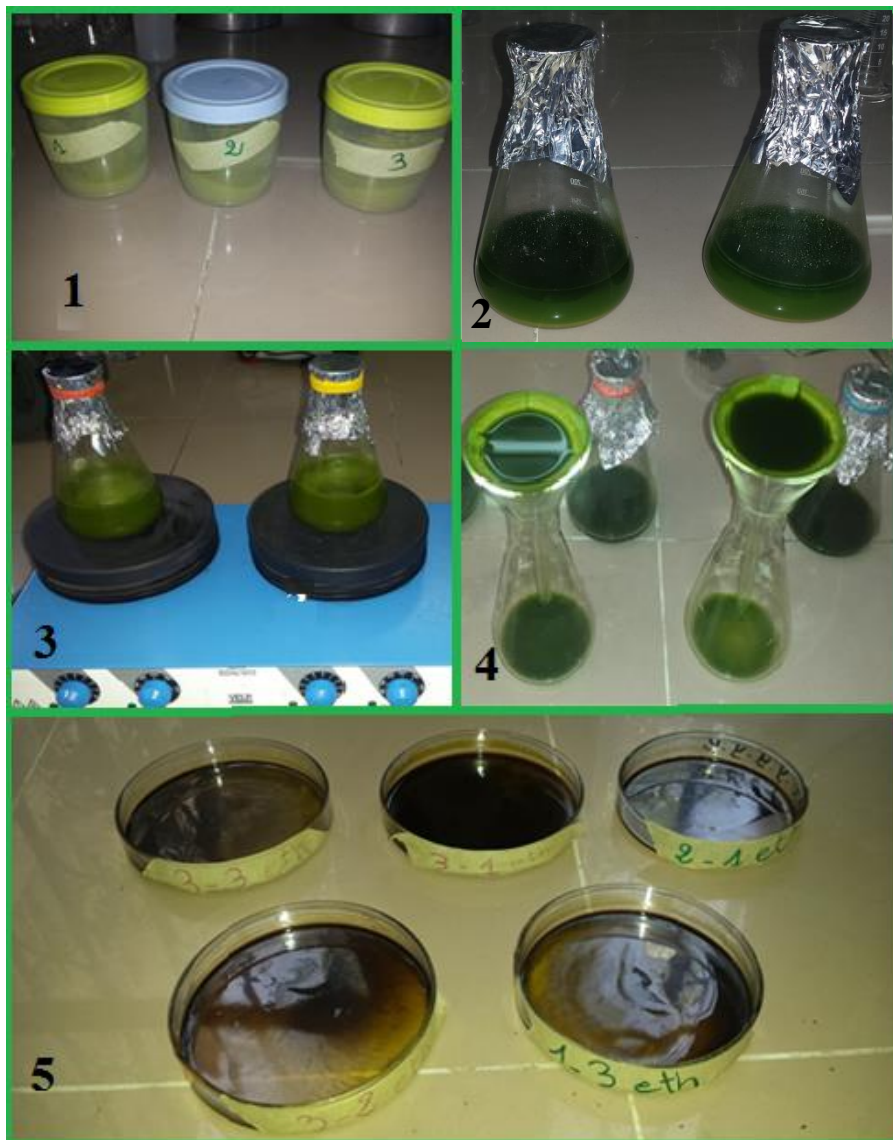


Figure 9 : séchage des feuilles de *Pistacia lentiscus*

2.1. Préparation des extraits

Nous avons procédé à l'extraction des polyphénols totaux (PPT) en utilisant la méthode de macération par solvants organiques (méthanol 70% et éthanol 70%). L'extrait total est obtenu en ajoutant 10g de poudre à 100 ml de méthanol. Le mélange obtenu est soumis ensuite à une agitation continue pendant 03 heures à température (T°) ambiante. La suspension a été ensuite filtrée sur papier wattman N°01, l'opération a été répétée 02 fois pour chaque boîte. Les filtrats obtenus sont alors évaporés à l'air libre dans des cristallisoirs à l'abri de la lumière (**Figure 10**). Les résidus obtenus sont conservés à 4°C.

Nous avons procédé à une deuxième extraction identique par l'utilisation de l'éthanol.



- 1 : poudre des feuilles de *Pistacia lentiscus* répartie dans trois boîtes.
- 2 : erlenmeyer contenant 10g de poudre végétale + 100ml de solvant.
- 3 : agitation continue pendant 3heures du mélange obtenu.
- 4 : filtration de la suspension obtenue à l'aide du papier wattman N° 01.
- 5 : évaporation des filtrats obtenus à l'aire libre.

Figure 10: procédés d'extraction des extraits de *Pistacia lentiscus*.

2.2. Préparation de la courbe étalon

Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir de solution d'acide gallique (0-120 µg/ml).

Nous avons introduit 2ml de la solution dans 2ml de l'eau distillée, dans des tubes à essai à l'aide d'une micropipette, puis nous avons ajouté 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu, 10 fois dilué dans l'eau distillée. Après incubation pendant 4 minutes, nous avons ajouté 800 µl de carbonate de sodium. Des dilutions sont préparées de façon à obtenir des concentrations de 1/2 à partir de la solution mère, ensuite les tubes à essai ont été recouverts de papier aluminium

Nous avons portés les tubes à incubation à température ambiante pendant 45 minutes, ensuite nous avons mesuré l'absorbance contre un blanc à essai (eau distillée), à 765 nm en utilisant un spectrophotomètre. La lecture de la densité optique nous a permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

2.3. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (FC) (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Nous avons prélevé 100µl de chaque extrait dans un tube à essai auquel nous avons ajouté 1ml de FC, 10 fois dilué dans l'eau distillée. Après 4 minutes nous avons additionné au mélange 800µl de Na₂CO₃ suivit d'une incubation de 45 minutes à T° ambiante et à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 760nm au spectrophotomètre de lumière UV contre un blanc sans extrait (eau distillée). La teneur en polyphénols est calculée à partir de l'équation de régression établie avec l'acide gallique (gamme d'étalonnage 0-120 µg/ml).

1. Teneur en polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait a été alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique (**Figure 11**), Les résultats correspondent à la quantité de polyphénols contenus dans l'extrait méthanolique et éthanolique obtenu après extraction. Ces résultats sont exprimés en milligramme équivalent en acide gallique (EAG) par gramme de matière sèche (MS).

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique a été tracée en prenant la concentration (mg/ml) en fonction de l'absorbance et le coefficient de corrélation $R^2 = 0,9989$

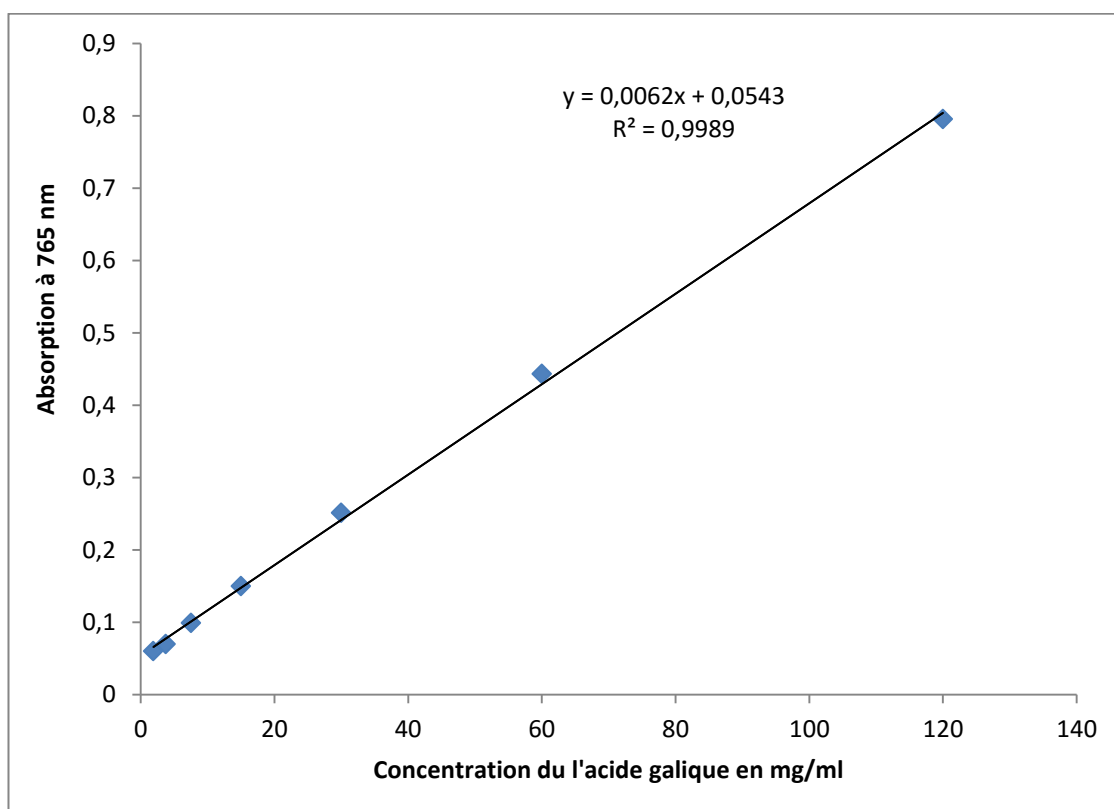


Figure 11: courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats de l'estimation de la teneur en polyphénols déterminées pour chaque extrait de la plante de chaque échantillon ainsi que les répétitions sont groupés dans le **tableau (III)**.

Tableau III : teneur en phénols totaux des extraits de *Pistacia lentiscus* des deux extraits (méthanolique et éthanolique)

Extraits éthanoliques		Extraits méthanoliques	
Essais	Teneur en PPT (mg EAG/g MS) \pm écart-type	Essais	Teneur en PPT (mg EAG/g MS) \pm écart-type
1-1	115,59 \pm 0,024	1-1	106,89 \pm 0,102
1-2	90,26 \pm 0,054	1-2	79,94 \pm 0,040
2-1	97,04 \pm 0,117	2-1	70,91 \pm 0,073
2-2	106,73 \pm 0,038	2-2	64,46 \pm 0,05
3-1	61,07 \pm 0,048	3-1	62,84 \pm 0,146
3-2	104,62 \pm 0,125	3-2	58,97 \pm 0,116

Les résultats du **tableau III** sont représentés dans l'histogramme suivant :

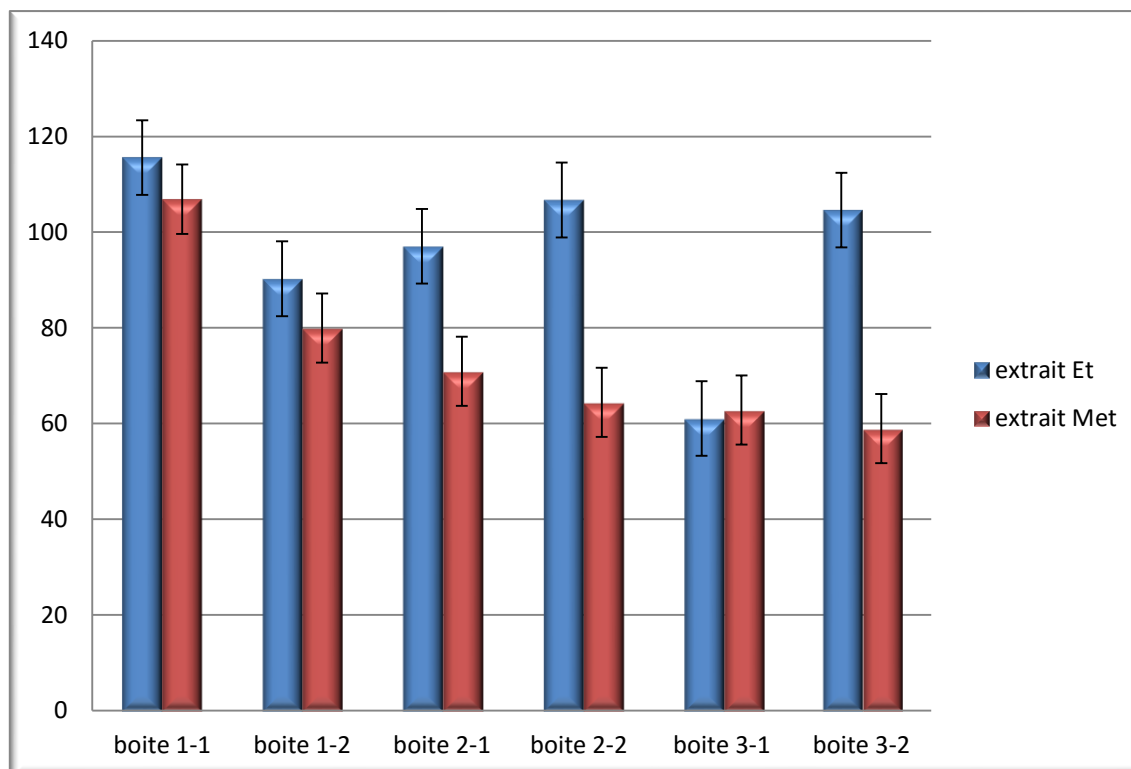


Figure 12 : histogramme de la teneur en polyphénols (mg EAG/g MS) des extraits méthanoliques et éthanoliques

D'après les résultats obtenus dans le **tableau (III)** et la **figure (12)**, on remarque que la quantité des composés phénoliques dans les extraits éthanoliques des feuilles de *P.lentiscus* est plus élevée par rapport à celle de l'extrait méthanolique, cette quantité varie respectivement de 61,07-115,59 mg EAG/g MS et de 33,01- 106,89 mg EAG/g MS. Cette variation est notée aussi par plusieurs auteurs.

En effet, d'après Mahmoudi et *al.* (2012), la teneur en PPT de la fleur d'artichaut par décoction en utilisant l'éthanol et le méthanol est respectivement de 38,70 mg EAG /g MS et du 28,54 mg EAG /g MS. La teneur des polyphénols des fleurs de la même espèce par macération, en utilisant les mêmes solvants est respectivement de 51,18 mg EAG /g MS et 39,73mgEAG /g MS.

D'un point de vue comparatif entre les répétitions des essais des feuilles de *P.lentiscus*, nous constatons qu'il existe une différence entre les sujets échantillonnés. Cette différence est importante. Elle est peut être due à la différence d'âge et/ou du sexe des pieds de lentisque, ou peut être à l'action anthropique.

Pour l'estimation de la teneur en polyphénols contenus dans les feuilles de *P.lentiscus*, la comparaison des résultats par STATISTICA a révélé une p-value de 0.004 qui est inférieure à $\alpha=0,05$. Ce qui implique qu'il y a une différence significative entre la teneur en polyphénols des différents sujets.

Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par Mammeri (2008), réalisés sur *P.atlantica* de différents sexes de deux régions différentes. Ces valeurs oscillent de $48,92 \pm 0,04$ mg EAG/g MS à $104,46 \pm 0,02$ mg EAG/g MS. D'après ces résultats, la quantité des PPT des extraits des feuilles des pieds mâles est supérieure à celle des pieds femelles.

D'autres travaux réalisés par Iratni (2016) ayant étudiée la teneur en PPT de *P.lentiscus* par extraction aqueuse, a obtenu une moyenne de $119,77 \pm 3,2$ mg EAG/g de MS. Atmani et *al.* (2009) ont confirmé que les feuilles de *P. lentiscus* sont plus riches en phénols totaux avec une valeur de 136.25 ± 18.9 mg /g.

En outre, Rached (2009) a trouvé que la teneur en PPT de l'extrait aqueux des feuilles de *P. atlantica* et *P. lentiscus* est respectivement de 391.93 mgEAG /g et 349.84mgEAG /g. Ces résultats sont largement plus élevés que ceux que nous avons obtenus.

Par ailleurs, des études réalisées par Djemai-zoughlache (2009), Zeghad (2009) et Benhammou (2011), sur différentes plantes dont les feuilles d'*Atriplex halimus*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* et les fruits de *Zizyphus lotus*, ont montré des valeurs respectives de : 10,127, 10,42 et 9,07 mg EAG/g de MS et 5 µg EAG/mg d'extrait. Ces résultats sont bien inférieurs à nos résultats cités précédemment.

Les résultats de ces études sont difficiles à comparer à cause des différences dans les méthodes d'extraction et de calcul (Modnicki et Balcerek, 2009). En outre, la température et le solvant d'extraction jouent un rôle dans le rendement en polyphénols obtenu (Sousa et al., 2008 ; Conde et al., 2009). Par conséquent, pour obtenir des fractions riches en polyphénols, il est préférable d'employer des mélanges de solvants organiques appropriés avec de l'eau (Mahmoudi et al., 2012).

La variabilité des teneurs en polyphénols chez ces espèces végétales serait due au milieu où évoluent les plantes (Cioroi et Dumitriu, 2009), leur origine (Ebrahimzadeh et al., 2008), la variété, la saison de culture, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante (Park et Cha, 2003), les conditions biotiques (espèce, organe et l'étape physiologique) et abiotiques (facteurs édaphiques et climatiques) (Ksouri et al., 2008 ; Benhammou, 2011), et la durée de conservation (Özgüven et Tansi, 1998), la nature du sol et le type du microclimat (Atmani et al., 2009).

Les maladies infectieuses constituent un sérieux problème de santé publique aussi bien dans les pays en développement, où elles sont la principale cause de taux de mortalité élevés, que dans les pays industrialisés où les résistances aux antibiotiques existants se développent de façon alarmante (Bouharb et *al.*, 2014)

Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, probablement dû à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité (Cowan, 1999). Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes (Scalbert, 1991).

1. Généralités

En tant qu'agents phytopathogènes, les bactéries exercent des contraintes considérables aux cultures avec un impact socio-économique majeur (Elphinstone, 2005). Elles sont capables d'infecter diverses parties de la plante comme les racines, la tige les feuilles ou les fruits et provoquent des symptômes variés sous forme de pourriture, chancre, taches, tumeurs ou flétrissement pouvant entraîner la mort de la plante. Comme dans les domaines médicaux et vétérinaires, la lutte contre les bactéries nuisibles est rendue difficile par leur grande diversité et leur capacité d'adaptation aux hôtes ou aux conditions environnementales.

La plante possède un système immunitaire inné qui lui permet de résister aux pathogènes. La première ligne de défense du système repose sur la reconnaissance de motifs moléculaires microbiens par des récepteurs membranaires qui élicitent en retour les défenses de la plante, conduisant à l'élimination des micro-organismes. Les motifs reconnus à cette étape sont partagés par un très grand nombre de microorganismes incluant pathogènes et non-pathogènes (Nesme et Bertolla, 2015).

Une bactérie est une cellule unicellulaire procaryote. Elle ne possède pas de membrane nucléaire, ni d'appareil mitotique et ne possède qu'un seul chromosome. Elle ne possède pas non plus de mitochondrie, ni de réticulum endoplasmique, ni d'appareil de golgi. Par contre, elle contient dans son cytoplasme de nombreux ribosomes, constitués de protéines

et de brins d'ADN. Une bactérie est douée de métabolisme, ensemble des modifications chimiques afin de subvenir à ses besoins énergétiques et à la formation et l'entretien de ses structures. Elle est capable de croître et de se multiplier en présence de substance nutritive (Pebret, 2003).

2. Relations hommes – bactéries

Nos lointains ancêtres, ont forgé les relations qui sont maintenant les leurs au cours de millions d'années d'évolution. En fait la coexistence avec les bactéries est plutôt harmonieuse.

Des milliards de bactéries nous habitent et nous entourent. Toutes nos activités impliquent des bactéries et malgré ces contacts incessants, la survenue d'infections bactériennes reste l'exception plutôt que la règle. Cette coexistence assez pacifique tient au fait que l'homme a développé des lignes de défense efficaces contre l'invasion bactérienne et que les niches écologiques de la plupart des espèces bactériennes n'incluent pas l'homme qui ne leur offre ni l'environnement, ni les nutriments dont elles ont besoin.

Cependant, l'homme n'est pas complètement à l'abri des infections, même lorsque ces défenses immunitaires sont intactes, car certaines espèces bactériennes ont acquis au cours de leur évolution les moyens de surmonter les défenses de l'hôte pour atteindre les tissus ou les organes les mieux adaptés à leur croissance. La survenue d'une infection signifie que la bactérie est parvenue à sa niche écologique où elle peut se multiplier. Cette notion de niche écologique reflète les besoins des bactéries (Elphinston, 2005).

3. Les différents types de bactéries

- a. **Bactérie saprophyte** : bactérie qui se développe dans la nature aux dépens des végétaux et des matières en voie de décomposition. Ses relations sont indépendantes de l'organisme, au contraire des bactéries commensales.
- b. **Bactérie commensale** : bactérie se développant aux dépens de l'organisme sans avantage pour l'un ou l'autre.
- c. **Bactérie pathogène** : bactérie qui provoque une infection par sa virulence et/ou toxino-génicité. Il y a des bactéries pathogènes spécifiques (en toute circonstance, elles sont responsables de maladies typiques) et des bactéries pathogènes opportunistes (Pebret, 2003).

4. Les bactéries symbiotiques fixatrices d'azote :

Les racines de certaines plantes hébergent des bactéries symbiotiques en plus des champignons mycorhiziens. Toutes les ligneuses (arbres, arbrisseaux ou arbustes) forment des nodosités plus grosses, ligneuses et pérennes, appelées *actinorhizes*. Les espèces des plantes actinorhizes sont distribuées des genres appartenant à plusieurs familles. Il existe des groupes des plantes qui forment des symbioses fixatrices d'azote avec une autre division des bactéries.

Toutes symbioses bactériennes, les nodosités à rhizobiacées des fabacées comme les actinorhiziens et les racines à cyanobactéries, fonctionnent de la même façon : grâce à la *nitrogénase*, une enzyme propre au domaine bactérien et qui n'existe pas chez la plantes, les champignons ou les animaux, la bactérie fixe l'azote moléculaire de l'aire et le transforme en ammonium assimilable par la plante ; en contrepartie, la plante alimente la bactérie en composés carbonés provenant de sa propre photosynthèse, de la même façon qu'elle alimente ses symbiotes fongique mycorhiziens. C'est pourquoi les plantes à nodosités bactériennes sont mieux armées, pour survivre et prospérer dans des sols où l'azote est rare, que leurs compétitrices pour lesquelles le seul moyen d'acquérir cet élément est d'absorber le peu de formes combinées (nitrate ou ammonium) présentes dans la solution du sol.

Mais la réaction biochimique par laquelle la nitrogénase transforme l'azote atmosphérique en ammonium nécessite beaucoup d'énergie, et l'énergie est transportée dans tout système vivant par des molécules spécialisées qui contiennent beaucoup de phosphore.

Une des fonctions principales des champignons micorhizien était justement de faciliter la nutrition phosphatée des plantes. Chez les plantes à symbiose bactérienne fixatrice d'azote, les deux types de symbiose sont donc complémentaires : le champignon optimise l'activité de la bactérie en exploitant plus efficacement le phosphore du sol, et en retour la bactérie procure de l'azote en quantité à la plante, qui assimile d'avantage de carbone atmosphérique puisque l'azote est un facteur limitant de la photosynthèse, et de fait procure davantage de composés carbonés essentiels à ses symbioses (**Garbaye, 2013**).

- Les bactéries libres

Un autre cas d'organisme rhizosphérique interagissant avec la symbiose mycorhizienne implique des bactéries libres, c'est-à-dire qui vivent à la surface ou à proximité immédiate des racines ou de leurs extensions fongiques, mais sans association plus intime avec le tissu de la plante. Parmi ces bactéries libres, certaines sont spécialisées et ne colonisent que la niche écologique rhizosphère, avec parfois des préférences pour telle ou telle espèce de plante ou telle ou telle espèce de champignon mycorhizien.

Certaines bactéries rhizosphérique ont un effet bénéfique sur la nutrition minérale et le développement des plantes. Cet effet bénéfique peut être direct, lorsque la bactérie stimule la croissance racinaire, ou indirecte, lorsqu'elle contrôle des organismes parasites des tissus racinaires (Garbaye, 2013).

5. Structure des bactéries

Les bactéries sont des cellules procaryotes, leur ADN n'étant pas localisé dans un noyau. Beaucoup contiennent des structures circulaires d'ADN extra-chromosomique appelées plasmides. Il n'y a pas d'autre organite dans le cytoplasme que les ribosomes, qui sont de plus petite taille que ceux des cellules eucaryotes. À l'exception des mycoplasmes, les bactéries sont entourées par une paroi complexe, différente selon que la bactérie soit à Gram positif ou négatif. De nombreuses bactéries possèdent des flagelles, des pili, ou une capsule à l'extérieur de la paroi (Hart et Shears, 1999).

La paroi bactérienne a un rôle protecteur. C'est la première barrière vis-à-vis de toutes les agressions qui l'entourent. Les bactéries sont réparties en deux groupes :

a. Bactéries à Gram positif

La paroi des bactéries à Gram positif est épaisse (environ 25nm), elle est formée de plusieurs couche de peptidoglycane : elle enveloppe la membrane plasmique de la bactérie (Reginald et *al.*, 2000).

Le peptidoglycane (**Figure 13**) est le constituant majeur de la paroi (90% des constituants).sa caractéristique essentielle est sa solidité. En effet, les liaisons croisées entre les chaînes glucidiques sont très nombreuses, ou s'enchevêtrent les acides teichoïques (A.T) qui correspondent à l'antigène de surface (antigène O).

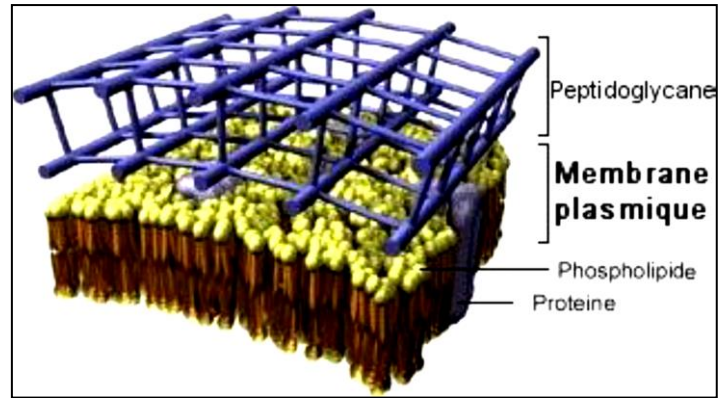


Figure 13: structure de la paroi des bactéries Gram positif

(Source internet, 2015)

b. bactéries à Gram négatif

Les parois des bactéries à Gram négatif (**Figure 14**) sont au contraire bien plus minces (2 à 3 nm), et ne contiennent qu'une unique couche de peptidoglycane entre la bicouche de la membrane plasmique et celle de la membrane externe (Reginald et *al.*, 2000). Cette membrane externe est constituée de lipopolysaccharides (LPS) il est constitué du lipides A et d'un polysaccharide immunogène. Elle possède des porines protéines solidaires du peptidoglycane permettant le passage de nutriments et d'antibiotique vers l'intérieur de la bactérie (Pebret, 2003).

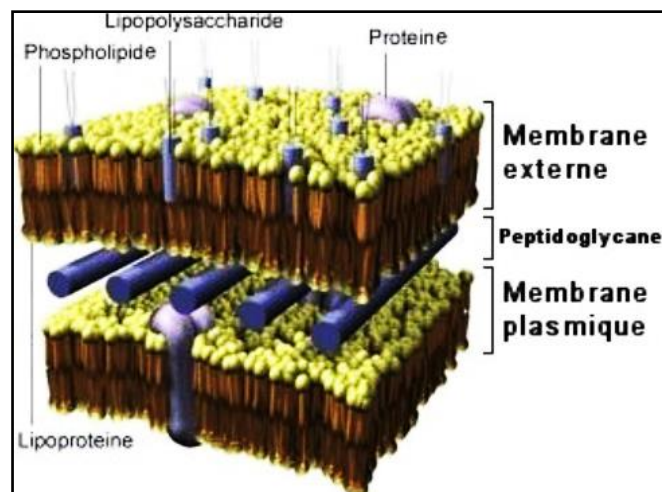


Figure 14: structure de la paroi des bactéries Gram positif

(Source internet, 2015)

En résumé la paroi a de nombreux rôles:

- Confère la forme des bactéries grâce au peptidoglycane plus ou moins présent.
- Protège la bactérie des chocs osmotiques (l'eau ne peut pénétrer de façon massive dans la bactérie. Cela évite qu'elle éclate facilement).
- Filtre car ne laisse pas passer les grosses molécules, mais laisse passer facilement les petites molécules nécessaires (nutriments).
- Les porines transportent certaines molécules à l'intérieur de la bactérie.
- Rôle immunogène car elle est recouverte d'antigène, et peut ainsi entraîner une réponse immunitaire d'un organisme avec synthèse d'anticorps.
- Les liposaccharides (LPS) sont des toxines immunogènes (Pebret, 2003).

6. La résistance bactérienne

Une bactérie est dite résistante lorsqu'elle réunit deux propriétés ; l'une possède une information génétique lui permettant d'élaborer des mécanismes d'échappement à l'action de l'antibiotique, et l'autre réalise effectivement ces mécanismes. Il existe deux types de résistances : une résistance naturelle (l'information fait partie du génétique de la bactérie) et une résistance acquise (l'information a été acquise par la bactérie alors qu'elle est habituellement sensible à l'antibiotique testé) (Pebret, 2003).

7. La nature de l'activité antibactérienne

Lorsque l'on parle d'activité antibactérienne, on distingue deux sortes d'effets, une activité létale (bactéricide), c'est la propriété de tuer les bactéries dans des conditions définies, et une inhibition de la croissance (bactériostatique), c'est l'inhibition momentanée de la multiplication d'une population. (Hammer, 1999)

L'activité biologique d'un extrait végétal est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leur effets synergiques (Dorman, 2000).

8. Mode d'action contre les bactéries

Les extraits possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches bactériennes, elles sont efficaces contre un large spectre de microorganisme pathogène et non pathogène mais d'une manière générale leur action se déroule en trois phases (Dorman, 2000) :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'extrait végétal, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

9. Action des agents extérieurs sur les bactéries

Les bactéries subissent l'influence du milieu où elles vivent et il est important de savoir comment le milieu agit sur elles afin de favoriser le développement des bons microbes, ce qui réalise des fermentations utiles, et d'empêcher, au contraire, celui des mauvais, les micro-organismes pathogènes.

a- Action de la température

Les bactéries ne subsistent et ne multiplient qu'entre certaines température, c'est entre 35° et de 40° C, que les micro-organismes parasites de l'homme se développent.

Le froid : la plus part des bactéries résistent aux basses températures, les spores notamment peuvent résister à des températures inférieures à -130°C.

La chaleur : les bactéries sont par contre très sensibles aux températures élevées, elles sont tuées aux environs de 60° C, mais les spores résiste à cette température et ne sont détruites qu'à l'ébullition.

b- Action de la lumière

Les bactéries sont très sensibles à la lumière solaire, qui agit par ces rayons ultra-violets.

c- Action de la sécheresse

La sécheresse prolonge la multiplication des micro-organismes, mais ne les tue que lentement. Les spores résistent encore bien d'avantage.

d- Action des substances chimiques

Certaines agents chimiques agissent sur les micro-organismes, les uns ne font qu'arrêter leur multiplication, les autres les tuent (Paniel, 1959)

10. Généralités sur les bactéries étudiées

a- *Escherichia coli* (*E.coli*)

Est un organisme pathogène alimentaire important (Lansing et *al.*, 2010), c'est un bacille à coloration de Gram négatif qui appartient à la famille des entérobactéries. Cette bactérie présente la caractéristique unique d'être à la fois un germe commensale de la flore intestinale présent chez tous les individus et le premier germe pathogène responsable d'infections communautaires.

E.coli est impliqué dans deux grands types d'infection : les infections intestinales et les infections extra-intestinales qui comprennent les infections urinaires et les infections néonatales (Denis, 2002)

b- *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*)

Staphylococcus aureus appartient à la famille des Micrococcaceae. C'est un coccus à Gram positif de 0,5 à 1 µm de diamètre, non sporulé, ubiquitaire présente dans tous les milieux naturels (air, poussière, sol, eau, égouts, vêtements) mais également chez les animaux et chez les hommes (Clave, 2013).

Ce sont des coques immobiles, isolés ou groupés en diplocoques ou, le plus souvent, en amas, diamètre moyen 0,8 à 1 µm. ce sont des cocci à Gram positif (Le Loir et Gantier, 2009).

La présence de *S. aureus* dans les aliments constitue un risque pour la santé humaine parce que certaines souches sont capables de produire des entérotoxines, dont l'ingestion provoque une intoxication. Les entérotoxines agissent au niveau des nerfs du tube digestif qui stimulent le centre des vomissements; douleurs abdominales; diarrhées; crampes (Green, 2012).

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

a- Bactéries pathogènes

Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antibactérienne des extraits de *Pistacia lentiscus* sont les suivants :

- *Staphylococcus aureus* ATCC 43300
- *Escherichia coli* ATCC 25922

Ces souches nous ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences Biologiques et Agronomique "Mouloud Mammeri"

b- Les extraits

Nous avons testé l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques (MET) et éthanoliques (ET) qu'on a préparés à partir des feuilles de notre plante.

1.2. Milieu de culture

- Gélose Mueller Hinton(MH) : milieu de l'activité antibactérienne.

1.3. Réactifs chimiques et autres matériels

- DMSO (Diméthylsulfoxyde)
- BHIB (Brain Heart Infusion Broth)
- Antibiotiques : Imipenem (I), Peniciline (P), Cefotaxine (CTX), Amoxiciline (AM), Kanamycin (K)
- Disques de papiers Wattman

2. Méthodes

a- Solubilisation des extraits à tester

Les extraits organiques de méthanol et éthanol sont solubilisés dans le DMSO (0.01g /10ml).

b- Préparation des cultures

2 ml de la solution bactérienne sont revivifiés dans 9 ml du BHIB suivit d'une incubation de 24h à 37°C.

c- Préparation des milieux de culture

La gélose de Mueller Hinton stérile préalablement fondue au bain marie à 50°C puis refroidie, a été coulée et répartie uniformément dans des boîtes de pétrie stériles. On les laisse solidifier pendant 20min à proximité du bec benzen.

d- Evaluation de l'activité antimicrobienne

Dans les boîtes de Mueller Hinton refroidies, nous avonsensemencé 6 boîtes par la souche bactérienne *Escherichia coli* ATCC 25922 et 6 autres boîtes par *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, de façon à recouvrir toute la surface gélosée. Après un temps de 20min nous avons disposé 04 disques stériles (considéré comme des répétitions), dans chaque boîte sur lesquels nous avons appliqué 5µl de l'extrait méthanolique. Nous avons ensuite porté les boîtes à incubation à une température 37°C pendant 24h.

La même procédure a été réalisée avec l'extrait éthanolique. L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition, déterminé par les différents extraits autour des disques.

e- Etude de l'antibiogramme

Ce test a été réalisé pour tester l'activité antibiotique sur les deux souches bactériennes utilisées (*E.coli*, *S.aureus*), les antibiotiques utilisés sont : Imipenem, Peniciline, Cefotaxine, Amoxiciline et Kanamycin, et les comparer avec l'effet de nos extraits bruts.

Nous avons déposé les disques d'antibiotiques à la surface d'un milieu gélosé préalablementensemencé avec une culture pure de la souche à étudier, nous avons ensuite porté les boîtes à incubation à une température 37°C pendant 24h.

La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole qu'avec les disques de papiers imprégnés d'extrait.

1. Activité antibactérienne

- Antibiogramme

Les moyennes des diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques utilisés sur les deux souches étudiées sont représentées dans le (**tableau IV**).

Tableau IV : diamètres de la zone d'inhibition des différents antibiotiques testés sur les deux souches étudiées.

ATB \ Souche	K	P	AM	CTX	I
<i>S.aureus</i>	9	0	13	0	0
<i>E.coli</i>	18	0	0	0	9

Les résultats présentés au **tableau (IV)** montrent que les souches de bactéries à gram positif et à gram négatif (*S.aureus* et *E.coli*) ont montré des sensibilités différentes aux antibiotiques standards testés : P, K, CTX, AM, I.

La bactérie *S.aureus* est sensible à Kanamycine et Amoxiciline avec des diamètres respectivement de 9mm et 13mm. Nous constatons que l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus a* presque la même activité antibactérienne sur la bactérie *S.aureus* en la comparant à l'antibiotique K et AM.

La bactérie *E.coli* est sensible à la Kanamycine et l'Imipenem avec des zones d'inhibition de 18mm et 9mm respectivement, alors que P, AM, CTX n'ont donné aucun effet sur cette souche.

- Activité des extraits

L'activité antibactérienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brut étudié. Le diamètre d'inhibition diffère d'un extrait à un autre.

Les zones d'inhibition des différentes souches testées avec l'extrait éthanolique sont présentées dans le **tableau (V)**.

Tableau V : moyenne des diamètres (mm) des zones d'inhibition des extraits éthanoliques des feuilles de *Pistacia lentiscus*.

Extraits	<i>S.aureus</i> ± écart-type	<i>E.coli</i>
Boite 1	8.37±1.49	-
Boite 2	8±0.57	-
Boite 3	7.12±0.65	-

Les zones d'inhibition des différentes souches testées avec l'extrait méthanolique sont présentées dans le **tableau (VI)**.

Tableau VI : moyenne des diamètres (mm) des zones d'inhibition des extraits méthanoliques des feuilles de *Pistacia lentiscus*

Extraits	<i>S.aureus</i> ± écart-type	<i>E.coli</i>
Boite 1	10.12±0.83	-
Boite 2	12±0.81	-
Boite 3	11±0.81	-

Les résultats donnés dans les **tableaux (V) et (VI)** sont regroupés sous forme d'histogramme (**Figure 15**).

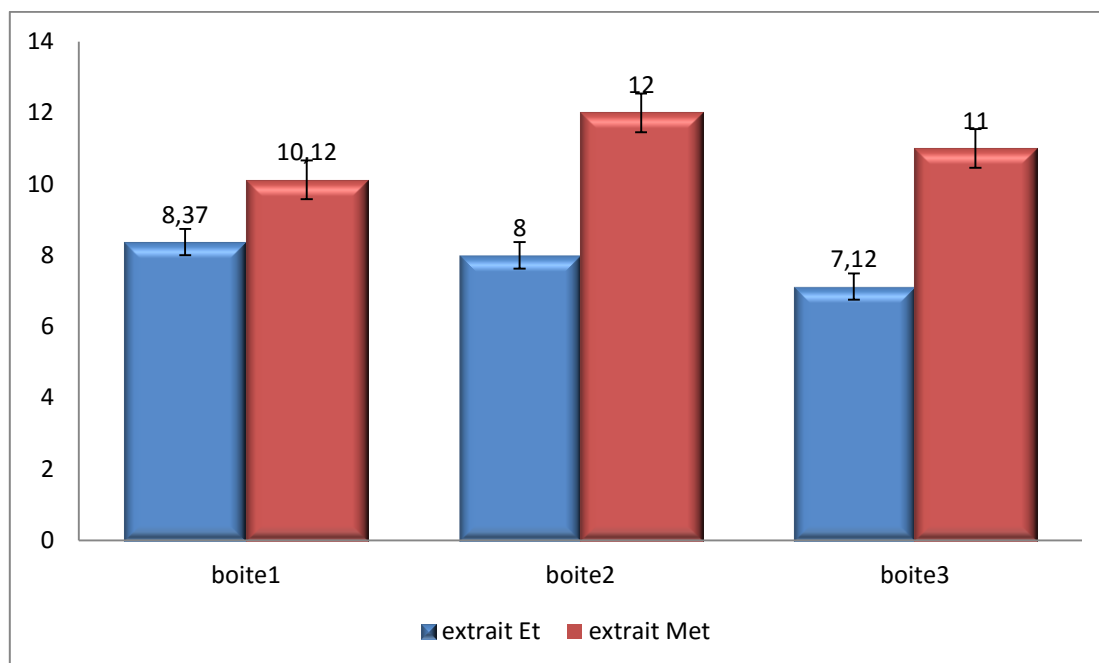


Figure 15 : histogramme de comparaison des zones d'inhibition (mm) des deux extraits sur *S.aureus*.

Les résultats présentés dans le **tableau (V) et (VI)** montrent que les extraits sont modérément actifs contre la souche de *S. aureus* et inactifs sur *E. coli*, nous constatons facilement que la bactérie *S. aureus* est la plus sensible par rapport à *E. coli* qui n'a présenté aucune sensibilité.

Selon la **figure (15)** nous constatons que parmi les extraits testés, l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* est celui qui a montré l'activité antibactérienne la plus élevée sur *S. aureus* avec un diamètre de 10.12 mm à 12 mm.

Il apparait que *S.aureus* est la bactérie la plus sensible par comparaison à *E. coli*, ceci peut être attribué à la différence de la structure de la paroi entre les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif (Djemai-zoughlache, 2009).

La paroi cellulaire des bactéries Gram positif est constituée par une seule couche composée de peptidoglycanes, à laquelle sont associés des polymères d'acides teichoïques alors que celle des Gram négatif a une paroi plus complexe. La couche de peptidoglycane est plus fine que celle des Gram positif, et elle est entourée par une membrane externe composée de lipopolysaccharides et de lipoprotéines. La partie lipopolysaccharidique de la paroi des Gram négatif comprend les molécules d'endotoxine (lipide A) qui contribuent au pouvoir pathogène bactérien (Prescott, 2003).

En revanche *S.aureus* est légèrement moins sensible à l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*. Malgré l'existence des zones d'inhibition relativement faible, nos résultats prouvent l'existence d'activité antibactérienne vis-à-vis *S.aureus* qui est un micro-organisme pathogène impliqué dans les intoxications alimentaires.

Selon les antibiotiques testés, on remarque que notre extrait méthanolique apparaît en deuxième position juste après l'amoxiciline.

La variation de l'activité antibactérienne des extraits explique la variation de leur composition chimique comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait a une activité antibactérienne si son diamètre d'inhibition est supérieur à 10 mm (Ponce et al., 2003).

D'après nos résultats nous pouvons supposer que le méthanol aurait pu extraire des substances (flavonoïdes, tannins, terpènes...) que l'éthanol n'aurait pas pu extraire.

Une étude menée par Bammou et al. (2015) sur l'activité antibactérienne de *P.lentiscus* indique que les extraits des feuilles n'ont aucun effet sur *E.coli*, par contre *S.aureus* laisse voir une certaine sensibilité. L'effet le plus important étant obtenu avec l'extrait méthanolique sur *S.aureus* (28mm).

Nous avons comparé nos résultats avec ceux de Benhammou et al. (2008), qui ont étudié le pouvoir antimicrobien de l'extrait éthanolique de *pistacia atlantica* sur *s.aureus* et *E.coli*, ils ont obtenus les résultats suivants 16,5 et 9,5 mm.

Nos résultats ne vont pas dans le même sens que ceux trouvés par Aouar et Benrokia (2015), qui ont montrés que l'extrait méthanolique de *P.lentiscus* présente

une grande activité antibactérienne sur *S.aureus* et *E.coli* avec des diamètres d'inhibition respectivement de 42mm et 33mm.

Les résultats de ces deux derniers sont beaucoup plus élevés par rapport à nos résultats, cela est dû probablement au fait que nos souches sont plus résistantes qu'aux leurs, ainsi qu'à l'origine géographique de la plante

Nous avons comparé nos résultats avec ceux de Benhammou et *al.* (2008), qui ont étudié le pouvoir antimicrobien de l'extrait éthanolique à différentes concentrations de *Pistacia lentiscus* sur plusieurs souches notamment *S.aureus*, les résultats obtenus à des concentrations de 5µl et de 10 µl sont respectivement de 11,5 mm et 21.5 mm.

D'après ces résultats, nous pouvons supposer que notre extrait éthanolique aurait une meilleure activité antibactérienne sur la souche *S.aureus* par rapport à l'amoxiciline si nous augmentons la concentration de notre extrait.

L'activité antibactérienne des extraits de plantes est due aux différents agents chimiques présents dans ces extraits, y compris les huiles essentielles, les flavonoïdes, les tannins et les triterpénoïdes (Egwaikhide et *al.*, 2010) ainsi que d'autres composés de nature phénolique ou groupes hydroxyle libres, qui sont classifiés comme composés antibiotiques très actifs (Rojas et *al.*1992 ; Marjori, 1999). La variation de la composition chimique explique donc les variations observées dans l'activité antibactérienne des extraits d'une même espèce de différents individus.

Conclusion

L'objectif de notre travail a porté sur l'extraction et le dosage des polyphénols totaux, par le réactif du Folin-ciocalteu à partir des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. puis à l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques et méthanoliques de cette plante.

La méthode de dosage des polyphénols totaux a été effectuée en utilisant le Folin-ciocalteu, ainsi que le carbonate de sodium. Ceci nous a permis de faire une estimation de la teneur en polyphénols contenue dans les feuilles de la plante étudiée. En effet, les teneurs en PPT des feuilles de *Pistacia lentiscus* se situent entre $61,07 \pm 0,048$ et $115,59 \pm 0,024$ pour l'extrait éthanolique et entre $58,97 \pm 0,116$ et $106,89 \pm 0,102$ pour l'extrait méthanolique.

Les extraits polaires (méthanolique et éthanolique) sont des extraits aux teneurs considérables en métabolites dosés. L'extrait éthanolique est l'extrait le plus riche.

Les résultats obtenus dans l'analyse quantitative des composés phénoliques, nous laissent constater que cette plante est une source prometteuse de polyphénols. La variation de la teneur en polyphénols totaux entre les différents individus est importante dans cette étude.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *P. lentiscus* vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (deux bactéries hautement pathogènes pour l'organisme humain), nous a permis d'affirmer que les extraits de polyphénols totaux des feuilles de *Pistacia lentiscus* ont un pouvoir inhibiteur sur *S.aureus* (Gram positif) alors qu'il n'a eu aucun effet inhibiteur sur *E.coli* (Gram négatif).

Les zones d'inhibition observées sur *S.aureus* induite par l'extrait éthanolique sont comprises entre 7.12 ± 0.65 et 8.37 ± 1.49 mm de diamètre, alors que pour l'extrait méthanolique les diamètres varient entre 10.12 ± 0.83 et 12 ± 0.81 mm.

Du point de vue comparatif, l'extrait méthanolique de feuilles de *P.lentiscus* présente l'activité la plus importante par rapport à l'extrait éthanolique.

Ces résultats importants nous encouragent à sélectionner cette plante comme une source prometteuse pour des études chimiques approfondies, afin de caractériser les molécules naturelles responsable à cette activité.

La diversité des activités des substances naturelles contenues dans les feuilles du lentisque font de celle-ci un élément essentiel dans la médication de l'homme. Toutefois il serait intéressant :

- d'élargir l'échantillonnage à différentes localités et augmenter le nombre d'individus afin d'avoir des résultats plus précis ;
- d'approfondir l'investigation photochimique et biologique sur cette plante afin d'isoler les molécules responsables des activités observées ;
- d'effectuer des tests antibactériens sur d'autres souches à des concentrations différentes d'extrait.
- de déterminer d'autres activités biologiques de la plante étudiée (l'activité antiinflammatoire, antioxydant, antifongique).

Référence bibliographique

Abedini A., 2013. Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit, (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. Thèse de Doctorat, Université de Lille Nord de France. 177 p.

Ait youssef M., 2006. Plantes médicinales de la Kabylie. Edition Ibis Press, Paris, 349 p.

Ali-dellile L., 2010. Les plantes médicinales d'Algérie. Ed : BERTI, Alger, 239 p.

Ali Boutlelis DJ., 2014. Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences de l'Université Badji Mokhtar – Annaba, 73 p.

Ali-Shtayeh M.S., Yaghmour R.M.R., Faidi Y.R., Salem K. et Al-Nuri M.A., 1998. Antimicrobial Activity of 20 Plants Used in Folkloric Medicine in the Palestinian Area. Journal of Ethnopharmacology : Vol. 60, No:3: 265- 271.

Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N. et Atmani D., 2009. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. Food Chem, 112: 303–309.

Bammou M., Daoudi A., Slimani I., Najem M., Bouiamrine E., Ibijbijen J. et Nassiri L., 2015. Valorisation du lentisque « *Pistacia lentiscus* L. » : Etude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir antibactérien. Journal of applied biosciences. 86 : 7966 – 7975.

Bardeau F., 2009. Les huiles essentielles, découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. Ed Lanore, 315 p.

Bartels A., 1998. Guide des plantes du bassin méditerranéen. Ed EUGEN ULMER. Paris, 400 p.

Baudière A., Monange Y. et Gauquelin Th., 2002. Le Monde des Plantes; Intermédiaire des Botanistes, Toulouse; N° 477 : 2 – 5.

Belaiche P., 1979. L'aromatogramme, Traite de phytothérapie et d'aromathérapie, M.S.A. Editeur, Paris, Tome 1, 204 p.

Belmont M., 2013. *Lavandula angustifolia*M., *Lavandula atifolia*M., *Lavandula x intermedia*E. : Etudes botaniques, chimiques et thérapeutiques. Thèse de doctorat, Faculté de pharmacie de l'université Joseph Fourier de Grenoble, France. 143 p.

Bérubé-Gagnon J., 2006. Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Piceamariana*. Mémoire de l'université de Québec, 38 p.

Benhammou N., 2011. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien, thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen, 109 p.

Benhammou N., AtikBekkara F. et KadifkovaPanovska T., 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2(2): 022-028.

Benhammou N. et AtikBekkara F., 2009. Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L. de deux stations de la région de Tlemcen (Algérie), 281-285.

Benoit, B., 2009. Tela botanica. Base de données nomenclaturale de France. Edition BDNNFF. 4 (02).

Bellakhdher J., 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis press, 766 p.

Bocquet M., 2008. La galle du pistachier lentisque. *Aploneura lentisci*, jardinage entomologique.

Boizot N. et Charpentier J-P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Cah. Tech. INRA. N°. special : 79-82.

Boubekri C., 2014. Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de Doctorat, Université Mohamed Khider en Biskra. Algérie, 160 p.

Boullard B., 2001. Plantes médicinales du monde: croyances et réalités. Ed: FSTEM, 636 p.

Bremness L., 2005. Plantes aromatiques et médicinales, 700 espèces. Ed Larousse, 304 p.

Brosse J., 2005. Larousse des arbres, dictionnaire des arbres et des arbustes. Ed Larousse, 576 p.

Bruneton J., 1999. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales, (3^{ème} éd). Tec et Doc Lavoisier, Paris, 1120 p.

Bruneton J., 1993. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, Tec et Doc, Ed : Lavoisier, Paris, 915 p.

Bouharb H., El Badaoui K., Zair T., El amri J., Chakir S. et Alaoui T., 2014. Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Biosciences* 78: 6685 – 6693.

Conde E., Cara C., Moure A., Ruiz E., Castro E. et Dominguez H., 2009. Antioxidant activity of the phenolic compounds released by hydrothermal treatments of olive tree pruning. *Food Chemistry*. Volume 114: 806 – 812.

Collin S et Crouzet J., 2011. Polyphénols et procédés. Edition Tec & Doc et Lavoisier, 337 p.

Clave D., 2013. Fiche technique: *Staphylococcus aureus*. Laboratoire de Bactériologie Hygiène, CHU de Toulouse - Institut Fédératif de Biologie, Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique. Fiche technique bactériologique 131 : 1 – 4.

Cioroi M. et Dumitriu D., 2009. Studies on total polyphenols content and antioxidant activity of aqueous extracts from selected Lamiaceae species. *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati, Romania. Fascicle VI – Food Technology*. Volume 34 (1): 42 – 46.

Crété ., 1965. Précis de botanique, systématique des Angiospermes. Tome II, édition Masson et Cie, 224 p.

Crozier A., Clifford M.N., Ashihara H., 2006. Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Edt Blackwell Publishing Ltd.

Cowan M.M., 1999. Plant Products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12 (4): 564-582.

Delazar A., Reid RG., Sarker SD., 2004. GC-MS analysis of the essential oil from the oleoresin of *Pistacia atlantica* var. *mutica*. *Chemistry of Natural Compounds* 40(1): 24-27.

Egwaikhide P.A., Bulus T. and Emua S. A., (2010). Antimicrobial activities and phytochemical screening of extracts of the fever tree, *eucalyptus globules*. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 9 (5): 940-945.

Festy D., 2012. 100 réflexes aromathérapies: Je me soigne avec les huiles essentielles. Éditions Leduc. 160 p.

Djemai-zoughlache S., 2009. Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L. mémoire de fin d'étude option biochimie appliquée. Université El-hadj lakhder-BATNA, 56 p.

Dorman H.J.D., 2000. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oil. *Journal of Applied Microbiology*. 88-308-316.

Benrokia H et Aouar Kh., 2015 Etude de l'activité Antibactérienne des extraits de *Pistacia lentiscus*. Mémoire de fin d'étude, Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre de l'Djilali Bounaama Khemis Miliana, 51 p.

Ebrahimzadeh M. A., Pourmmorad F. et Hafezi S., 2008. Antioxi-dantactivities of Iranian corn silk. Turkish journal of biology., **32** : 43-49.

Egwaikhide P.A., Bulus T. and Emua S. A., 2010. Antimicrobial activities and phytochemical screening of extracts of the fever tree, *eucalyptus globules*. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 9 (5): 940-945.

Fabrocini V. et C., 1999. Comment se soigner avec l'aromathérapie, édition DE VECCHI, 97 p.

Garbaye J., 2013. La symbiose mycorrhizienne : une association entre les plantes et les champignons. Ed Quae. 280 p.

Green K., 2012. Mise à jour sur le Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline. *Toronto Invasive Bacterial Diseases Network*. Volume 4 (3): 1 – 4.

Guignard J.L., 2001. Botanique systématique moléculaire. 12eme édition, Masson, 290 p.

Girotti –Chanu C., 2006. Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la cirsimarine ,flavone extraite de miirotea de bilis .thèse de Doctorat. Institut national des sciences appliquées de Lyon.136 p.

Hamaidi H., chikh A., idir N., 2010. Contribution à l'étude bibliographique de deux espèces végétales : le pistachier lentisque et le caroubier utilisées en phytothérapie.

Hammer K. A., 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of Applied Microbiology, 86-985-990.

Hensel W., 2008. 350 plantes médicinales. Ed Delachaux et Niestlé, Paris, 256 p.

Hennebelle T., Sahbaz S. et Bailleul F., 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie, 1 : 3-6.

Hopkins W.G., 2003. Physiologie végétale. Edition De Boeck Supérieur, 532 p.

Hart T. et Shears P., 1999.Atlas de poche de microbiologie, Médecine-Sciences Flammarion, Paris, 310 p.

Iratni G., 2016. Activités biologiques d'intérêt médical, d'extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* est d'*organum majorana*. Thèse de doctorat Université mouloud mammeri Tizi ou zou.

Isrin P., 2001. Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation, soin. Ed : Larousse/ VUEF, 336 p.

Jovet P., 2012. Reconnaître les principales familles botaniques, Les amis du jardin botanique littoral.

Ksouri R., Megdiche W., Falleh H., Trabelsi N., Boulaaba M., Smaoui A., Abdely C. 2008. Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *C. R. Biol*, 331: 865- 873.

Le Loir Y et Gautier M., 2010. Staphylococcus aureus. Édition Tec & Doc. Edition Médical internationales. 300 p.

Lisan B., 2014. Document scientifique, Atelier présentation des huiles essentielles.

Macheix J-J., Fleuriet A. et Jay-Allmend C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux. Collection biologie. Presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne, 192 p.

Mahmoudi S., Khali M. et Mahmoudi N., 2013. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Revue Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques. Volume 09 : 35 – 40.

Mahmoudi S., Khali M. et Mahmoudi N., 2013. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus*L.). Revue Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques. Volume 09 : 35 – 40.

Mann J., 1987. Secondary metabolism, Clarendon Press, Oxford, 374 p.

Mathieu A., 1860. Flore forestière, description et histoire des végétaux ligneux qui croissent spontanément en France et des essences importantes de l'Algerie. 2^{ème} édition : NANCY. 455 p.

Mammeri S., 2008. Etude de *pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien dosage des lipides, dosage des polyphénols, essai antileishmaniens. Mémoire de magister, Boumerdes Université M'Hamed Bougara, 109 p.

Menaceur F. et Hazzit M., 2014. Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of ethanolic extracts from Algerian *Lavandula stoechas* L. and

Rosmarinus tournefortii de Noé. International Journal of Agricultural Science and Research. 4: 139 – 146.

Mitcheh A., 1986. Tous les Arbres de nos Forêts, édition Bordas, 414 p.

Modnicki D. et Balcerek M., 2009. Estimation of total polyphenols contents in *Ocimum basilicum*L., *Origanum vulgare*L. and *Thymus vulgaris*L. Commercial samples. *Herba Polonica*. 55 (1) : 35 – 42.

Mompon B., Lemaire B., Mengal P. et Surbled M., 1998. Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. Ed. INRA, Paris, N°87 : 31-43 p.

Moro Buronzo A., 2008. Grand guide des huiles essentielles. Edition Hachette pratique, 256 p.

Muchuweti M., Kativu E., Mupure C. H., Chidewe C., Ndhkala A. R. et Benhura M. A. N. 2007. Phenolic composition and antioxidant properties of some species. American journal of food technology. 2 (5) : 414-420.

Özgüven M. et Tansi S., 1998. Drug yield and essential oil of *Thymus vulgaris* L as influenced by ecological and ontogenetical variation. The Turkish journal of agriculture and forestry. 22 : 537-542.

Paniel J., 1959. Sciences naturelles: Hygiène. Ed Hachette Paris, 315p.

Park H. J. et Cha H. C., 2003. Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Korean journal of biological society*.7 : 327-330.

Peronny S., 2005. La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta).Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle .Discipline Eco Ethologie .151p

Pebret F., 2003. Maladies infectieuses: toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales. Editions HEURES DE France, 592 p.

Ponce A. G., Fritz R., Del Valle C. et Roura S.I., 2003. Antimicrobial activity of oils on the native microflora of organic Swiss chard. Society of Food Science and Technology (Elsevier).36: 679-684.

Polleti A., 1987. Fleurs et plantes médicinales, édition De lachaux et Niestlé 192 p.

Prescott L., Harley J., Klein D., 2003.Microbiologie. Ed. De Boek université, 1137 p.

Quezel P. et Santa S., 1962. Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, Tome I, Centre Nationale de la Recherche Scientifique, 1170 p.

Quezel P. et Santa S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Edition Centre National de la Recherche Scientifique, France, 1170 p.

Quézel P. et Médail F., 2003. Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen. Collection Environnement. Elsevier, Paris, France, 573 p.

Quyrou A., 2003. Mise au point d'une base de données sur les plantes médicinales. Exemple d'utilisation pratique de cette base. Thèse de Doctorat Université Ibn Tofail Faculté des Sci. Kénitra, Maroc. 110 p.

Rabahi S, Hocine M, mémoire de fin d'étude ; effet antibactérien des flavonoïdes extrait du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus*) sur six souches bactérienne potentiellement pathogènes : *Escherichia coli*, K12, *Escherichia coli* ATCC, *Listeria innocua*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella paratyphi*.

Rached W., 2009. Evaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyses phytochimiques, magister en biochimie végétale appliquée, université d'Oran Es-Sénia, 120 p.

Rameau J.C., Mansion D., Dumé G. et Gauberville C., 2008. Flore forestière française, guide écologique illustré 3 régions méditerranéennes. Ed IDF, 2426 p.

Reginald H., Garrett Carles M et Grisham., 2000. Biochimie. Ed De Boeck Supérieur, 1292 p.

Regnault-Roger P.V., 2008. Biopesticides d'origine végétale (2^{ème} ed). Ed Lavoisier, 576 p.

Reynaud J. and Lussignol M., 2005. The flavonoïds of *Lotus Corniculatus*. *Lotus newsletter*, 35: 75-82.

Sarni-Manchado P. et Cheynier V., 2006. Les polyphénols en agroalimentaire. Edition Lavoisier, 408 p.

Seigue A., (1985). La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes. Ed : Maisonneuve and Larose Paris, 502 p.

Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30: 3875-3883.

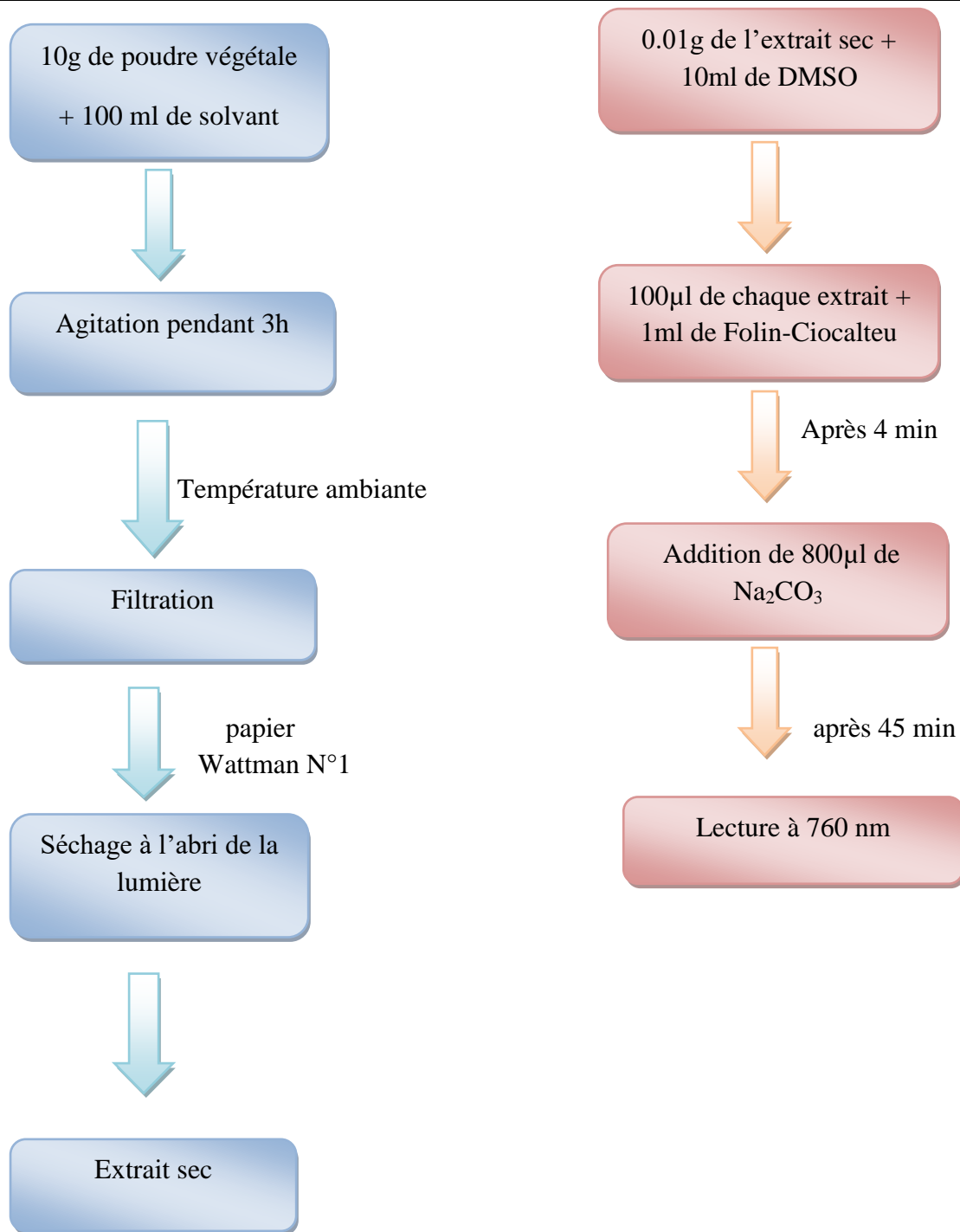
Sousa A., Ferreira I.C.F.R., Barros L., Bento A. et Pereira A., 2008. Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives «alcaparras». *Learning with Technologies*. Volume 41: 739-745.

Spichiger R., Savolainen V., Figeat M. et Jeanmonod D., 2004. Botanique systématique des plantes à fleur. Une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. Ed: Press polytechniques et Universitaires Romandes.

Tassin C., 2012. Paysage des végétaux du domaine méditerranéen. Ed IRD, Marseille, 421 p.

Tsimogiannins D.I. et Oreopoulou V., 2006. The contribution of flavonoid C-ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovat Food Sci Emerg Tech*, 7: 140-146.

Zeghad N., 2009. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Université Mentouri Constantine, Option : Biotechnologie végétale, 84 p.

**Procédure de l'extrait sec****Procédure de dosage des polyphénols**

Annexe 1 : Schéma illustratif du protocole d'extraction et de dosage des polyphénols totaux.

Annexe 2 : Tableau des résultats de l'absorbance (DO) des extraits méthanoliques.

extraits	répétitions	DO	Moyenne	Ecart type
1-1 Met	1	0,735	0,717	0,024
	2	0,727		
	3	0,689		
1-2 Met	1	0,480	0,496	0,040
	2	0,542		
	3	0,466		
2-1 Met	1	0,356	0,440	0,073
	2	0,472		
	3	0,493		
2-2 Met	1	0,442	0,40	0,05
	2	0,333		
	3	0,425		
3-1 Met	1	0,263	0,390	0,146
	2	0,357		
	3	0,550		
3-2 Met	1	0,442	0,366	0,116
	2	0,233		
	3	0,425		

Annexe 3 : Tableau des résultats de l'absorbance (DO) des extraits méthanoliques.

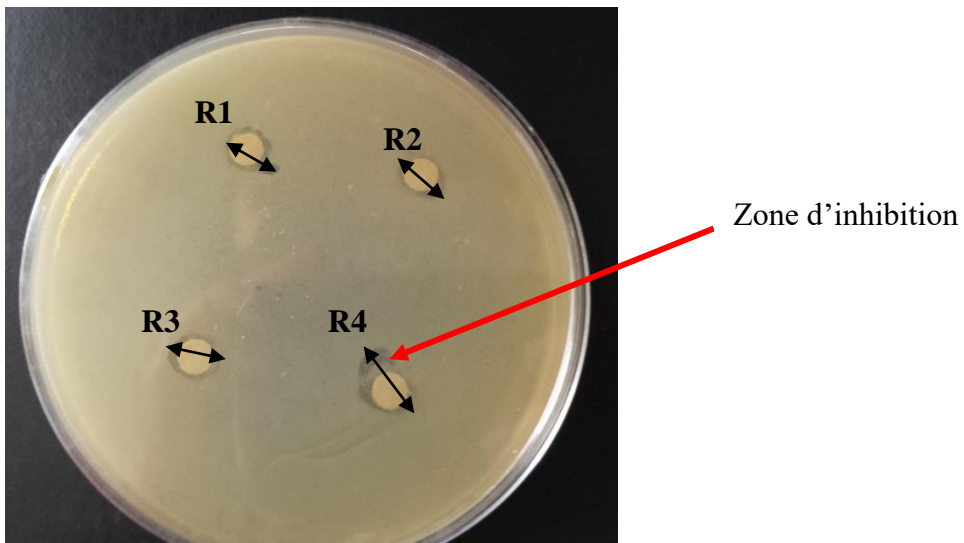
extraits	répétitions	DO	Moyenne	Ecart type
1-2 Et	1	0.850	0,732	0,102
	2	0.686		
	3	0.661		
2-1 Et	1	0.507	0,560	0,054
	2	0.615		
	3	0,558		
2-2 Et	1	0,738	0,602	0,117
	2	0,540		
	3	0,530		
3-1 Et	1	0,760	0,716	0,038
	2	0,690		
	3	0,698		
3-2 Et	1	0,346	0,379	0,048
	2	0,358		
	3	0,435		
1-2 Et	1	0,553	0,649	0,125
	2	0,792		
	3	0,604		

Annexe 3 : Diamètres des zones d'inhibition de *Staphylococcus aureus* de l'extrait éthanolique.

Boîtes	Répétitions	Diamètres (mm)	Moyenne (mm)	Ecart type (mm)
Boîte 1	1	8,25	8,37	1,49
	2	8,5		
Boîte 2	1	7,5	8	0,57
	2	8,5		
Boîte 3	1	8	7,12	0,65
	2	6,25		

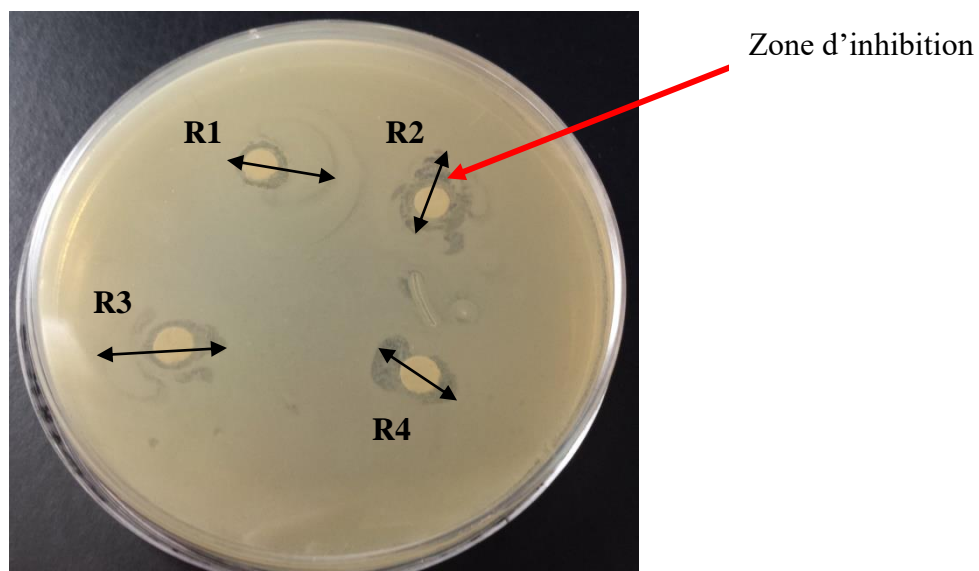
Annexe 4 : Diamètres des zones d'inhibition de *Staphylococcus aureus* de l'extrait méthanolique.

Boites	Répétitions	Diamètres (mm)	Moyenne (mm)	Ecart type (mm)
Boite 1	1	9,57	10,12	0,83
	2	10,5		
Boite 2	1	10	12	0,81
	2	14		
Boite 3	1	11	11	0,81
	2	11		



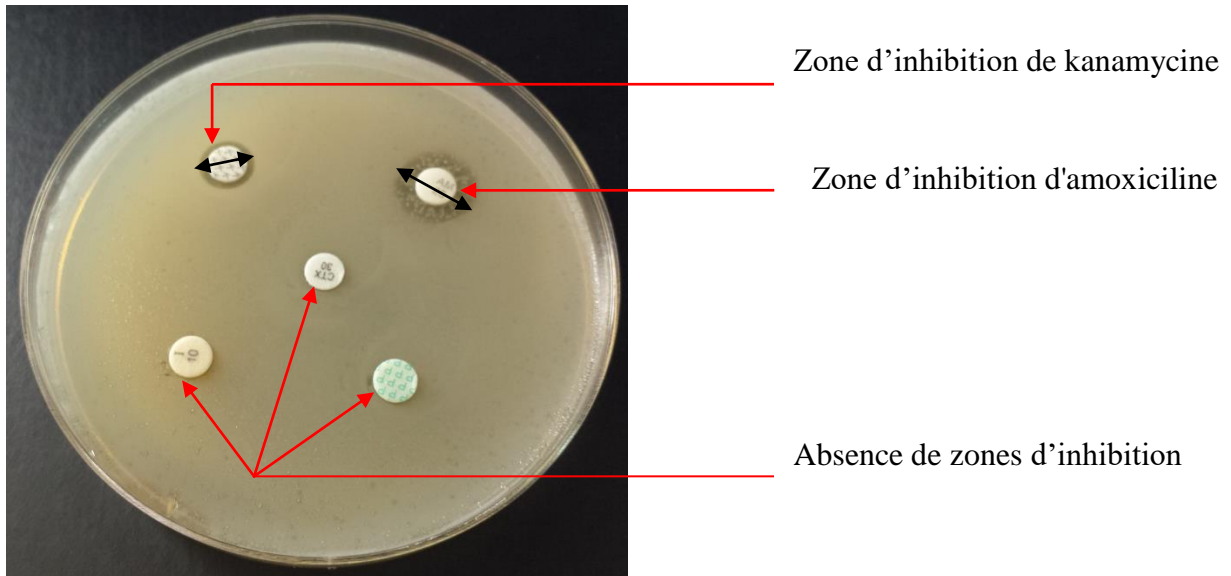
R : répétition

Annexe 5 : Zones d'inhibition de l'extrait éthanolique sur *Staphylococcus aureus*.

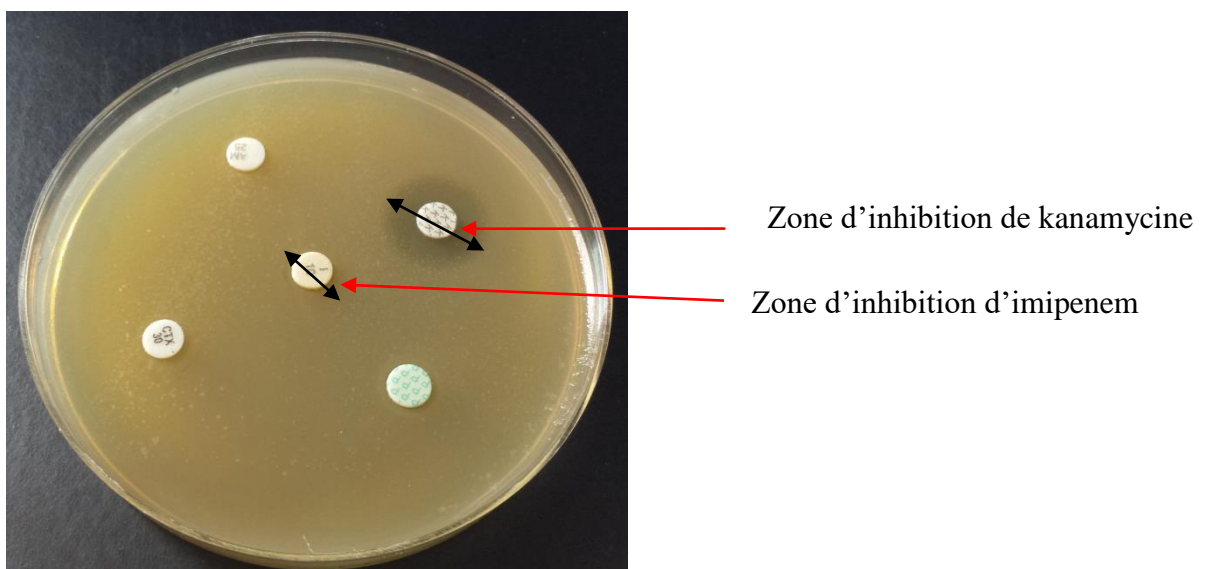


R : répétition

Annexe 6 : Zones d'inhibition de l'extrait méthanolique sur *Staphylococcus aureus*.



Annexe 7 : les résultats de l'antibiogramme testé sur *Staphylococcus aureus*.



Annexe 8 : les résultats de l'antibiogramme testé sur *Escherichia coli*.

Résumé

Le lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) est une plante méditerranéenne utilisée depuis l'antiquité en médecine traditionnelle, reconnue par ces vertus thérapeutiques. Dans ce contexte, le présent travail porte sur une étude phytochimique des polyphénols contenus dans les feuilles de cette plante, et une évaluation de leurs activités antibactériennes.

L'objectif de cette étude est l'extraction et le dosage des phénols totaux, par le réactif du Folin-Ciocalteu à partir des feuilles de *Pistacia lentiscus* provenant de la station d'El azaïb, commune de Tigzirt dans la wilaya de Tizi-Ouzou, ensuite par l'étude de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques et éthanoliques de cette plante en utilisant la méthode de diffusion de disque.

Les résultats obtenus montrent la richesse de *P. lentiscus*, en polyphénols. La teneur des feuilles varie entre $61,07 \pm 0,048$ et $115,59 \pm 0,024$ pour l'extrait éthanolique et $58,97 \pm 0,116$ et $106,89 \pm 0,102$ mg EAG/ g Ms pour l'extrait méthanolique.

Les résultats de l'activité antibactérienne montrent que tous les extraits de la plante étudiée présentent des propriétés antibactériennes sur *Staphylococcus aureus*, l'extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus* possède une meilleure activité de 12 ± 0.81 mm, par contre ces résultats nous ont révélé la résistance du germe pathogène *Escherichia coli* aux extraits testés.

Mots clés : *Pistacia lentiscus* L., polyphénols, activité antibactérienne, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

Abstract

Pistacia lentiscus L. plants Mediterranean used since antiquity in traditional medicine recognized by these therapeutic virtues. In this context, this work concerns a phytochemical study of polyphenols contained in the sheets this plant, and an evaluation of its antibacterial activity.

The objective of this study is the extraction and the proportioning of total phenols, by the reagent of Folin-Ciocalteu starting from the sheets of *Pistacia lentiscus* coming from the station of El azaïb, commune of Tigzirt in the wilaya of Tizi-Ouzou, then by the study of the antibacterial activity of the extracts methanolic and ethanolic of this plant by using the method of diffusion of disc.

The got results show the wealth of *P. lentiscus*, out of polyphenols whose content varies between 61.07 ± 0.048 and 115.59 ± 0.024 for the extract ethanolic and 58.97 ± 0.116 and $106.89 \pm 0,102$ mg EAG/G for the extract methanolic.

The results of the antibacterial activity show that all the extracts of the plant studied present of the antibacterial properties on a bacterial strain *Staphylococcus aureus*, the extract methanolic of the sheets of *P. lentiscus* has a better activity of 12 ± 0.81 mm, on the other hand these results revealed us the resistance of the pathogenic germ *Escherichia coli* extracts tested.

Keywords: *Pistacia lentiscus* L., polyphenols, antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.