

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie et de Microbiologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Thème

**Activités biologiques des extraits des feuilles de l'oléastre
(*Olea europaea var. sylvestris*) : cas des populations de
Tizi-Rached.**

Présenté par : M^{elle} BEKDACHE Scoura

Devant le jury :

Présidente : Mme IRATNI-AICHE G. M.C.B U.M.M.T.O

Promotrice : Mme BOUDIAF-NAIT KACI M. M.C.A U.M.M.T.O

Co-promotrice : Melle OUZID Y. Docteur U.M.M.T.O

Examineur 1: Mr LHADJMOHAND A. M.A.A U.M.M.T.O

Examinatrice 2: Mme MESTAR-GUECHAOUI N. M.A.A U.M.M.T.O

Promotion : 2017/ 2018

Remerciements

Je tiens, en premier lieu, à rendre grâce à dieu le tout puissant de m'avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire de Ressources Naturelles de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, de ce fait je remercie M^{me} SMAIL N., de m'avoir facilité l'accès et de m'avoir fourni l'appui technique nécessaire à la réalisation de ce travail.

Mes vifs remerciements et ma profonde reconnaissance vont à ma promotrice M^{me} BOUDIAF- NAIT KACI M. Maître de conférences classe A à l'Université de Tizi-Ouzou, qui m'a proposé ce thème et assisté de près tout le long de ce modeste travail.

Je tiens également à remercier ma co-promotrice M^{lle} OUZID Y. Docteur à UMMTO, pour sa contribution à la réalisation de ce travail et ses conseils avisés qu'elle a pu me prodiguer.

J'adresse également mes remerciements à M^{me} IRATNI-AICHE G. Maître de conférences classe B à l'Université de Tizi-Ouzou, de nous honoré en présidant le jury.

Je tiens remercier M^r LHADJMOHAND A. Maître assistant classe A à l'Université de Tizi-Ouzou et M^{me} MESTAR-GUICHAOUI N. Maître assistante classe A à l'Université de Tizi-Ouzou, de nous avoir fait honneur de leur présence et leur participation au jury.

Mes remerciements et ma profonde reconnaissance vont à M^{me} YAKOUB-BOUGDAL S. professeur à UMMTO, qui s'est montrée loyale et impartiale envers les étudiants durant notre cursus.

Mes sincères remerciements vont également à tous ceux et celles qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail et à tous ceux qui m'ont enrichi de leur connaissance.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire :

A ceux, qui sans eux rien n'aurait pu être...Mes parents.

*A ceux qui malgré leur absence physique en mon cœur demeureront toujours présents...Mes
grands parents.*

*A celui qui m'a toujours témoigné un soutien sans faille et qui ne cesse de me tirer vers le
haut...Ma moitié*

A ceux et celle qui embellissent ma vie...Mes frères et ma sœur adorée.

A mes amies de longue date et qui sont toujours présentes.

A ma lyly que je remercie pour son aide qui m'a été précieuse.

A tous les enseignants qui portent dignement ce statut.

Scoura

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 01

Synthèse bibliographique

I. Etude bibliographique de l'espèce *Olea europaea var. sylvestris*..... 03

1.1. Introduction 03

1.2. Taxonomie et nomenclature de l'espèce 03

1.2.1. Taxonomie de l'oléastre 03

1.2.2. Nomenclature de l'oléastre..... 04

1.3. Description botanique 04

1.3.1. Feuille 05

1.3.2. Fleur 06

1.3.3. Fruit ou Drupe 06

1.3.4. Différences entre l'olivier cultivé et l'olivier sauvage 07

1.4. Vertus thérapeutiques de l'*Olea europaea var. sylvestris*..... 09

1.5. Composition chimique et propriétés biologiques de l'espèce 10

II. Activités biologiques étudiées 11

2.1. Activité antibactérienne..... 11

2.1.1. Les antibiotiques 12

2.1.2. Résistance des bactéries aux antibiotiques..... 13

2.1.2.1. Types de résistances bactériennes 13

2.2. Activité anti-inflammatoire 14

2.2.1. Les anti-inflammatoires 15

2.2.1.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens 15

2.2.1.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens 16

2.2.1.3. Les anti-inflammatoires d'origine végétale 17

Partie expérimentale

1. Matériel et méthodes 18

1.1. Présentation de la zone d'étude 18

1.2. Matériel 19

1.2.1. Matériel biologique	19
1.2.1.1. Matériel végétal.....	19
1.2.1.2. Les souches bactériennes	20
1.2.2. Matériel du laboratoire	21
1.3. Méthodes	22
1.3.1. Préparation des extraits éthanoliques.....	22
1.3.2. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antibactérienne	23
1.3.2.1. Méthode de diffusion des disques sur milieu solide	24
1.3.2.1.1. Analyse statistique	26
1.3.2.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) en milieu solide.....	26
1.3.2.3. Analyse statistique.....	27
1.3.3. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité anti-inflammatoire	28
3. Résultats et discussions	30
3.1. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antibactérienne	30
3.1.1. Résultats de l'activité antibactérienne testée par la méthode de diffusion des disques sur milieu solide	30
3.1.1.1. Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> LGA 251.....	32
3.1.1.2. Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> FRI 361.....	32
3.1.1.3. Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis <i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876.....	33
3.1.1.4. Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49453.....	34
3.1.1.5. Analyse statistique.....	34
3.1.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) en milieu solide.....	35
3.1.2.1. Analyse statistique.....	38
3.2. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité anti-inflammatoire	42
Conclusion.....	48

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

ACTH	: Hormone Adrenocorticotropine
AINS	: Anti-inflammatoire non stéroïdien
AIS	: Anti-inflammatoire stéroïdien
AND	: Acide Désoxyribonucléique
ANOVA	: ANalysis Of Variance (analyse de la variance, logiciel pour les statistiques)
ARN	: Acide Ribonucléique
BHI	: Brain Heart Infusion
BHIB	: Brain Heart Infusion Broth
CMI	: Concentration Minimale Inhibitrice
COX-1	: Cyclooxygénase-1
COX-2	: Cyclooxygénase-2
DMSO	: Di-méthylsulfoxyde
IL-1β	: Interleukine-1beta
IκB-α	: Inhibitor of nuclear factor-kappa B
LDL	: Low density lipoprotein
MH	: Mueller-Hinton
NF-Kβ	: Nuclear Factor-kappa B
<i>O.</i>	: <i>Olea</i>
OMS	: Organisation mondiale de la santé
PGE2	: Prostaglandine E2
SARM	: <i>Staphylococcus aureus</i> résistantes à la méticilline
TNFα	: Tumor necrosis factor alpha
<i>Var.</i>	: Variété
VLDL	: Very low density lipoprotein

Liste des figures

Figure 01 : photo de l'oléastre prise dans la zone d'échantillonnage (Tizi-Rached, 2018)	05
Figure 02 : feuilles de l'oléastre (Tizi-Rached, 2018)	06
Figure 03 : fleurs de l'oléastre (Tizi-Rached, 2018).....	06
Figure 04 : fruits de l'oléastre (Tizi-Rached, 2018).....	07
Figure 05 : photo de l'olivier prise dans la zone d'échantillonnage (Tizi-Rached, 2018).....	08
Figure 06 : structure de l'acide oléique (TOUITOU, 2006).	10
Figure 07 : structure de quelques anti-inflammatoires stéroïdiens.	16
Figure 08 : structure de quelques anti-inflammatoires non stéroïdiens	16
Figure 09 : la situation géographique de la zone d'étude (Echelle : 1/200.00).....	18
Figure 10 : feuilles d' <i>O. europaea var. sylvestris</i> (Tizi-Rached, 2018).....	19
Figure 11 : schéma récapitulatif des différentes étapes de préparation de l'extrait éthanolique.	23
Figure 12 : schéma récapitulatif des principales étapes de l'évaluation de l'activité antibactérienne.....	25
Figure 13 : schéma récapitulatif des principales étapes de la CMI sur milieu solide.	27
Figure 14 : schéma récapitulatif des étapes du protocole de l'activité anti-inflammatoire.....	29
Figure 15 : effets des extraits sur <i>S. aureus</i> LGA 251.	32
Figure 16 : effets des extraits sur <i>S. aureus</i> FRI 361.	33
Figure 17 : effets des extraits sur <i>B. cereus</i> ATCC 10876.....	33
Figure 18 : résultats des tests des CMI sur quelques souches testées.	37
Figure 19 : résultats des tests des CMI sur quelques souches testées.	37
Figure 20 : préparation des solutions extrait-ovalbumine.....	42
Figure 21 : pourcentages d'inhibition de la dénaturation d'ovalbumine à différentes concentrations des extraits éthanoliques des feuilles de l'oléastre de l'année 2017.	43
Figure 22 : pourcentages d'inhibition de la dénaturation d'ovalbumine à différentes concentrations des extraits éthanoliques des feuilles de l'oléastre de l'année 2018.....	44
Figure 23 : comparaison des pourcentages d'inhibition de la dénaturation d'ovalbumine à différentes concentrations des extraits éthanoliques des feuilles de l'oléastre des deux années 2017 et 2018.....	45
Figure 24 : pourcentages d'inhibition de la dénaturation thermique de l'ovalbumine en présence de l'aspirine.....	46

Liste des tableaux

Tableau I : critères d'identification de la forme sauvage et cultivée de l'olivier (GREEN, 2002).....	08
Tableau II : quelques exemples de plantes médicinales douées d'activité anti-inflammatoire..	17
Tableau III : les caractéristiques des espèces bactériennes utilisées et les principales maladies qu'elles provoquent.	20
Tableau IV : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne obtenus par les différents extraits bruts étudiés (en mm).....	31
Tableau V : test de comparaison des moyennes (NEWMAN-KEULS) des diamètres des zones d'inhibition des extraits végétaux vis-à-vis de <i>S. aureus</i> FRI 361 et <i>S. aureus</i> LGA 251.	34
Tableau VI : test de comparaison des moyennes (NEWMAN-KEULS) des diamètres des zones d'inhibition des extraits végétaux vis-à-vis de <i>E. faecalis</i> ATCC 49453 et <i>B. cereus</i> ATCC 10876.	35
Tableau VII : les résultats des CMI des extraits de l'oléastre.	36
Tableau VIII : test de comparaison des moyennes (NEWMAN-KEULS) des CMI des extraits végétaux vis-à-vis de <i>B. cereus</i> ATCC 10876 et <i>E. faecalis</i> ATCC 49453.	39
Tableau IX : test de comparaison des moyennes (NEWMAN-KEULS) des CMI des extraits végétaux vis-à-vis de <i>S.aureus</i> LGA 251 et <i>S. aureus</i> FRI 361.	40
Tableau X : pourcentages d'inhibition de la dénaturation d'ovalbumine à différentes concentrations des extraits éthanoliques des feuilles de l'oléastre de l'année 2017.....	43
Tableau XI : pourcentages d'inhibition de la dénaturation d'ovalbumine à différentes concentrations des extraits éthanoliques des feuilles de l'oléastre de l'année 2018.....	44



Introduction

Longtemps avant que l'humanité n'ait découvert l'existence de microbes, l'idée que certaines plantes avaient un potentiel guérissant et qu'elles contenaient des agents antimicrobiens, était bien acceptée (RIOS et RECIO, 2005). Aujourd'hui environ 35 000 espèces de plantes sont employées dans le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (ELQAJ *et al.*, 2007). Les extraits naturels des plantes contiennent des substances actives auxquelles on attribue de nombreux effets biologiques (MOHD NOR *et al.*, 2016). Ces composés sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, telles que les activités antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses (DUGAS *et al.*, 2000).

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques en Afrique est une partie intégrante de la culture et de la tradition. Ainsi, plus de 80% de la population a recours exclusivement à la médecine traditionnelle pour les besoins de santé primaires. Des avantages économiques considérables dans le développement de la médecine traditionnelle et dans l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des diverses maladies ont été constatés d'où la nécessité d'une valorisation de la médecine traditionnelle (MUTHU *et al.*, 2006). Parmi ces plantes, on retrouve des individus sauvages, connus sous le nom oléastres (*Olea europaea* subsp *europaea* var. *sylvestris*). L'olivier sauvage ou oléastre est un élément caractéristique de la végétation méditerranéenne, en particulier de l'étage de végétation thermoméditerranéenne dont il est un des principaux indicateurs (BOUBY et TERRAL, 2016). L'oléastre est un arbuste appartenant à la famille des Oléacées. L'oléastre est un buisson épineux et à fruits ordinairement petits, il existe sous deux formes non distinguables morphologiquement, indigène et férale (BESNARD et BERVILLE, 2000).

Dans cet axe de recherche globale sur les plantes douées de propriétés thérapeutiques s'insère l'objectif du thème de notre travail dont le but étant l'évaluation des activités antibactérienne et anti-inflammatoire des extraits des feuilles de l'oléastre.

Le travail que nous présentons dans ce manuscrit comporte :

- Une synthèse bibliographique sur l'espèce *O. europaea* var. *sylvestris* ;
- Une étude expérimentale qui est scindée en deux parties :

Dans un premier temps on retrouve les étapes de préparation des extraits végétaux obtenus à partir des poudres des feuilles de l'*O. europaea var. sylvestris*.

Une seconde partie dédiée aux tests des propriétés biologiques, notamment l'activité antibactérienne de ces extraits vis-à-vis de quatre souches bactériennes à Gram + par la méthode de diffusion des disques en milieu solide qui vise à déterminer la sensibilité ou la résistance des bactéries ainsi que l'activité anti-inflammatoire qui est basée sur la capacité de ces extraits à réduire la dénaturation thermique de l'ovalbumine.

- Le dernier chapitre montre les résultats et discussion et une conclusion clôt ce travail avec des perspectives.



Synthèse bibliographique

I. Etude bibliographique de l'espèce *Olea europaea var. sylvestris*

1.1. Introduction

L'olivier sauvage est classé dans la famille des Oléacées où l'on rencontre aussi le frêne et le lilas. Il appartient au genre *Olea* qui comporte 30 espèces différentes réparties sur la surface du globe. L'espèce qui est cultivée dans le bassin méditerranéen est l'*Olea europaea*, dans laquelle on rencontre l'oléastre ou olivier sauvage (*Olea europaea var. oleaster* ou *sylvestris*), et l'olivier cultivé (*Olea europaea var. europaea*) (HANNACHI *et al.*, 2010). L'oléastre est présent sous deux formes non distinguables morphologiquement, indigène et férale (dérivant de descendants ensauvagés d'olivier) (BESNARD et BERVILLE, 2000). Ces formes spontanées ou sub-spontanées se trouvent essentiellement dans les maquis des régions méditerranéennes et elles forment même de vraies forêts en Espagne, en Algérie et en Asie Mineure (CHEVALIER, 1948).

O. europaea var. Sylvestris est une caractéristique importante de l'actuelle végétation méditerranéenne. Sa répartition naturelle a été confinée aux zones côtières du bassin méditerranéen (RIVAS-MARTINEZ *et al.*, 1987). Au nord, il est limité par le froid et le gel alors qu'au sud, la culture est limitée par les conditions arides et sahariennes (AMOURETTI et COMET, 1998). Malgré cela, sa culture a dépassé le bassin méditerranéen et a été exportée dans plusieurs pays du monde tels l'Afrique du Sud et l'Argentine, l'Australie, les Etats unis (RUGINI et FEDELI, 1990).

1.2. Taxonomie et nomenclature de l'espèce

1.2.1. Taxonomie de l'oléastre

Selon CRONQUIST (1981), cette espèce est classée comme suit :

Embranchement : *Magnoliophyta*.

Sous embranchement : *Magnoliophytina*.

Classe : *Magnoliopsida*.

Sous classe : *Asteridae*.

Ordre : *Scrophulariales*.

Famille : *Oleaceae*.

Genre : *Olea*L.

Espèces : *Olea europaea* L.

Sous-espèces : *Olea europaea* L. ssp. *Sativa* Hoffm. et Link (= *O. europaea* L. ssp. *Europaea*),

Olea europaea L. ssp. *Oleaster* Hoffm. et Link (= *O. europaea* L. ssp. *Sylvestris* Miller).

1.2.2. Nomenclature de l'oléastre

La nomenclature de l'oléastre (l'olivier sauvage) est donnée comme suit :

- Berbère : *azebboudj*, désigné sous cette appellation en Kabylie et dans le haut Atlas au Maroc (BOUDRIBILA, 2004), *ahecad* (AIT YOUSSEF, 2006).
- Arabe : *berri* (Maroc), *zebboudj* (Algérie) (AIT YOUSSEF, 2006).
- Français : oléastre, olivier sauvage.
- Anglais : wild olive, oleaster.

1.3. Description botanique

L'olivier sauvage est un arbuste de 4 à 6 m de hauteur (EDWARD *et al.*, 1993). Il se présente sous forme spontanée (sauvage) comme un buisson épineux, à fruits ordinairement petits et nombreux donnant une huile fine d'un goût amer. Selon LOUSSERT et BROUSSE(1978), il commence à fleurir et à produire le fruit à l'âge de 8 ans. La période de floraison se situe en Mai-Juin (BOUCHER *et al.*, 2011). L'oléastre est un arbuste rustique qui résiste mieux aux excès de température, sa longévité et la qualité de son bois surpassent celles de l'olivier cultivé (JEAN PAGNOL, 1996). Il nécessite des sols à pH neutres, de plus un sol riche en cuivre n'altère pas sa croissance (CHATZISSAVIDIS, 2002). Il pousse sur n'importe quel pic élevé, choisissant une crevasse pour enfoncer ses racines pivotantes, la surface vernissée des feuilles et pause estivale dans le cycle végétatif pour s'adapter à la sécheresse estivale, il survie à des températures plus élevées que 40°Celsius mais par contre se détériore à des températures basses moins de 7°C (PANSIOT et REBOUR, 1961).

Ses feuilles sont bien adaptées aux conditions de sécheresse grâce à la présence des stomates uniquement sur leur surface inférieure (CONNOR, 2005). Ses feuilles coriaces présentant des dispositifs de lutte contre la transpiration excessive de l'été, l'oléastre est particulièrement résistant à la sécheresse et est, par conséquent, très précieux pour l'écologie des pays de l'Afrique du Nord, car il permet de lutter contre la désertification (MAILLARD, 1975). Une pluviométrie de 500 à 700 mm est suffisante, il peut même s'adapter a des régions arides comme le Sahel ou Jordanie, l'accumulation de mannitol au niveau racinaire joue un

rôle majeur en cas de pénurie d'eau (DICHIO *et al.*, 2003). Les oliviers sauvages se multiplient par voie sexuée, ils sont pollinisés par le vent et les oiseaux (ALCANTARA et REY, 2003). La pluie de septembre est importante pour la maturation du fruit (PANSIOT et REBOUR, 1961) (Figure 01). En revanche l'olivier cultivé est multiplié essentiellement par voie végétative (bouturage ou greffage).



Figure 01 : photo de l'oléastre prise dans la zone d'échantillonnage (Tizi-Rached, 2018).

1.3.1 Feuille

Les feuilles sont simples, ovales, persistantes. Elles ont une durée de vie de l'ordre de 3 ans, elles sont disposées de façon opposée sur le rameau, leur face supérieure est d'un vert grisâtre, la face inférieure présente un aspect argenté (BEZANGER-BEAUQUESNE *et al.*, 1980). Elles sont plus petites que celles de l'olivier cultivé (Figure 02).



Figure 02 : feuilles de l'oléastre (Tizi-Rached, 2018).

1.3.2 Fleur

Les fleurs, petites et blanches, à quatre pétales, sont réunies en grappes dressées et sont hermaphrodites (GHEDIRA, 2008). Comme c'est le cas de nombreux arbres forestiers, l'olivier est une espèce allogame. Chaque fleur comporte un calice segmenté en quatre, une corolle tubulaire avec quatre lobes, deux étamines et un ovaire avec deux carpelles et style court (BESNARD *et al.*, 2000) (Figure 03).



Figure 03 : fleurs de l'oléastre (Tizi-Rached, 2018).

1.3.3 Fruit ou Drupe

Le fruit de l'oléastre est une drupe de 0,5-1.3cm de taille et avec un poids de 1,8-2,3g (APARICIO et LUNA, 2002). Il est composé de trois parties anatomiques distinctes :

- **l'épicarpe** : c'est la peau de l'olive, la cuticule est imperméable à l'eau. A maturation, l'épicarpe passe de la couleur vert tendre à la couleur violette ou rouge puis à la coloration noirâtre.
- **le mésocarpe** : c'est la pulpe du fruit, elle est constituée de cellule qui stocke les gouttes de graisses qui formeront l'huile d'olive.
- **l'endocarpe** : est constitué par un noyau fusiforme, très dur, il contient deux ovaires dont l'un stérile et le second produit un embryon (LOUSSERT et BROUSSE, 1978).

L'olive atteint son poids maximal après 8 mois suivant la période de floraison et subit des modifications physiologiques et des changements de couleur indiquant sa maturité et son développement morphologique final (BOUAZIZ *et al.*, 2004). Ce développement engendre un changement de taille, de couleur, de composition, de texture, de saveur ainsi qu'une augmentation de la susceptibilité au pathogènes (CONDE *et al.*, 2008) (Figure 04).



Figure 04 : fruits de l'oléastre (Tizi-Rached, 2018).

1.3.4. Différences entre l'olivier cultivé et l'olivier sauvage

L'oléastre diffère de l'olivier cultivé par la présence des pousses courtes et épineuses et par un stade juvénile long (TERRAL et ARNOLD-SIMARD, 1996) (Figure 05). Ses fruits sont également plus petits, avec une faible épaisseur de pulpe, et ils donnent donc peu d'huile. De par sa faible hauteur, les fruits de l'oléastre sont facilement consommés par les animaux : la dissémination des noyaux est zoochore (COMTE, 1990). L'olivier se caractérise par une distribution plus vaste que l'oléastre (HANNACHI *et al.*, 2009). Il est multiplié

essentiellement par voie végétative (bouturage ou greffage) alors que les formes sauvages se multiplient par voie sexuée (graines). Le tableau I présente les principaux critères de différenciation entre l'olivier cultivé et l'olivier sauvage.



Figure 05 : photo de l'olivier prise dans la zone d'échantillonnage (Tizi-Rached, 2018).

Tableau I : critères d'identification de la forme sauvage et cultivée de l'olivier (GREEN, 2002).

Critères Olivier	Architecture de l'arbo	Forme et taille des feuilles	Taille des fruits	Mésocarpe
Sauvage	Arbuste de 4 à 6m, dense, branches minces, courtes et épineuses	-Ovale à elliptique -3 à 8 cm de long	1 cm	Charnu et mince
Cultivé	Arbre qui peut atteindre 15 m avec plusieurs troncs	Lancéolée à elliptique	2 à 4 cm de long	Charnu et dense

1.4. Vertus thérapeutiques de l'*Olea europaea var. sylvestris*

L'oléastre est très intéressant dans le domaine sanitaire. Ses feuilles ont été largement utilisées dans les remèdes traditionnels dans les pays européens et méditerranéens comme des extraits, des tisanes, et des poudres. Elles contiennent plusieurs composés potentiellement bioactifs (WAINSTEIN *et al.*, 2012). Les feuilles, fraîches, aussi bien les jeunes que les plus âgées, sont mâchées pour deux choses : pour désinfecter et aider à cicatrifier les lèvres et les gencives, ainsi que pour rafraîchir l'haleine puisque leur emploi élimine la mauvaise odeur, elles sont donc aussi utilisées pour l'hygiène buccale. Elles sont efficaces sur les stomatites, qui sont des inflammations de la muqueuse buccale. Ses feuilles provoquent aussi l'hypotension chez les personnes souffrant de l'hypertension artérielle (AIT YOUSSEF, 2006). Elles sont également utilisées contre les diarrhées (TAHRAOUI *et al.*, 2007). L'olivier sauvage a des feuilles d'une nature astringente qui sont capables de limiter l'érysipèle (Infections cutanées streptococciques), l'Herpès, escarboucles (tumeurs malignes), ulcération gangreneuse. L'humidité qui sort du bois brûlé vert, de l'olivier, guérit les pellicules, les maladies parasitaires de la peau et les lichens (maladie papuleuse de la peau) (GOODYER, 1959).

En dehors de l'alimentation et de l'éclairage, l'huile d'olive sauvage était utilisée dans un large spectre, depuis l'antiquité. Elle était destinée aux soins du corps, dans la fabrication des baumes. Au cinquième siècle on l'utilisait comme remède, Hippocrate la conseillait contre les courbatures, dans le cas d'ulcère ou de choléra. Au moyen âge les écoles de médecines en Italie utilisaient l'huile comme solvant médicamenteux (assouplie et réchauffe les blessures), les romains l'utilisaient en particulier pour la lutte et la course (échauffement, protection contre le froid ou le soleil) et ainsi elle a été intégrée dans l'usage médical et elle a été réutilisée dans l'industrie des textiles pour assouplir les tissus de lin, rafraîchir les vêtements fripés et graisser les fibres de textiles (MOREAUX, 1999). L'huile d'oléastre comme l'huile d'olive possède les mêmes usages thérapeutiques (BOUKEF, 1986). En effet sa consommation est associée à une incidence limitée des maladies cardiovasculaires, des désordres neurologiques, cancers du sein et du colon, ainsi qu'aux propriétés antioxydantes (GIMENO *et al.*, 2002). Elle est commode pour les maux de tête et la chute des cheveux (alopécie). Elle est utilisée contre les maladies cutanées parasitaires (GOODYER, 1959). Elle est aussi utilisée pour la cicatrisation des blessures (AIT YOUSSEF, 2006). Ses racines sont utilisées pour traiter les maladies urinaires, coliques, ténias, rhumatisme et d'autres maladies (TAHRAOUI *et al.*, 2007).

La feuille et le fruit de l'Oléastre sont connus pour leur résistance naturelle aux microorganismes tel que les *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Candida utilis*, et *Aspergillus figer* et aux insectes grâce à des composés aromatiques (KUBO *et al.*, 1995).

1.5. Composition chimique et propriétés biologiques de l'espèce

L'oléastre est un arbuste appartenant à la famille des oléacées dont le composé de base est l'oléine (SIDI MAMMAR, 2012 in LAIB *et al.*, 2016) (Figure 06). L'acide oléique est préventif contre le développement d'athérome et augmente la résistance à l'oxydation. La consommation d'acide oléique a un intérêt indiscutable dans la médecine préventive (maladies cardiovasculaires, pathologies digestives et hépatobiliaires, l'ostéoporose) (JACOTOT, 1996).

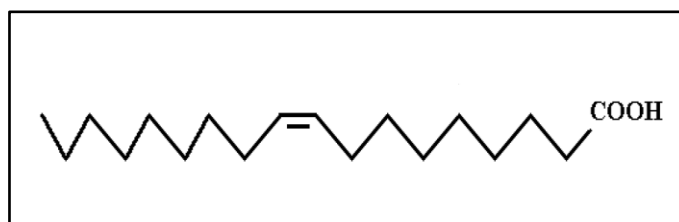


Figure 06 : structure de l'acide oléique (TOUITOU, 2006).

L'oléastre s'avère intéressant parce qu'il produit une huile de bonne qualité en termes de composés mineurs comparée à l'huile d'olive. Ces composés mineurs (alcools, composés polyphénoliques, chlorophylle, caroténoïdes, stérols et tocophérols) contribuent à la qualité organoleptique et à la valeur nutritive, ce qui peut distinguer la qualité des huiles d'olive provenant de différentes régions de production (DOVERI et BALDONI, 2007).

BENNANI-KABCHI et ses collaborateurs(2000) affirment, dans leur étude sur des rats obèses prédiabétiques, que l'extrait aqueux des feuilles d'*O. europaea var. oleaster* a un effet hypocholestérolémiant considérable qui s'actualise par la baisse des fractions athérogènes LDL (Low density lipoprotein) et VLDL (Very low density lipoprotein). Cet effet est associé à une baisse de l'insulinémie. Selon d'autres études, l'huile d'oléastre améliore le profil lipidique au niveau du plasma chez les humains sains (BELARBI *et al.*, 2011).

Olea europaea L et ses dérivés peuvent être considérés comme une source potentielle d'anti-oxydants naturels et qui peut être utilisé dans l'industrie pharmaceutique (SAVARESE *et al.*, 2007). Les feuilles contiennent du cinchonidine, une quinoléine alcaloïde aux propriétés

antipaludiques. Les feuilles, l'écorce et les fruits contiennent aussi l'oleuropéine, possédant des activités antioxydantes, hypotensive, hypoglycémiant, hypocholestérolémiant et antiseptique (GHEDIRA, 2008).

D'un point de vue écologique, les populations d'olivier sauvage jouent un rôle dans la protection des sols contre la désertification à cause de leur grande résistance au vent et à la sécheresse, leur habilité à se régénérer après un feu ou un gel et particulièrement leur très grande longévité qui leur permet de vivre jusqu'à plusieurs milliers d'années (MULAS, 1998).

II. Activités biologiques étudiées

Une des stratégies pour cette étude consiste à explorer les plantes utilisées en médecine traditionnelle. En effet, l'OMS (Organisation mondiale de la santé) (2002) estime que, pour se soigner, 80% de la population africaine recourt toujours à la médecine traditionnelle pour laquelle la majeure partie des thérapies implique l'exploitation des principes actifs des plantes médicinales (BIYITI *et al.*, 2004).

Dans le but de trouver de nouvelles molécules bioactives dotées activités antimicrobiennes et anti-inflammatoires, plusieurs travaux ont été publiés sur les extraits des plantes (AYSE *et al.*, 2004).

2.1. Activité antibactérienne

Les plantes n'ont pas un système immunitaire proprement dit qui peut identifier une infection spécifique, leur propriété antimicrobiennes sont généralement efficaces contre une large gamme de micro-organisme. Ces propriétés sont utiles pour les infections chez les humains (CHAMI *et al.*, 2005). Selon DORMAN et DEANS (2000), l'activité biologique d'un extrait végétale est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leur effets synergiques.

Pour de multiples raisons, il est apparu utile et, dans certains cas indispensable, de contrôler le développement des microorganismes, car certaines bactéries sont hautement pathogènes pour l'homme ou l'animal et qu'il fallait tout naturellement se protéger de leurs effets néfastes et empêcher la transmission des maladies infectieuses. Les bactéries ne sont pas seulement nuisibles pour l'homme et l'animal, mais d'autres produits, substances ou

matériaux peuvent être détruits ou altérés sous l'effet de leur multiplication: détérioration des produits alimentaires; plusieurs monuments d'un grand intérêt historique sont dégradés (maladie de la pierre); les canalisations aussi peuvent être perforées.

Il est donc devenu indispensable à l'homme de mener une lutte contre l'envahissement des microorganismes, pour conserver ses biens, son potentiel industriel, son patrimoine artistique comme c'est le cas de la Joconde (le portrait de Mona Lisa) et pour "protéger son existence" même. Les moyens de lutte sont nombreux, les agents physiques (température, rayonnements...), les agents chimiques (métaux lourds, chlore et dérivés, alcools...) sont très actifs mais nocifs, aussi bien pour les bactéries que pour les cellules humaines ou animales.

Cependant, il y a d'autres agents possédants une "toxicité sélective": ils s'opposent à la multiplication bactérienne sans nuire aux cellules de l'hôte, et sont utilisés pour cette raison en thérapeutique, ce sont les "Antibiotiques" (LECLERC *et al.*, 1998).

2.1.1. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques (BERGOGNE-BEREZIN et DELLAMONICA, 1995).

Les cibles des antibiotiques sont impliquées dans les fonctions physiologiques ou métaboliques de la bactérie. Les antibiotiques peuvent inhiber la biosynthèse des acides nucléiques (ADN et ARN), mais leurs cibles principales sont la paroi cellulaire et les ribosomes bactériens (SINGH et BARRETT, 2006).

La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a entraîné la sélection de souches multi-résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et surtout vers les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration de nouveaux médicaments (BILLING et SHERMAN, 1998).

2.1.2. Résistance des bactéries aux antibiotiques

D'après GUALERZI (2013), la résistance bactérienne à un antibiotique donné doit être définie en fonction des critères pharmacocinétiques: la clairance plasmatique (capacité de l'organisme à éliminer un médicament) et la biodisponibilité (fraction de la dose administrée atteignant effectivement la circulation générale), et pharmacodynamiques : la concentration efficace (concentration plasmatique moyenne qu'il faut maintenir pour obtenir l'effet désiré), de la molécule concernée. Lorsque la concentration minimale inhibitrice dépasse la concentration maximale permise d'un point de vue pharmacocinétique-pharmacodynamique, il y a alors risque que l'objectif thérapeutique ne soit pas atteint et le germe est donc classé résistant.

Le phénomène de résistance est ancien, mais lors des dernières années le risque est accentué vu la conjugaison de deux facteurs:

- La diminution du nombre de nouveaux antibiotiques.
- La diminution considérable du temps qui sépare l'introduction d'un antibiotique en thérapeutique et l'apparition de souches résistantes à cet antibiotique. Pour certains antibiotiques, l'apparition de souches résistantes était presque concomitante à la mise sur le marché (Imipenème, Quinupristine).

2.1.2.1. Types de résistances bactériennes

- Résistance bactérienne naturelle :

Les antibiotiques, molécules naturelles synthétisées par la plupart des micro-organismes pour supplanter d'autres micro-organismes dans un environnement donné. Quand ces substances s'avèrent inefficaces sur certains micro-organismes, on dit que ces micro-organismes ont une résistance naturelle vis-à-vis de cette molécule. La résistance naturelle à un antibiotique donné est un caractère présent chez toutes les souches de la même espèce. C'est ainsi que, les bacilles à Gram négatif sont naturellement résistants aux antibiotiques hydrophobes car ces molécules ont des difficultés à passer la membrane externe de leur paroi. Les mycoplasmes, bactéries dépourvues de parois présentent une résistance naturelle aux beta-lactames, puisque le mode d'action de cette famille d'antibiotique consiste à inhiber la synthèse du peptidoglycane.

Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées afin de déterminer l'activité d'un antibiotique et contribue à définir son spectre antibactérien (NORMAK et NORMAK, 2002).

- Résistance bactérienne acquise :

Ce terme est utilisé pour désigner des processus permettant à des bactéries appartenant à une espèce originellement sensible de devenir résistante à un ou plusieurs antibiotiques (CHOPRA *et al.*, 2003). Parmi ces bactéries *S. aureus* est réputée pour être un pathogène redoutable qui a su développer des résistances envers beaucoup d'antibiotiques dont SARM (*S. aureus* résistantes à la méticilline) (DUMITRESCU *et al.*, 2010). Cette résistance acquise des bactéries peut provenir par une mutation chromosomique (plutôt rare) (CHOPRA *et al.*, 2003) ou par l'acquisition d'ADN étranger par le biais de plasmides (plutôt fréquent), de bactériophages ou de transposons (DAVIES, 1997).

2.2. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est une réaction de défense de l'organisme à diverses agressions qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique (réponse immunitaire) ou infectieuse (GAZIANO et GIBSON, 2006). Il s'agit donc d'un processus habituellement bénéfique : son but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalie de régulation du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation (RUSLAN, 2008). Cela peut provoquer des altérations importantes incluant la dénaturation de certaines protéines. Ces dernières ayant perdu, de ce fait, leur structure tridimensionnelle, peuvent provoquer l'apparition d'auto-antigènes transformant ainsi une réaction inflammatoire en une réaction auto-immune (NGUYEN *et al.*, 1989).

Les causes de la réaction inflammatoire sont multiples. Ces causes déterminent les lésions cellulaires et tissulaires qui vont déclencher l'inflammation :

- Infection : contamination par des micro-organismes (bactéries, virus, parasites, champignons).
- Agents physiques : traumatisme, chaleur, froid, radiations.
- Agents chimiques : caustiques, toxines, venins.
- Corps étrangers : exogènes ou endogènes.

Il existe deux types d'inflammations : aiguë et chronique.

➤ **L'inflammation aiguë**

L'inflammation aiguë est caractérisée par quatre phénomènes typiques, qui sont l'oedème, la douleur, la chaleur et la rougeur. Elle est de courte durée. L'inflammation aiguë peut être divisée en trois grandes phases : une phase vasculaire immédiate, une phase cellulaires et une phase de résolution et cicatrisation. Elle est causée par l'activation de différents médiateurs et cellules spécialisés dans le site infecté (BOREL *et al.*, 1988).

➤ **L'inflammation chronique**

Morphologiquement, l'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, macrophages et plasmocytes dans les tissus. Dans de nombreux cas, la réponse inflammatoire chronique peut persister pendant de longues périodes (plusieurs mois ou années). Elle est considérée comme être causée par l'engagement persistant des réponses de l'immunité innée et acquise. Il est prouvé que les macrophages dans ces lésions produisent une série de médiateurs pro-inflammatoires qui activent les fibroblastes pour fixer le collagène et activer les autres macrophages et lymphocytes pour libérer des médiateurs responsables des réponses inflammatoires. L'inflammation chronique est initialement déclenchée par des réponses vasculaires qui impliquent l'apparition de molécules d'adhésion sur la surface des cellules endothéliales qui vont spécifiquement entrainer l'adhésion des lymphocytes et des monocytes et permettent leur transmigration dans le compartiment extravasculaire (CHARLES *et al.*, 2010). Elle se développe dans les conditions où persiste une agression ou dans les tissus soumis à des réactions auto-immunes, où l'antigène ne peut être éliminé (RANKIN, 2004).

2.2.1. Les anti-inflammatoires

2.2.1.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS), constituent une vaste famille de médicament dérivé de cortisol, principale glucocorticoïdes surrénaliens. Les glucocorticoïdes sont des substances dérivées de cholestérols, sous l'action de l'hormone adrenocorticotropine (ACTH) de l'hypophyse. Les AIS sont responsables de nombreux effets biologiques, notamment sur l'inflammation, soit en répriment l'expression de gène pro-inflammatoire,

l'induction de l'expression de gène anti-inflammatoire, ou inhibent la production des prostaglandines (WEILL et BATTEUX, 2003) (Figure 07).

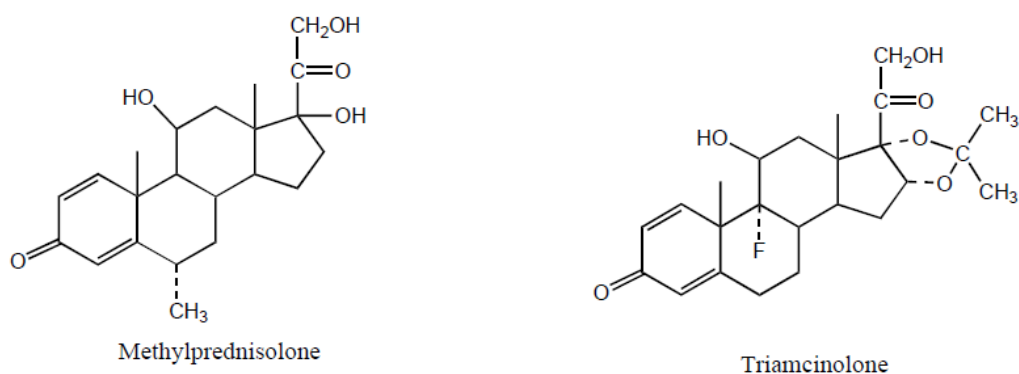


Figure 07 : structure de quelques anti-inflammatoires stéroïdiens.

2.2.1.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) regroupent l'ensemble des médicaments qui présentent différentes activités pharmacologiques de type anti-inflammatoire, analgésique, antipyrétique et antiplaquettaire ainsi que des effets secondaires gastro-intestinaux et rénaux qui inhibent la synthèse des prostaglandines par l'inhibition non spécifique de deux cyclooxygénases la COX-1 et la COX-2. Parmi ces AINS on a l'aspirine (inhibe plus la COX-1 que la COX-2), diclofenac et piroxicam (CHIOLERO *et al.*, 2000) (Figure 08).

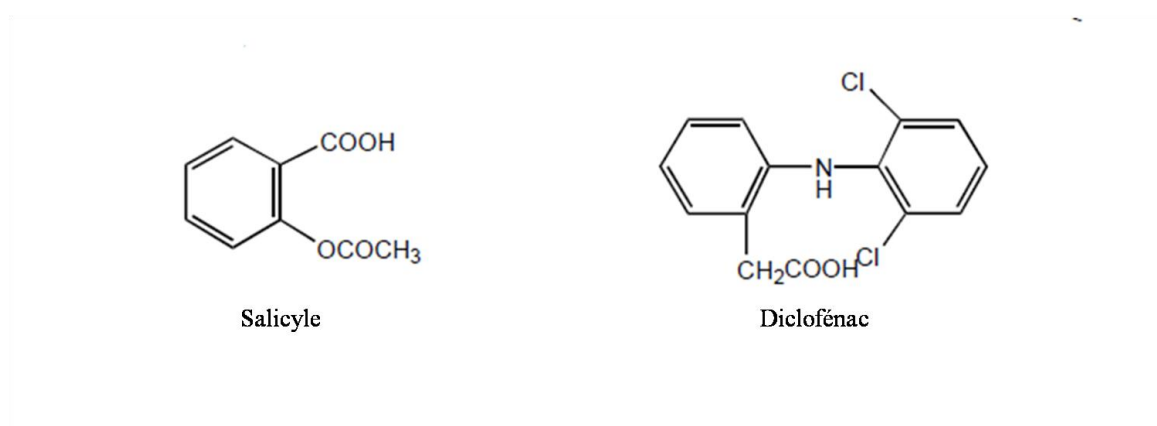


Figure 08 : structure de quelques anti-inflammatoires non stéroïdiens.

2.2.1.3. Les anti-inflammatoires d'origine végétale

Le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens comme l'aspirine. Ces molécules bien qu'étant efficaces présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation à long terme (GAZIANO et GIBSON, 2006). Il est dès lors intéressant de savoir que la nature nous offre un arsenal de plantes médicinales (Tableau II), ainsi que d'autres remèdes à action anti-inflammatoire. Nous citons à titre d'exemple les flavonoïdes, présentant un pouvoir anti-inflammatoire puissant avec très peu voire même sans effets secondaires (VECKA *et al.*, 2008), beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipoxygénase ainsi que par d'autres mécanismes.

Tableau II : quelques exemples de plantes médicinales douées d'activité anti-inflammatoire.

Nom scientifique	Famille	Sites d'action	Référence
<i>Ribes nigrum</i> (Cassissier) (Feuilles)	Grossulariacee	-Diminuent le taux de TNF- α et d'IL-1 β . -Effet inhibiteur de la COX-1 et de la COX-2.	GARBACKI <i>et al.</i> , 2004
<i>Urtica dioïca</i> (Ortie) (Feuilles)	Urticaceae	-Inhibe l'activation du facteur NF- κ B en empêchant la dégradation de sa sous-unité inhibitrice I κ B- α . -Inhibition de la COX-1 et COX-2 ainsi qu'une inhibition de la production de Prostaglandine D2.	MARRASSIN <i>et al.</i> , 2010
<i>Fraxinus japonica</i> (Fraxinus) (Feuille, écorce)	Oleaceae	-Inhibe l'activation de la voie classique et alterne du complément. -Inhibent la formation des leucotriènes issus de l'acide arachidonique par inhibition de la lipoxygénase.	KOSTOVA et LOSSIFOVA, 2007
<i>Curcuma longa</i> (Curcuma) (Rhizome)	Zingibéracée	-Inhibe la production de PGE2 et l'augmentation de l'expression de COX-2.	KIM <i>et al.</i> , 2012
<i>Harpagophytum Procumbens</i> (Harpagophyton) (Racine)	Pedaliaceae	-Inhibe l'expression de COX-1 et COX-2 et la biosynthèse la leucotriène.	GRANT <i>et al.</i> , 2007



Partie expérimentale



Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes

Dans l'optique de valoriser la flore algérienne, nous nous sommes intéressés à une plante qui fait partie du pourtour méditerranéen et qui est réputée pour son pouvoir guérisseur, à savoir *Olea europaea var. sylvestris*. Il s'agit d'une plante médicinale qui pousse à l'état spontané et qui est considérée comme la forme sauvage de l'olivier cultivé. Afin de tirer profit des composés naturels qu'elle renferme, nous avons évalué les effets biologiques des extraits de ses feuilles. Notre travail est axé sur deux activités biologiques en particulier : l'activité antibactérienne et l'activité anti-inflammatoire.

1.1. Présentation de la zone d'étude

L'échantillonnage a été réalisé le 24 mars 2017 et le 28 Mars 2018 dans la région de Tizi-Rached située dans la wilaya de Tizi-Ouzou (altitude : 216m, coordonnées Lambert : 36°41'15.11'' N, 12°39.27'' E). Notre site d'étude est une oliveraie de 70 ans environ, où l'oléastre, l'olivier et le lentisque se sont installés spontanément suite à un incendie au niveau des vergers oléicoles il y a une dizaine d'années (Figure 09).



Figure 09 : la situation géographique de la zone d'étude (Echelle : 1/200.00).

La zone d'étude est à 17 Km du chef lieu de la wilaya située dans le haut Sebaou (MESROUK, 1984). Elle est limitée administrativement au nord par la commune Ouguenoun,

au sud par la daïra de Larbaa Nath Irathen, à l'est par la daïra de Mekla et à l'ouest par la daïra de Tizi-Ouzou.

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

1.2. Matériel

1.2.1. Matériel biologique

1.2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles d'*O. europaea var. sylvestris*. Les feuilles des mêmes sujets ont été récoltées sur deux années. Une première récolte réalisée en mois de Mars de l'année 2017 et une seconde récolte réalisée en Mars 2018 à Tizi-Rached (Figure 10).



Figure 10 : feuilles d'*O. europaea var. sylvestris* (Tizi-Rached, 2018).

1.2.1.2. Les souches bactériennes

Les extraits éthanoliques des feuilles d'*O. europaea var. sylvestris* ont été testés pour leur activité antibactérienne vis-à-vis des souches de référence connues pour leur pathogénicité, à savoir : *S. aureus* FRI 361, *S. aureus* LGA 251, *B. cereus* ATCC 10876 et *E. faecalis* ATCC 49453 (Tableau III). Ces souches nous ont été fournies par le laboratoire de biochimie analytique et biotechnologie d'UMMTO, unité de microbiologie.

Tableau III : les caractéristiques des espèces bactériennes utilisées et les principales maladies qu'elles provoquent.

Espèces bactériennes	Caractéristiques	Maladies provoquées	Références bibliographiques
<i>Bacillus cereus</i>	Gram positif, appartient à la famille bacillaceae, bacille en forme de bâtonnet de 1 µm de largeur et de 3 à 4 µm de longueur, aérobies, anaérobies facultatives, mobile.	Cause des toxi-infections alimentaires.	ROBERT., 2009.
<i>Enterococcus faecalis</i>	Gram positif, anaérobie facultative, qui habite le tube digestif des humains et d'autres mammifères.	Cause des infections mortelles chez l'homme, possède un haut niveau de résistance naturelle aux antibiotiques tels que les aminoglycosides, l'aztréonam, les céphalosporines, la clindamycine.	RUIZ-GARBAJOSA et al., 2006
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram positif, appartient à la famille des <i>Staphylococcaceae</i> , immobile, anaérobie facultative, non exigeante. Les cellules sont des coques regroupées en amas (grappes de raisin).	Productrice de l'enzyme coagulase et d'un ensemble de toxines responsables des symptômes cliniques observés lors des infections invasives, des toxicoses et des formes mixtes causées par cette espèce.	KAYSER et al., 2005

1.2.2. Matériel du laboratoire

- Bec Bunsen,
- Boîtes de Petri en verres et en plastiques,
- Ecouvillons,
- Embouts pour micropipette,
- Entonnoir,
- Erlenmeyers,
- Flacons en verre,
- Micropipette,
- Pipettes pasteur,
- Tubes à essais.

➤ **Appareillages**

- Agitateur magnétique,
- Autoclave,
- Balance de précision,
- Etuve,
- Réfrigérateur,
- Spectrophotomètre,
- Vortex.

➤ **Produits chimiques**

- Acide acétylsalicylique (Aspirine),
- Agar agar,
- Chloramphénicol (30 µg/ml) (Antibiotique de référence),
- Di-méthylsulfoxyde (DMSO) 10%,
- Eau distillée,
- Ethanol à 95 %,
- Ovalbumine,
- Poudre de Brain Heart Infusion Broth (BHIB),
- Poudre de Mueller-Hinton (MH).

➤ **Milieus de cultures**

- Bouillon BHIB,
- Milieu Brain Heart Infusion (BHI),
- Milieu gélosé Mueller-Hinton (MH).

1.3. Méthodes

1.3.1. Préparation des extraits éthanoliques


Les feuilles récoltées ont été séchées à l'abri de la lumière à une température ambiante, pendant une quinzaine de jours jusqu'à ce que l'humidité disparaisse complètement, puis elles ont été réduites en poudre fine grâce à un broyeur électrique. Chaque poudre des feuilles de chaque individu pour chaque année a été conservée individuellement à l'abri de l'air, de l'humidité et de la lumière dans des flacons en verre hermétiquement fermés.

Les poudres obtenues à partir des feuilles des 7 arbustes d'*O. europaea var. sylvestris*, ont été additionnées suivant la position de l'Est à l'Ouest des arbustes et ce pour les feuilles des deux années. On a constitué des mélanges homogènes composés de 5 g de poudre de feuilles de chaque sujet. Les poudres ont été réparties comme l'indique le schéma ci-dessous :

Oléastre 2017:

Sujet 1+ Sujet 2  Lot 1 (OLS1)


Sujet 3+ Sujet 4  Lot 2 (OLS2)

Sujet 5+ Sujet 6+ Sujet 7  Lot 3 (OLS3)

Oléastre 2018:

Sujet 1+ Sujet 2  Lot 1 (OLR1)

Sujet 3+ Sujet 4  Lot 2 (OLR2)

Sujet 5+ Sujet6+ Sujet 7  Lot 3 (OLR3)

Les extraits des feuilles ont été obtenus par une macération d'une durée de 24h à température ambiante. Chaque lot de poudre a été mis en contact avec de l'éthanol (95%) à raison de 10g de poudre dans 100 ml d'éthanol pour les deux premiers lots et 15 g de poudre dans 150 ml d'éthanol pour le troisième lot. Une fois les 24 h sont passées, les mélanges ont subi une filtration sur du papier wattman. Les filtrats ont été ensuite répartis dans des boîtes de Petri en verre et laissés sécher jusqu'à obtention d'un résidu sec. Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne, les extraits secs ont été repris dans quelques millilitres de DMSO, tandis que les extraits secs destinés à l'activité anti-inflammatoire ont été récupérés par quelques millilitres d'eau distillée. Les extraits ont été conservés au frais (Figure 11). Le poids de chaque extrait sec a été déterminé, ce qui nous a permis de calculer les concentrations des extraits liquides en fonction du nombre de millilitres de DMSO utilisé ou d'eau distillée utilisée.

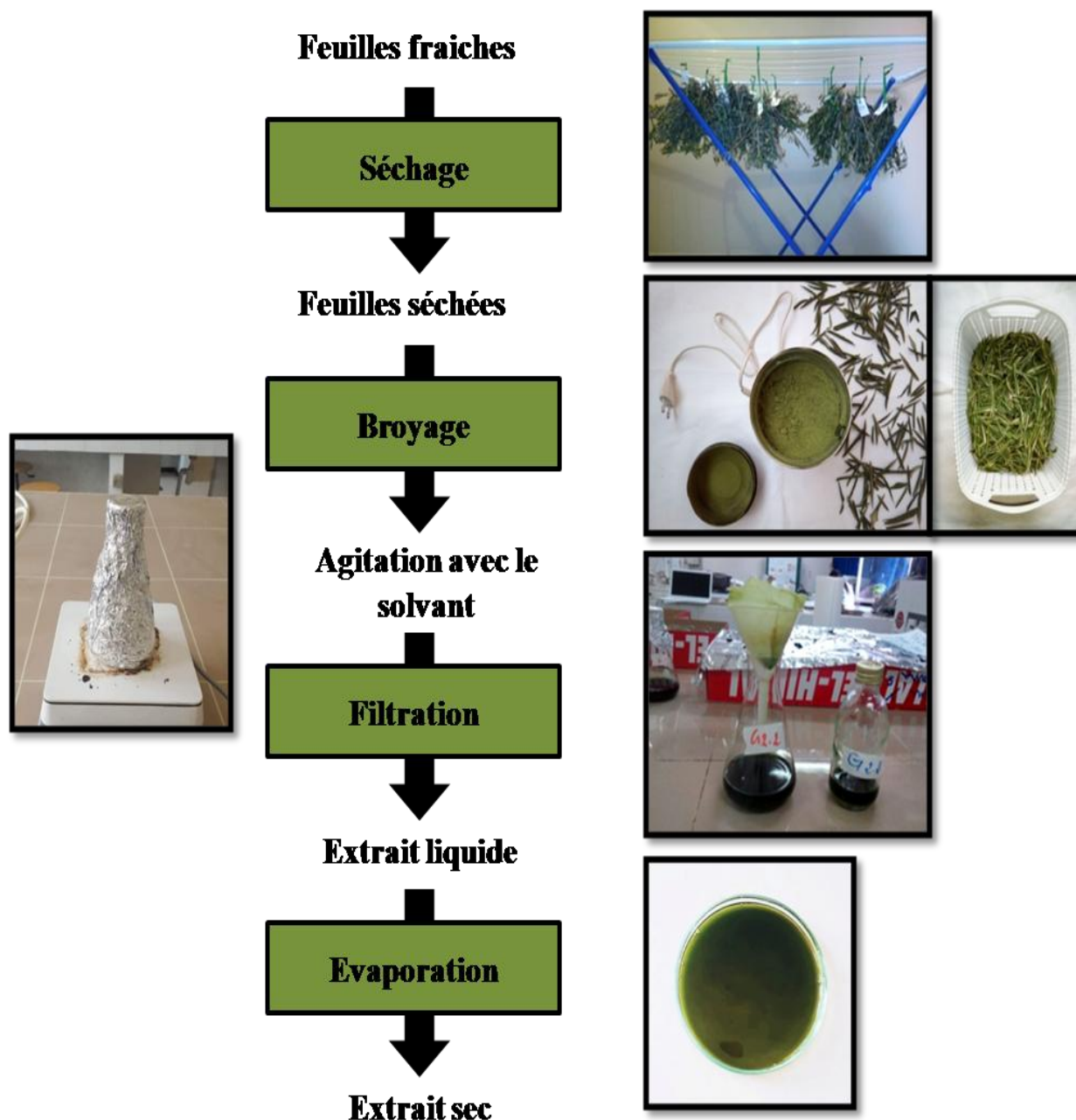


Figure 11: schéma récapitulatif des différentes étapes de préparation de l'extrait éthanolique.

1.3.2. Evaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne

Pour tester l'activité antibactérienne de l'espèce étudiée, nous avons adopté la technique de la double diffusion sur milieu solide, à partir des disques imprégnés de nos extraits. Elle permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance bactérienne par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque (SHARIFIFAR *et al.*, 2007). Dans cette étude la CMI (la concentration minimale inhibitrice) est également déterminée par la méthode de diffusion des disques.

1.3.2.1. Méthode de diffusion des disques sur milieu solide

La revivification des souches bactériennes a été faite dans du bouillon nutritif (BHIB), incubé à 37°C pendant 24 h.

➤ Préparation de l'inoculum

Les différentes espèces bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries sur des boîtes de Petri stériles contenant une gélose nutritive (BHI), puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum. Ensuite, 4 à 5 colonies bactériennes bien isolées sont mises en suspension dans 9 ml d'eau physiologique à 0,9 % NaCl. Puis cette suspension est ajustée au standard Mc Farland 0,5 à l'aide d'un spectrophotomètre, correspondant à une densité optique DO entre 0,08 à 0,1 lue à 660 nm, ce qui correspond à une suspension contenant environ 10^8 UFC/ ml (CA-SFM, 2012).

➤ Inoculation des géloses et dépôt des disques imprégnés des extraits végétaux

Ces deux phases sont réalisées en suivant ces étapes :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension microbienne précédemment préparée.
- Essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface de boîtes de Petri contenant de la gélose Mueller-Hinton, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Appliquer les disques imbibés par l'extrait (20µl/ disque) sur la gélose MH en pressant chaque disque à l'aide de pinces bactériologiques stériles pour s'assurer de son application. Une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé (CLSI, 2010).

Trois répétitions ont été réalisées pour chaque extrait (03 disque du même extrait et de la même concentration par boîte). A la surface de chaque boîte de Petri, on dépose un disque standard contenant le chloramphénicol, antibiotique de référence (témoin positif) et un disque imprégné de DMSO (témoin négatif). Les boîtes de Petri sont incubées à 37°C pendant 24

heures. L'activité antibactérienne est déterminée par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques. Les résultats sont exprimés en millimètres et représentent la moyenne de trois essais indépendants (Figure 12).

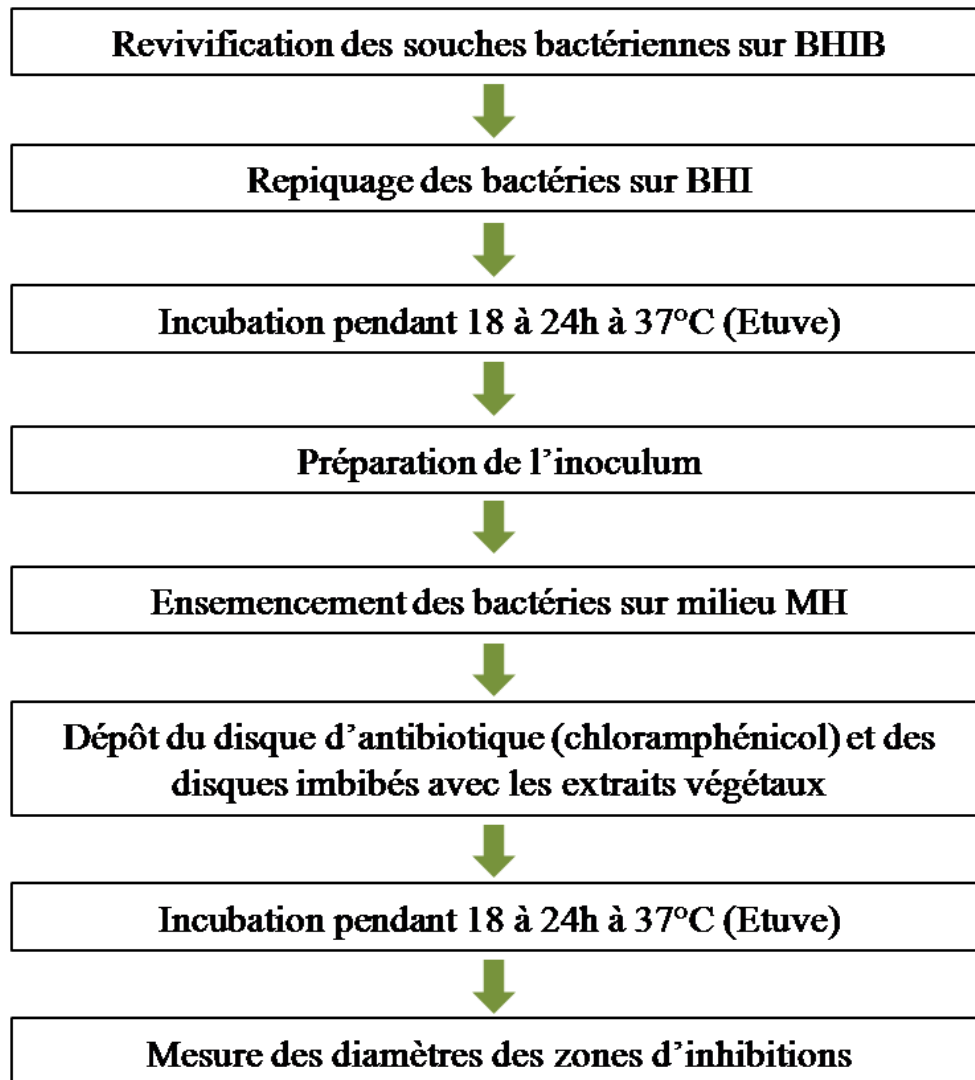


Figure 12 : schéma récapitulatif des principales étapes de l'évaluation de l'activité antibactérienne.

1.3.2.1.1. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été soumis à une analyse de la variance (ANOVA) à un niveau de probabilité de 5%. Nous avons comparé l'activité antibactérienne des six extraits. En effet, la variation de l'activité antibactérienne en termes de diamètres d'inhibition est en fonction des extraits étudiés et de la souche bactérienne.

Afin d'approfondir les comparaisons des moyennes un second test a été réalisé (NEWMAN-KEULS) au seuil de signification de 5 %.

1.3.2.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) en milieu solide

Dans cette étude la CMI est déterminée par la méthode des micros dilutions en milieu solide. Cette méthode permet la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) à partir d'une gamme de concentration d'extrait dans le milieu de culture. La gamme de concentration des extraits végétaux a été préparée dans des tubes à essai par la méthode de dilution de deux en deux ($1/2$, $1/4$, $1/6$, $1/8$) (OSSOU *et al.*, 2004), à partir d'une solution mère avec un volume initial de 2 ml.

Pour cela nous avons préparé une série de dilutions de nos extraits allant de $1/2$ à $1/8$ et nous avons suivi les mêmes étapes décrites précédemment (Figure 13).

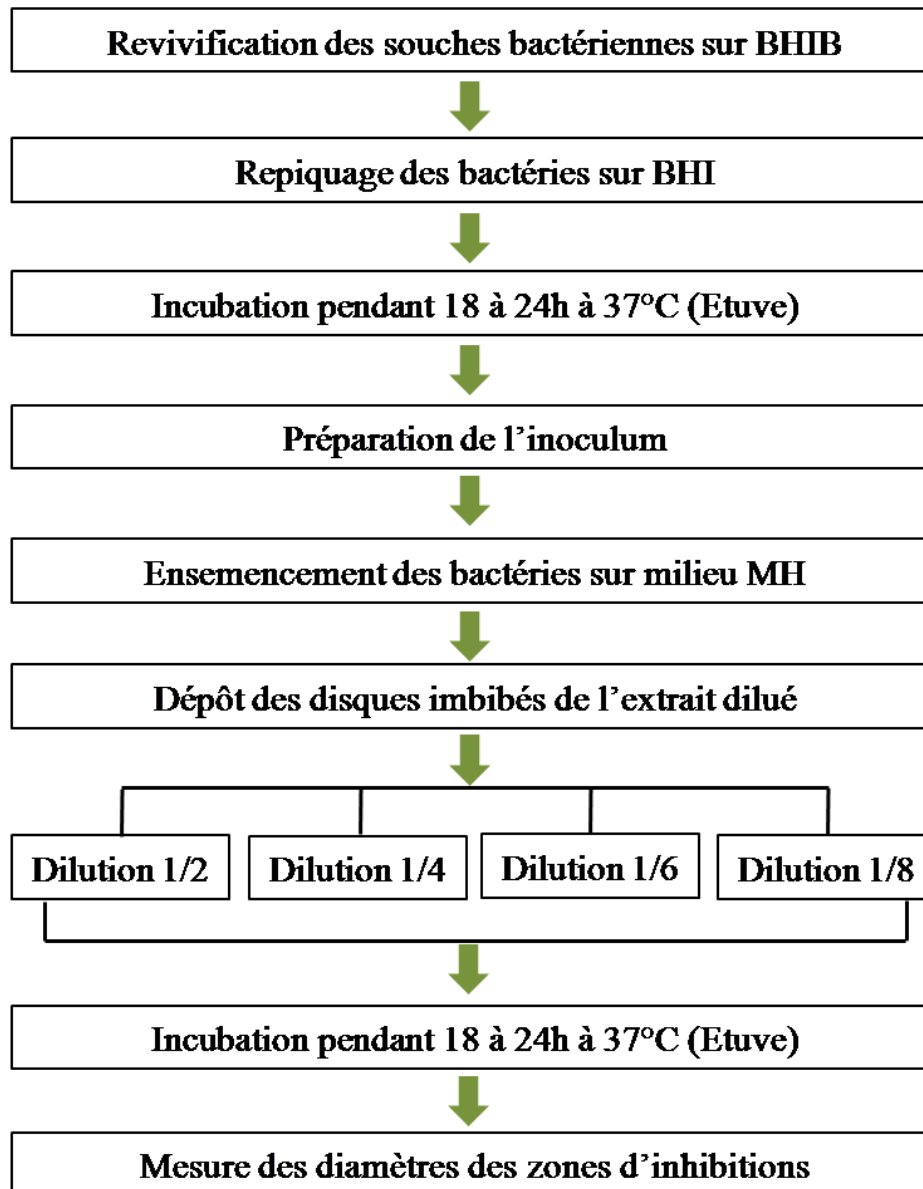


Figure 13 : schéma récapitulatif des principales étapes de la CMI sur milieu solide.

1.3.2.3. Analyse statistique

Les résultats obtenus lors de la détermination des CMI ont été soumis à une analyse de la variance via le test ANOVA à un niveau de probabilité de 5% afin de réaliser une comparaison entre l'activité antibactérienne des extraits à différentes concentrations obtenue vis-à-vis de chaque souche. Un test complémentaire de comparaison des moyennes (NEWMAN-KEULS) a été réalisé, au seuil de signification 5 %.

1.3.3. Evaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire

L'inflammation c'est un processus qui se produit en réponse à des agressions physiques (choc thermique), chimiques ou infectieuses. Elle est accompagnée de douleur, rougeur, chaleur, une augmentation de la perméabilité vasculaire, la dénaturation des protéines et la destruction des membranes cellulaires (LEELAPRAKASH et MOHAN DASS, 2011).

Le modèle de la dénaturation de l'ovalbumine a été choisi pour évaluer les propriétés anti-inflammatoires *in vitro* de nos extraits durant cette étude. Le principe de cette technique est basé sur la capacité des différents extraits à empêcher la dénaturation thermique de l'ovalbumine.

Cette activité a été réalisée selon le protocole de CHANDRA et ses collaborateurs (2012) avec quelques modifications apportées par nos soins (Figure 14) :

Un volume de 1 ml de solution d'ovalbumine à 2% a été mélangé avec un volume de 1 ml de chaque extrait à différentes concentrations.

L'ensemble a été incubé pendant 5 min à 72°C et les absorbances ont été mesurées à 660 nm.

Le spectrophotomètre a été réglé avec un blanc constitué d'eau distillée.

Le contrôle est préparé en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée.

L'aspirine a été utilisée comme standard et testé dans les mêmes conditions.

➤ Calcul du pourcentage d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine a été calculé comme suit (BOUHLALI *et al.*, 2016):

$$\% I = (AbsC - AbsT / AbsC) \times 100$$

Où :

Abs C : absorbance du contrôle.

Abs T : absorbance du test.

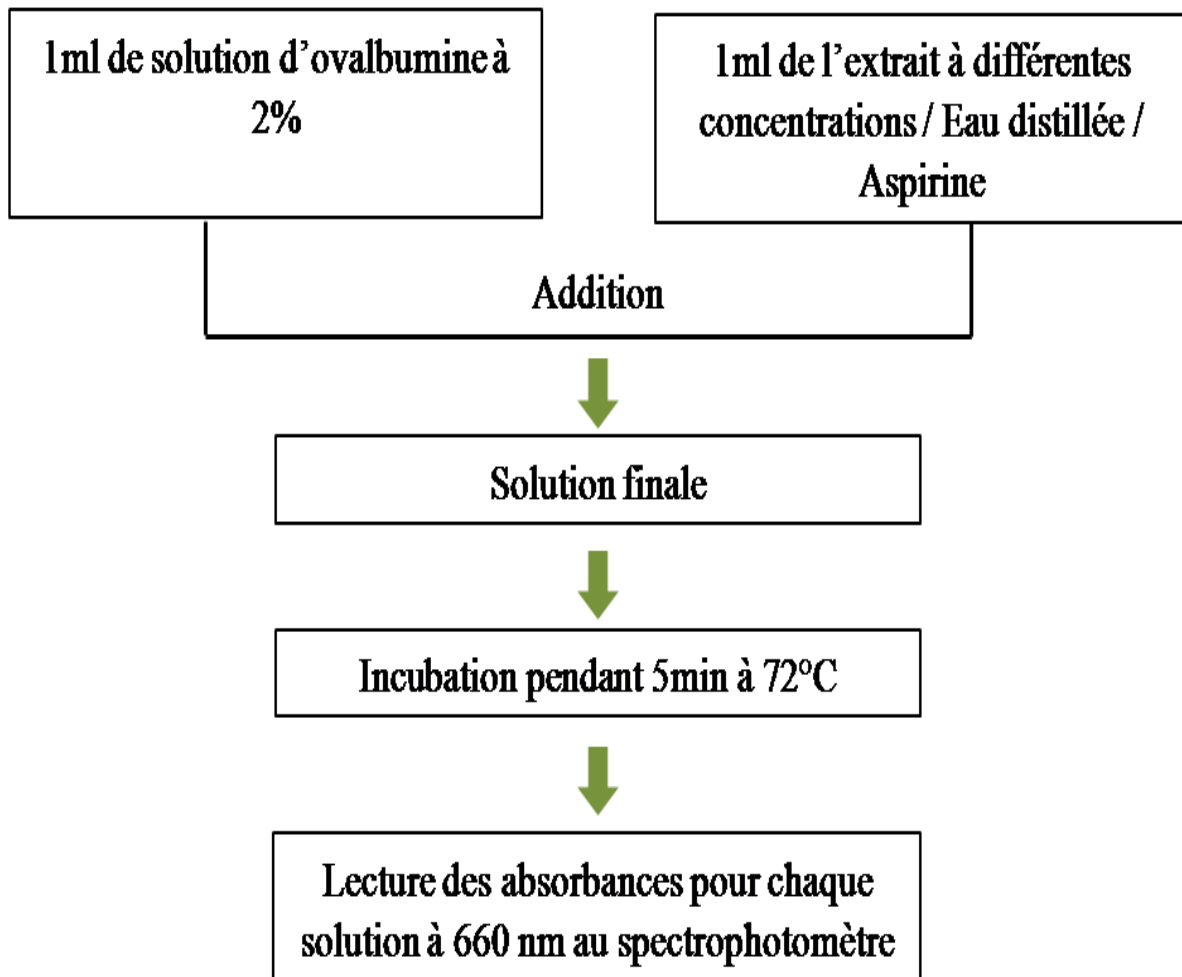


Figure 14 : schéma récapitulatif des étapes du protocole de l'activité anti-inflammatoire.



Résultats et discussions

3. Résultats et discussions

3.1. Evaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne

3.1.1. Résultats de l'activité antibactérienne testée par la méthode de diffusion des disques sur milieu solide

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 de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antibactérienne des extraits s'expliquent par les variations de leurs compositions chimiques. Comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait a une activité antibactérienne si son diamètre de zone d'inhibition est supérieur à 9 mm (PONCE *et al.*, 2003).

L'activité antibactérienne des extraits des feuilles de l'oléastre à savoir OLS1, OLS2 et OLS3 pour les extraits de l'année 2017 et OLR1, OLR2 et OLR3 pour les extraits de l'année 2018, a été évalué contre quatre souches bactériennes, qui sont *S. aureus* LGA 251, *S. aureus* FRI 361, *B. cereus* ATCC 10876 et *E. faecalis* ATCC 49453. Les résultats du test de sensibilité bactérienne aux extraits sont regroupés dans le tableau IV. Les valeurs indiquées sont les moyennes de six mesures qui incluent le diamètre du disque qui est de 6 mm. Pour établir l'efficacité d'un extrait végétal brut, PONCE et collaborateurs (2003), ont défini l'échelle suivante:

- $D < 8\text{mm}$: Souches résistante.
- $9\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm}$: Souches sensible.
- $15\text{mm} \leq D \leq 19\text{mm}$: Souches très sensible.
- $D > 20\text{ mm}$: Souches extrêmes sensible.

Le Classement des bactéries se fait dans l'une des catégories : sensible ou résistante.

Tableau IV: Moyennes des diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne obtenus par les différents extraits bruts étudiés (en mm).

Chl/Extraits	Chl	Extrait OLS 1	Extrait OLS 2	Extrait OLS 3	Extrait OLR 1	Extrait OLR 2	Extrait OLR 3
<i>S.aureus</i> LGA 251	27.166±0.166	7.666±0.333	7.5±0.223	7±0	7±0	7±0	7.666±0.333
	27.5±0.223	7.666±0.333	7±0	7.333±0.21	7±0	8.166±0.401	9.333±0.333
	27.333±0.21	7.666±0.21	7.5±0.223	7±0	7.5±0.223	7.5±0.223	7.5±0.223
<i>S.aureus</i> FRI 361	27±0	14±0	9.5±0.223	10.333±0.21	11±0.447	9.833±0.166	11.833±0.166
	27.166±0.166	11.666±0.21	10.166±0.401	10.5±0.223	11.833±0.401	10.833±0.307	10.833±0.401
	27.5±0.233	11.666±0.21	10.5±0.223	11±0.365	10.5±0.223	10.333±0.21	11±0.447
<i>B.cereus</i> ATCC 10876	29.5±0.223	8.666±0.333	7±0	7.5±0.223	9.333±0.333	7±0	7±0
	28.333±0.21	7.5±0.223	7±0	7±0	7.333±0.21	7±0	7.166±0.166
	29.666±0.21	8.166±0.166	7±0	7.166±0.166	7.5±0.223	7±0	7.166±0.166
<i>E.faecalis</i> ATCC 49453	31±0.365	7±0	7.5±0.223	7±0	7±0	7.166±0.166	7.166±0.166
	31.666±0.21	7±0	7.5±0.223	7.333±0.21	7±0	7±0	7.333±0.21
	31.333±0.21	7.5±0.223	7.333±0.21	7.333±0.21	7.333±0.21	7.333±0.21	7±0

3.1.1.1. Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis *Staphylococcus aureus* LGA 251

Au vu des résultats exprimés dans le tableau IV on a constaté que *S. aureus* LGA 251 présente une faible sensibilité vis-à-vis des différents extraits, avec des moyennes comprises entre 7 ± 0 mm et 7.666 ± 0.333 mm pour les extraits de l'année 2017 et des moyennes allant de 7 ± 0 mm jusqu'à 9.333 ± 0.333 mm pour les extraits de l'année 2018 (figure 15).

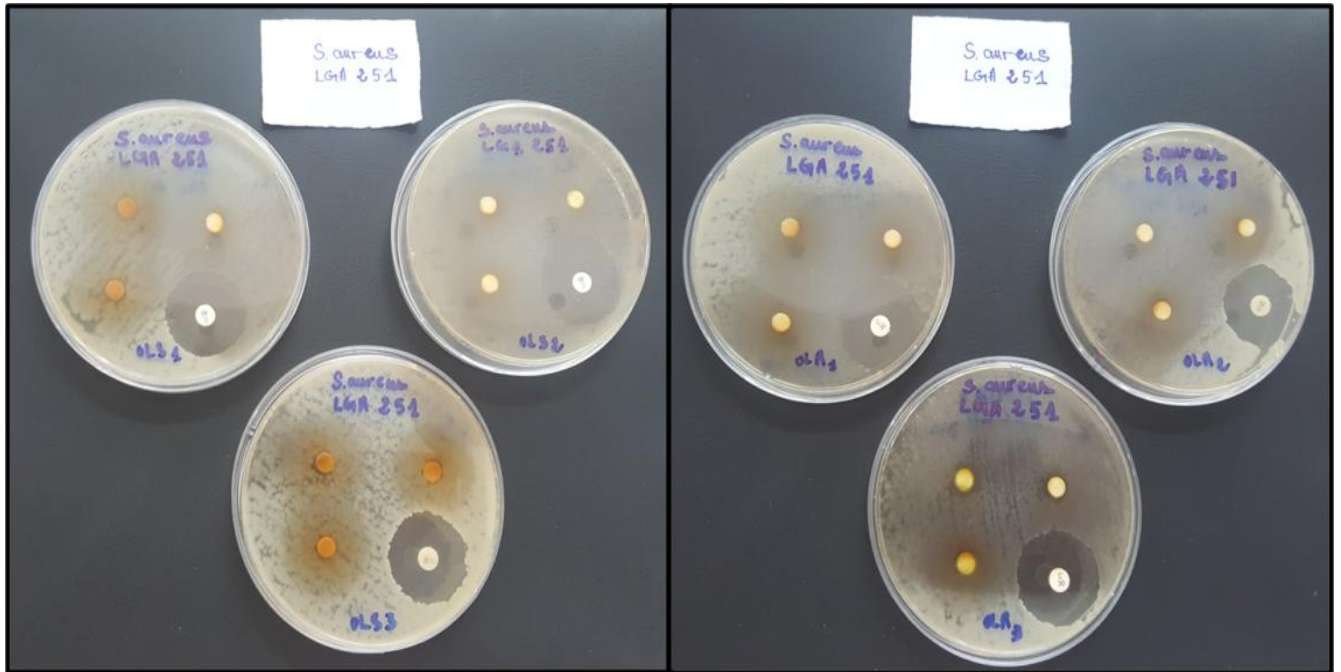


Figure 15 : effets des extraits sur *S. aureus* LGA 251.

3.1.1.2. Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis *Staphylococcus aureus* FRI 361

Selon les résultats représentés sur le tableau IV, l'activité antibactérienne la plus élevée des extraits bruts des feuilles d'oléastre a été enregistrée avec la souche *S. aureus* FRI 361 avec des moyennes allant de 9.5 ± 0.233 mm jusqu'à 14 ± 0 (Figure 16).

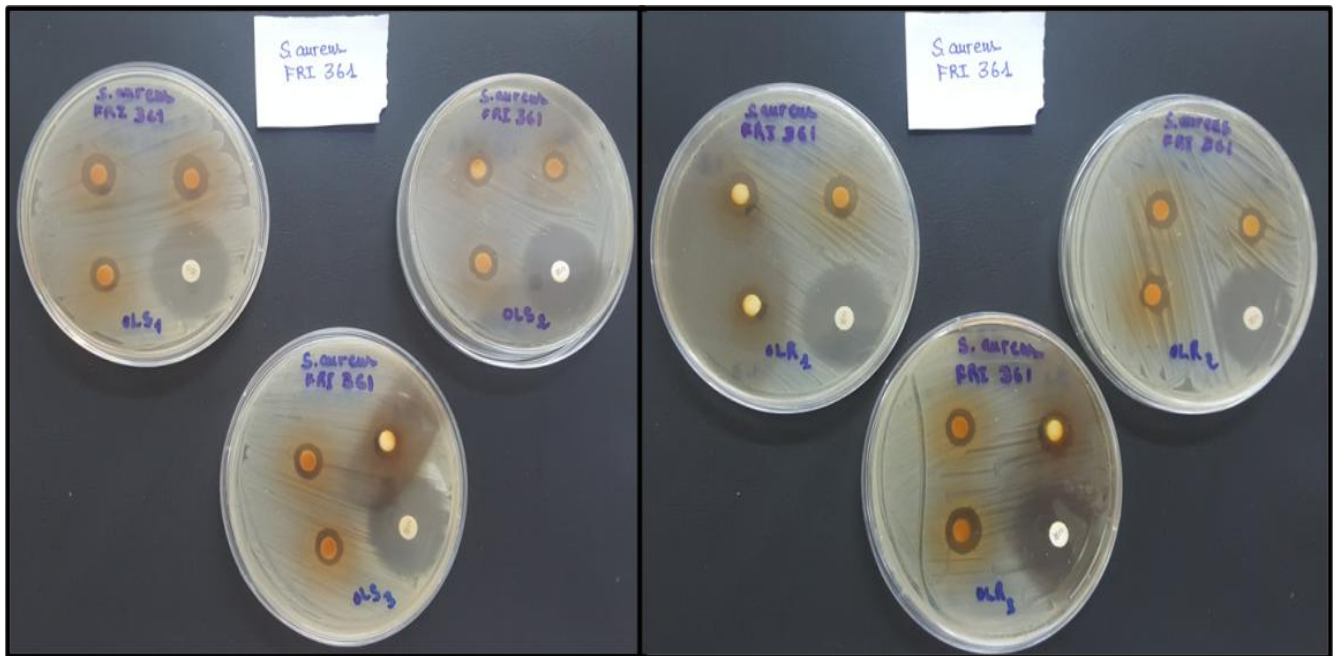


Figure 16 : effets des extraits sur *S. aureus* FRI 361.

3.1.1.3. Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis *Bacillus cereus* ATCC 10876

Les résultats présentés dans le tableau IV révèle une faible activité des extraits vis-à-vis de *B. cereus* ATCC 10876 avec des valeurs comprises entre 7 ± 0 mm et 8.666 ± 0.333 mm pour les extraits de l'année 2017 et entre 7 ± 0 mm et 9.333 ± 0.333 mm pour les extraits de l'année 2018 (Figure17).

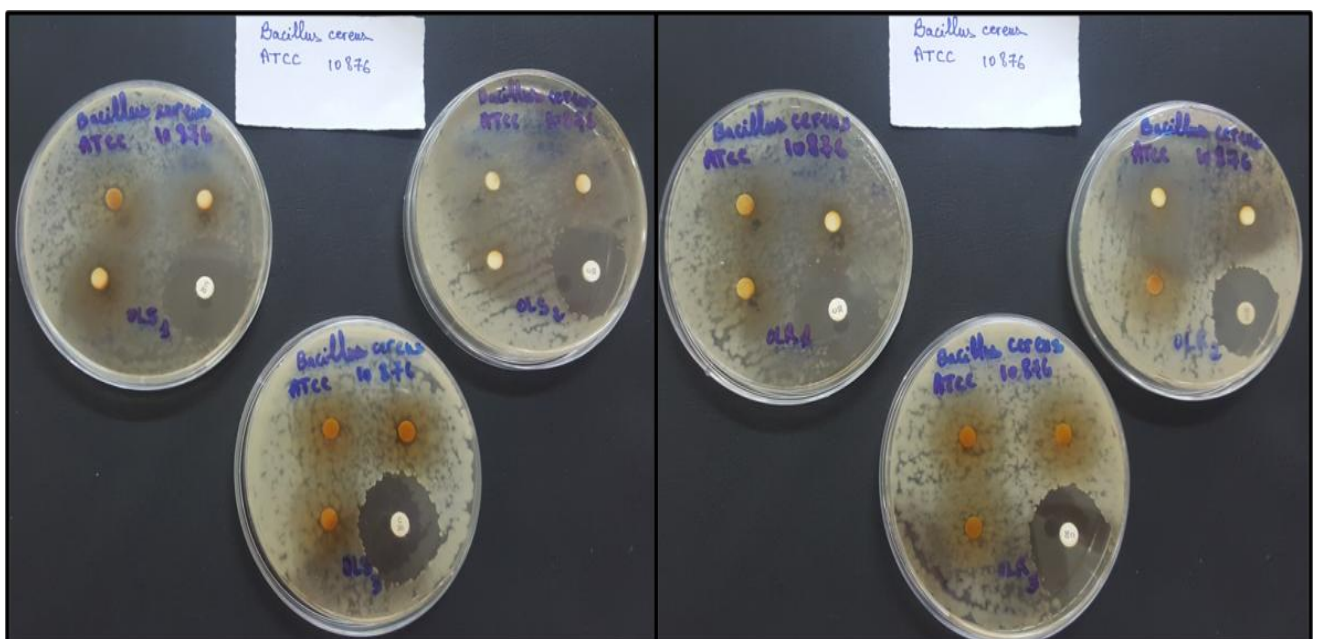


Figure 17 : effets des extraits sur *B. cereus* ATCC 10876.

3.1.1.4. Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis *Enterococcus faecalis* ATCC 49453

D’après le tableau IV, c’est *E. faecalis* ATCC 49453 qui s’est avérée résistante face aux différents extraits. Les valeurs qui ont été enregistrées n’ont pas dépassées 7.5 ± 0.223 mm pour les extraits des deux années.

3.1.1.5. Analyse statistique

Les valeurs reprises au niveau du tableau IV sont les moyennes de trois essais indépendants. L’analyse de ces données montre que les différences des moyennes des diamètres des zones d’inhibition des différents extraits sur les différentes souches testées sont très hautement significatives avec une probabilité de $P= 0,00$ (Annexe 03, 04, 05 et 06).

Le test de NEWMAN-KEULS, au seuil de signification 5%, a classé les extraits appliqués dans le même groupe A pour les résultats obtenus sur chaque souche (Tableau V et tableau VI) sauf pour la souche *S. aureus* FRI 361 dont les extraits ont été classés dans trois groupes (A, B et AB) avec l’extrait OLS1 qui est le plus efficace avec une moyenne de 12.35 mm (Tableau V). Il est classé de ce fait dans le groupe B.

Tableau V : test de comparaison des moyennes (NEWMAN-KEULS) des diamètres des zones d’inhibition des extraits végétaux vis-à-vis de *S. aureus* FRI 361 et *S. aureus* LGA 251.

***S. aureus* FRI 361**

	Groupe	Moyenne
Niveau OLS2	A	10,06
Niveau OLR2	A	10,33
Niveau OLS3	A	10,61
Niveau OLR1	AB	11,11
Niveau OLR3	AB	11,22
Niveau OLS1	B	12,35
Niveau Chlo		27,22

***S. aureus* LGA 251**

	Groupe	Moyenne
Niveau OLS3	A	7,11
Niveau OLR1	A	7,17
Niveau OLS2	A	7,33
Niveau OLR2	A	7,56
Niveau OLS1	A	7,71
Niveau OLR3	A	8,17
Niveau Chlo		27,33

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

***E. faecalis* ATCC 49453**

	Groupe	Moyenne
Niveau OLR1	A	7,11
Niveau OLR2	A	7,17
Niveau OLR3	A	7,17
Niveau OLS1	A	7,18
Niveau OLS3	A	7,22
Niveau OLS2	A	7,44
Niveau Chlo		31,33

***B. cereus* ATCC 10876**

	Groupe	Moyenne
Niveau OLR2	A	7,00
Niveau OLS2	A	7,00
Niveau OLR3	A	7,11
Niveau OLS3	A	7,22
Niveau OLR1	A	8,06
Niveau OLS1	A	8,12
Niveau Chlo		29,17

3.1.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) en milieu solide

Après la mise en évidence de l'activité antibactérienne de nos extraits bruts par la méthode des disques, nous avons essayé de déterminer les concentrations minimales inhibitrices CMI relatives aux extraits. Le tableau IV indique les résultats obtenus lors de cette opération.

ALIGIANNIS et ses collaborateurs (2001) ont proposés une classification des extraits du matériel végétal sur la base des résultats des CMI, comme suit : – forte inhibition : CMI inférieure à 500 µg/ml ; – inhibition modérée : CMI varie de 600 µg/ml à 1 500 µg/ml ; – faible inhibition : CMI supérieure à 1 600 µg/ml.

Tableau VII : les résultats des CMI des extraits de l'oléastre.

Extraits	Dilutions (µg/ml)	<i>S.aureus</i> LGA 251	<i>S.aureus</i> FRI 361	<i>B.cereus</i> ATCC 10876	<i>E.faecalis</i> ATCC 49453	
OLS	OLS 1	47250	-	-	+	-
		23620	-	+	-	+
		15750	-	+	+	+
		11810	+	+	+	+
	OLS 2	40580	-	-	-	-
		20290	-	+	+	-
		13530	+	+	+	-
		10140	+	+	+	+
	OLS 3	53580	-	-	-	-
		26790	-	+	+	+
		17860	+	+	+	+
		13400	+	+	+	+
OLR	OLR 1	49910	+	+	+	-
		24960	+	-	-	+
		16640	-	-	+	+
		12480	+	+	+	+
	OLR 2	52750	-	-	+	-
		26370	+	+	+	-
		17580	+	+	+	+
		13190	+	+	+	+
	OLR 3	55660	-	-	-	-
		27830	+	+	+	+
		18550	-	+	+	+
		13920	+	+	+	+

Symboles : + : croissance

- : Inhibition de la croissance

D'après les résultats rapportés dans le tableau VII, les valeurs des CMI enregistrées oscillent entre 13530 µg/ml et 53580 µg/ml pour les extraits de l'année 2017 et entre 16640 µg/ml et 55660 µg/ml pour les extraits de l'année 2018 et ce pour les quatre souches bactériennes testées (Figure 18 et figure 19). La CMI la plus faible (13530 µg/ml) a été enregistrée sur la souche *E. faecalis* ATCC 49453.

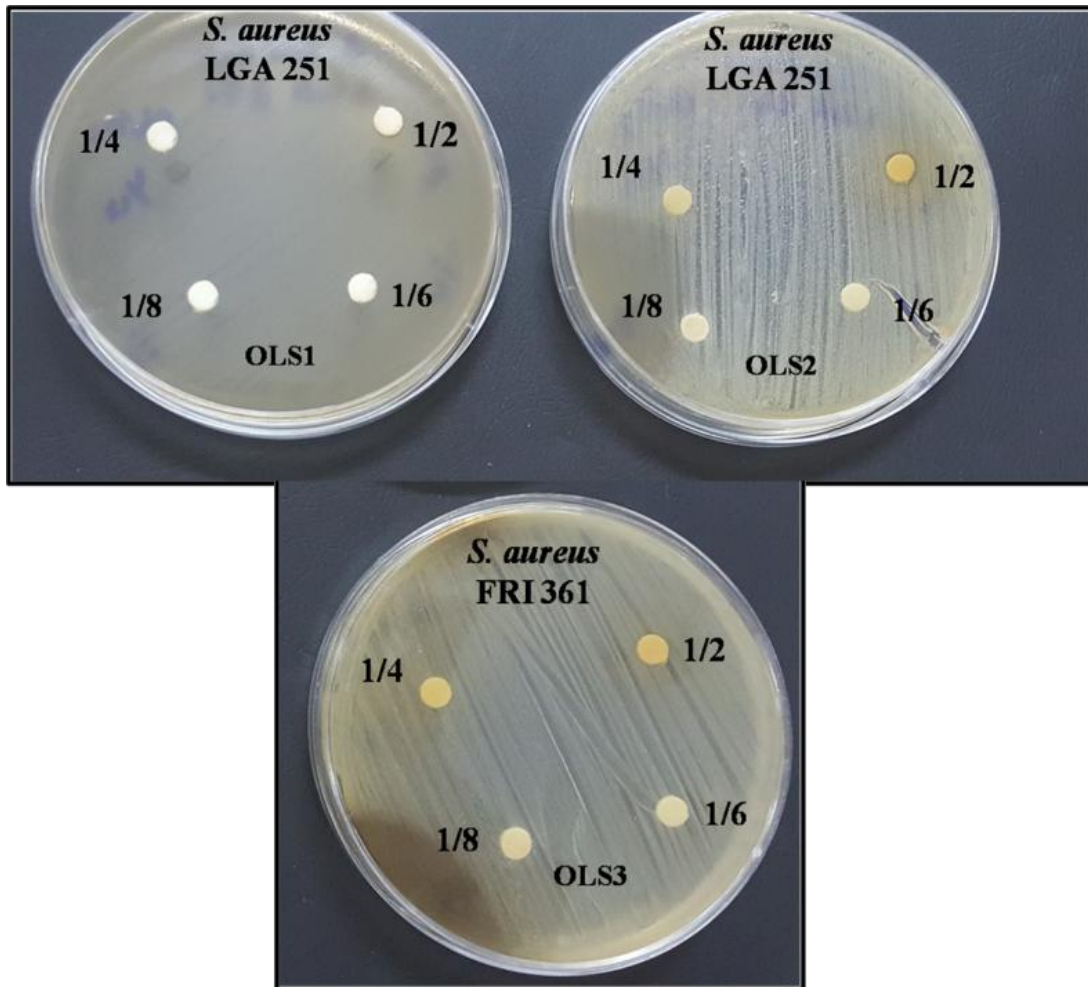


Figure 18 : résultats des tests des CMI sur quelques souches testées.

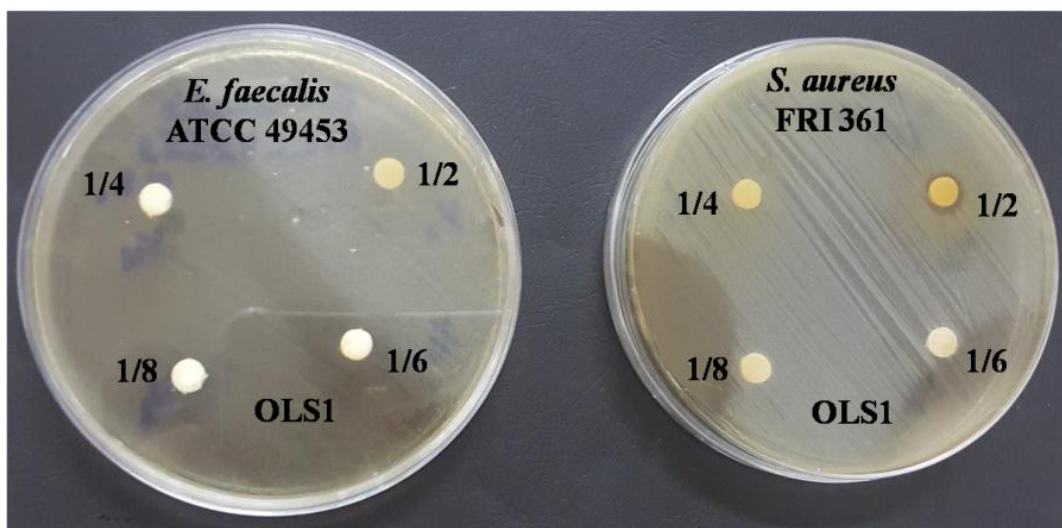


Figure 19 : résultats des tests des CMI sur quelques souches testées.

Au vu des résultats précédents et sur la base de l'échelle donnée par ALIGINANIS et ses collègues (2001), on déduit que nos extraits présentent une faible capacité d'inhibition sur les souches testées. Cependant, il est à noter qu'à la concentration de 50000 µg/ml, qui correspond à environ la moitié de la concentration des solutions mères des extraits, le pouvoir inhibiteur des extraits actifs a sensiblement diminué, ce qui signifie que l'activité antibactérienne des extraits de l'oléastre est proportionnelle à la concentration en substances bioactives présentes dans les extraits. La croissance bactérienne diminue avec l'augmentation de la concentration d'extrait et plus les CMI sont faibles plus l'activité antibactérienne des extraits est meilleure.

3.1.2.1. Analyse statistique

Il ressort de l'analyse de la variance des résultats enregistrés pour les CMI que la variabilité est significative avec une probabilité de $P=0,00$ ($P < 0,05$) (Annexe 07, 08, 09 et 10). Suite au test NEWMAN-KEULS, les extraits ont été répartis dans différents groupes homogènes et ce en fonction des souches. L'analyse statistique des résultats obtenus sur *B. cereus* ATCC 10876 a mené à la classification des extraits dans quatre groupes différents (A, B, C et BC) dont l'extrait OLS3 1/2 qui a été classé dans le groupe C avec la moyenne la plus élevée qui est de 7.67 mm (Tableau VIII). Les extraits OLS1 1/2 et OLS1 1/4 ont été classés dans le groupe C avec la moyenne de 8 mm pour les deux souches de *S. aureus* (Tableau IX). Les résultats obtenus sur la souche *E. faecalis* 49453 ont été répartis sur deux groupes (A et B) et l'extrait OLR1 1/2 s'est avéré le plus performant avec une moyenne de 7 mm (Tableau VIII).

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

***B. cereus* ATCC 10876**

	Groupe	Moyenne
Niveau OLR3 1/4	A	0,00
Niveau OLR3 1/8	A	0,00
Niveau OLR3 1/6	A	0,00
Niveau OLS1 1/2	A	0,00
Niveau OLS1 1/8	A	0,00
Niveau OLS2 1/8	A	0,00
Niveau OLS2 1/4	A	0,00
Niveau OLS3 1/4	A	0,00
Niveau OLS3 1/6	A	0,00
Niveau OLR2 1/8	A	0,00
Niveau OLS2 1/6	A	0,00
Niveau OLS1 1/6	A	0,00
Niveau OLR2 1/2	A	0,00
Niveau OLR1 1/2	A	0,00
Niveau OLR2 1/6	A	0,00
Niveau OLR1 1/6	A	0,00
Niveau OLR1 1/8	A	0,00
Niveau OLR2 1/4	A	0,00
Niveau OLS3 1/8	A	0,00
Niveau OLR1 1/4	B	3,50
Niveau OLS2 1/2	BC	4,67
Niveau OLS1 1/4	BC	5,00
Niveau OLR3 1/2	C	7,00
Niveau OLS3 1/2	C	7,67

***E. faecalis* ATCC 49453**

	Groupe	Moyenne
Niveau OLR3 1/4	A	0,00
Niveau OLS3 1/4	A	0,00
Niveau OLS2 1/8	A	0,00
Niveau OLR3 1/8	A	0,00
Niveau OLR3 1/6	A	0,00
Niveau OLS1 1/4	A	0,00
Niveau OLR2 1/8	A	0,00
Niveau OLS3 1/6	A	0,00
Niveau OLS1 1/6	A	0,00
Niveau OLS1 1/8	A	0,00
Niveau OLR1 1/8	A	0,00
Niveau OLR2 1/6	A	0,00
Niveau OLR1 1/6	A	0,00
Niveau OLR1 1/4	A	0,00
Niveau OLS3 1/8	A	0,00
Niveau OLS2 1/2	B	5,83
Niveau OLS2 1/4	B	5,83
Niveau OLS2 1/6	B	5,83
Niveau OLS1 1/2	B	7,00
Niveau OLR2 1/4	B	7,00
Niveau OLR2 1/2	B	7,00
Niveau OLS3 1/2	B	7,00
Niveau OLR3 1/2	B	7,00
Niveau OLR1 1/2	B	7,00

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

***S. aureus* LGA 251**

	Groupe	Moyenne
Niveau OLR3 1/4	A	0,00
Niveau OLS3 1/6	A	0,00
Niveau OLS2 1/8	A	0,00
Niveau OLS2 1/6	A	0,00
Niveau OLR2 1/8	A	0,00
Niveau OLR1 1/2	A	0,00
Niveau OLR3 1/8	A	0,00
Niveau OLS1 1/8	A	0,00
Niveau OLR1 1/4	A	0,00
Niveau OLR1 1/8	A	0,00
Niveau OLR2 1/6	A	0,00
Niveau OLR2 1/4	A	0,00
Niveau OLS3 1/8	A	0,00
Niveau OLR3 1/2	B	4,67
Niveau OLS1 1/2	C	7,00
Niveau OLS2 1/2	C	7,00
Niveau OLS2 1/4	C	7,00
Niveau OLS3 1/2	C	7,00
Niveau OLR1 1/6	C	7,00
Niveau OLR2 1/2	C	7,00
Niveau OLR3 1/6	C	7,00
Niveau OLS3 1/4	C	7,67
Niveau OLS1 1/6	C	8,00
Niveau OLS1 1/4	C	8,00

***S. aureus* FRI 361**

	Groupe	Moyenne
Niveau OLR3 1/4	A	0,00
Niveau OLR3 1/8	A	0,00
Niveau OLR3 1/6	A	0,00
Niveau OLS2 1/8	A	0,00
Niveau OLS1 1/8	A	0,00
Niveau OLS3 1/4	A	0,00
Niveau OLR1 1/8	A	0,00
Niveau OLS3 1/6	A	0,00
Niveau OLR2 1/6	A	0,00
Niveau OLR2 1/8	A	0,00
Niveau OLS1 1/4	A	0,00
Niveau OLS1 1/6	A	0,00
Niveau OLR2 1/4	A	0,00
Niveau OLS2 1/6	A	0,00
Niveau OLS2 1/4	A	0,00
Niveau OLR1 1/2	A	0,00
Niveau OLS3 1/8	A	0,00
Niveau OLS3 1/2	B	3,50
Niveau OLR1 1/6	C	7,00
Niveau OLR1 1/4	C	7,00
Niveau OLR2 1/2	C	7,00
Niveau OLS2 1/2	C	7,00
Niveau OLR3 1/2	C	7,00
Niveau OLS1 1/2	C	8,00

Sur l'ensemble du travail, il est clair que l'activité antibactérienne de nos extraits reste inférieure à celle de l'antibiotique de référence: le chloramphénicol. Cependant, ces extraits exercent une activité antibactérienne moindre dans la mesure où ils ne sont pas des produits purs mais des extraits bruts.

Selon MAIMOONA (2011), les polyphénols, les flavonoïdes et les tannins ont suscité un intérêt considérable en raison de leur large spectre de la diversité de leurs effets biologiques (antioxydant, anti-inflammatoire, vasorelaxant, antimicrobien, antiviral, anticancéreux, antimutagène). On peut supposer que l'activité inhibitrice, qui s'est manifestée à travers les zones d'inhibition obtenues lors de notre travail, est due à la présence de ce type de composés qui sont habituellement présents chez l'olivier cultivé et qui peuvent être présent

chez l'olivier sauvage. La présence des polyphénols dans les feuilles de l'oléastre a été démontrée par GACIOUI (2014) ce qui renforce notre hypothèse.

Il a été rapporté dans la littérature scientifique que les extraits des feuilles de l'olivier sont dotés de propriétés biologiques notamment l'activité antibactérienne. Cela a été démontré par DJENANE et ses collaborateurs (2012) en analysant l'effet antibactérien des extraits des feuilles d'olivier de la variété *azerradj* sur différentes souches bactériennes en particulier *S. aureus* qui s'est montré particulièrement sensible avec un diamètre de zone d'inhibition avoisinant 31 mm. Ces résultats ne concordent pas avec ceux qu'on a obtenus. Par ailleurs, BERKANI et ses collègues (2017) signalent que les extraits d'*Olea europaea* L ont une activité antibactérienne modérée.

Cependant l'effet antibactérien limité qu'on a obtenu peut s'expliquer, par la méthode d'extraction. En effet, l'action antibactérienne est étroitement liée à la composition de l'extrait végétal brut. Elle est proportionnelle au constituant majoritaire. Dans ce contexte, AISSAOUI *et al.*, (2009) ont observé une différence de l'effet antibactérien des différents extraits de *Salvadora persica* en fonction de la méthode et du solvant d'extraction. Comme il a également été confirmé par THANGARAJ et ses collègues (2000) l'activité d'une substance végétale dépend de plusieurs facteurs dont le mode d'extraction et la concentration en principes actifs.

Les résultats qu'on a obtenus sont variables et ce en fonction des souches et des extraits et de leurs concentrations en molécules bioactives en fonction de l'année 2017 ou 2018. Le comportement d'un germe vis-à-vis d'un agent antibactérien diffère selon sa composition chimique. Ceci a été confirmé par les conclusions de CUSHNIE (2003) qui affirme que chaque composé agit différemment sur les microorganismes. C'est-à-dire, qu'un composé peut avoir une action très importante sur un germe et une action moindre, voire même nulle sur un autre.

3.2. Evaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire

Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits éthanoliques des feuilles de l'oléastre, nous avons utilisé le test de l'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine (Figure 20). Les résultats obtenus ont été ensuite comparés à ceux obtenus dans les mêmes conditions pour l'anti-inflammatoire commerciale l'aspirine.

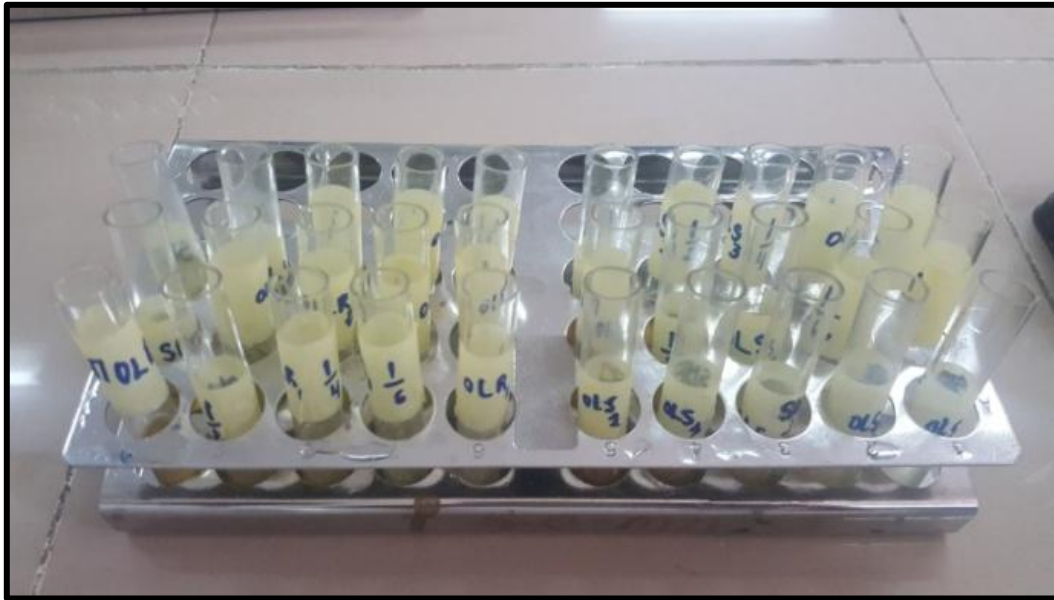


Figure 20 : préparation des solutions extrait-ovalbumine.

Les tableaux X et XI indiquent les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine en fonctions des différentes concentrations des extraits et ils sont également illustrés dans les figures 21 et 22. Les concentrations D1, D2, D3, D4 et D5 correspondent à $1/18$, $1/20$, $1/22$, $1/24$ et $1/26$ respectivement pour chaque extrait.

Tableau X : pourcentages d'inhibition de la dénaturation d'ovalbumine à différentes concentrations des extraits éthanoliques des feuilles de l'oléastre de l'année 2017.

	1\18	1\20	1\22	1\24	1\26
Dilutions	D1	D2	D3	D4	D5
% OLS 1	0	0	0	0	26,26
% OLS 2	0	0	0	0	41,41
% OLS 3	0	0	0	0	16,34

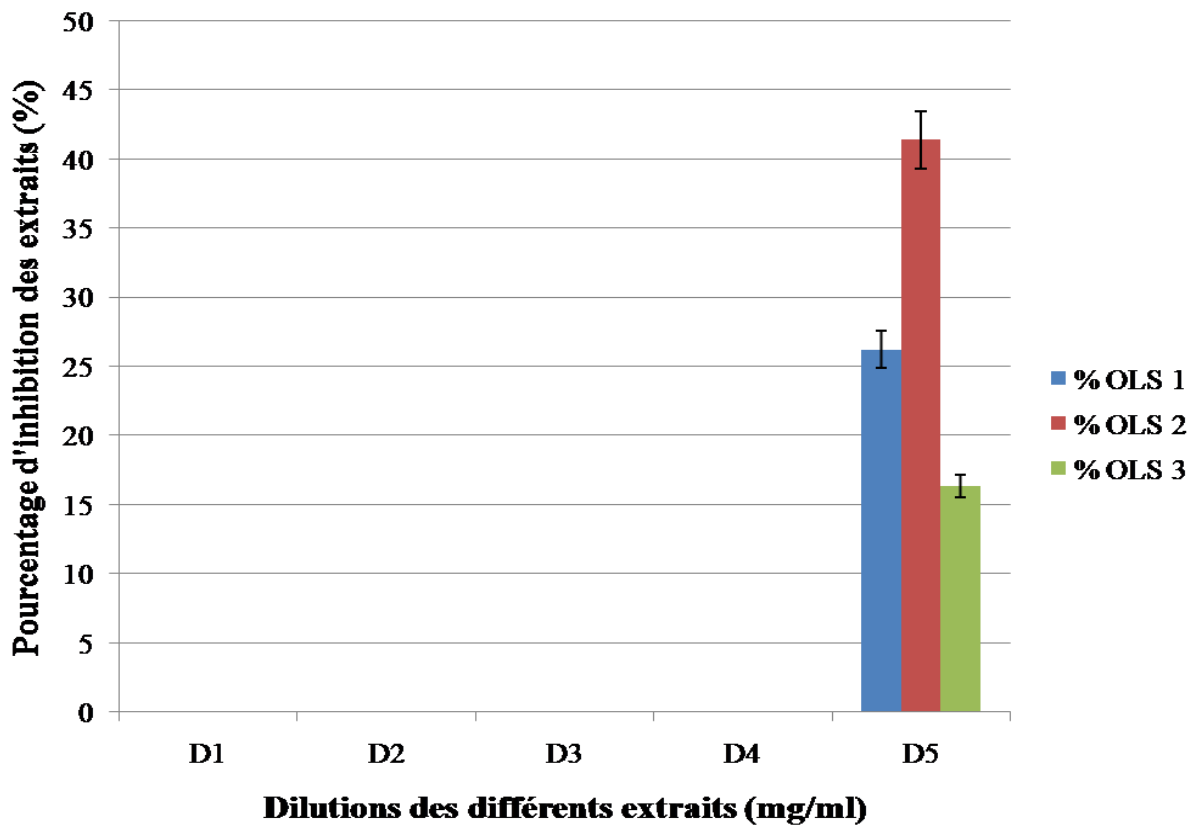


Figure 21 : pourcentages d'inhibition de la dénaturation d'ovalbumine à différentes concentrations des extraits éthanoliques des feuilles de l'oléastre de l'année 2017.

D'après la figure 21, il ressort que l'effet inhibiteur des extraits s'est manifesté qu'à la concentration D5 de chaque extrait avec un taux d'inhibition ne dépassant pas les 45%. Le

taux le plus élevé a été enregistré avec l'extrait OLS2 qui est de 41.41% et le taux le plus bas a été enregistré avec l'extrait OLS3 avec environ 17%.

Tableau XI : pourcentages d'inhibition de la dénaturation d'ovalbumine à différentes concentrations des extraits éthanoliques des feuilles de l'oléastre de l'année 2018.

	1\18	1\20	1\22	1\24	1\26
Dilutions	D1	D2	D3	D4	D5
% OLR 1	0	0	0	9,64	32,97
% OLR 2	0	0	0	0	14,14
% OLR 3	0	0	0	0	33

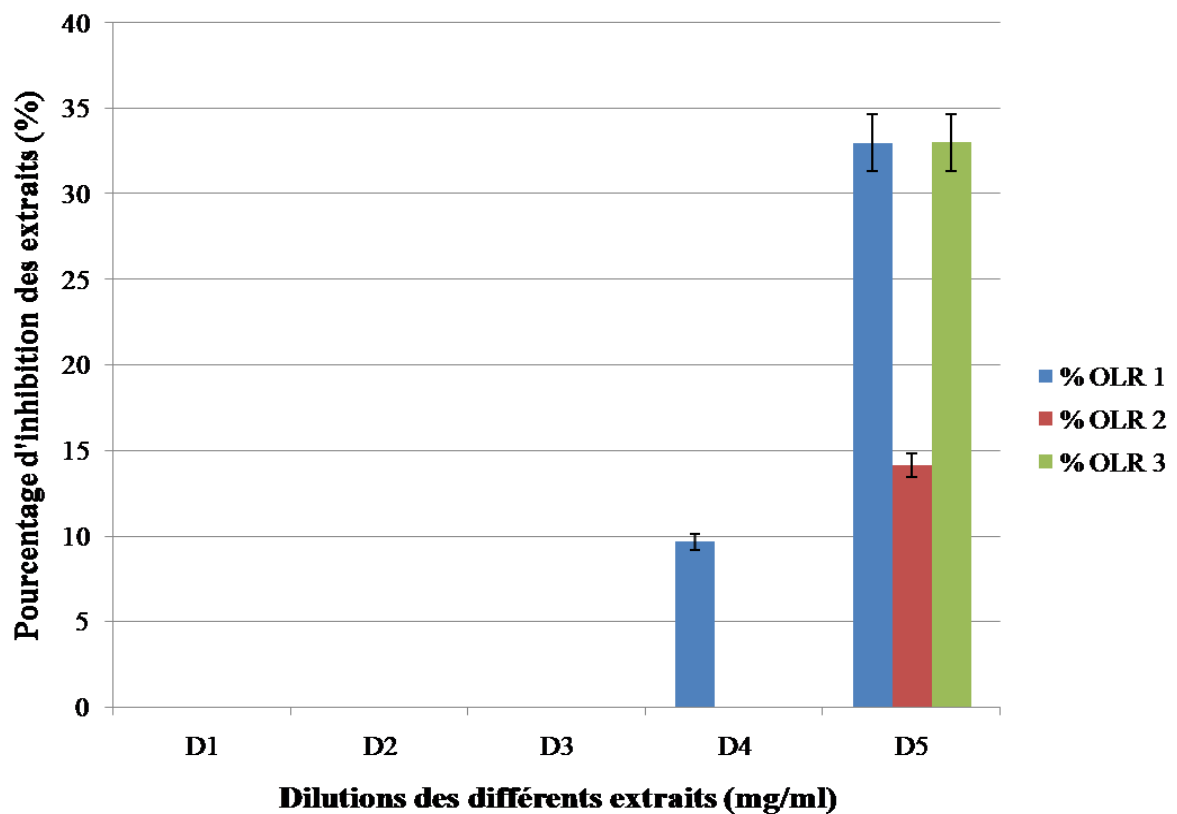


Figure 22 : pourcentages d'inhibition de la dénaturation d'ovalbumine à différentes concentrations des extraits éthanoliques des feuilles de l'oléastre de l'année 2018.

A partir de la figure 22 on constate qu'OLR1 est le seul extrait qui présente un effet inhibiteur à la dose D4 avec un pourcentage qui reste très faible à savoir 9,64 %, et à la dose D5 il est au même niveau qu'OLR3 avec un pourcentage avoisinant 33 %.

Les taux d'inhibition obtenus à différentes concentrations des extraits de l'oléastre des deux années sont représentés dans la figure 23.

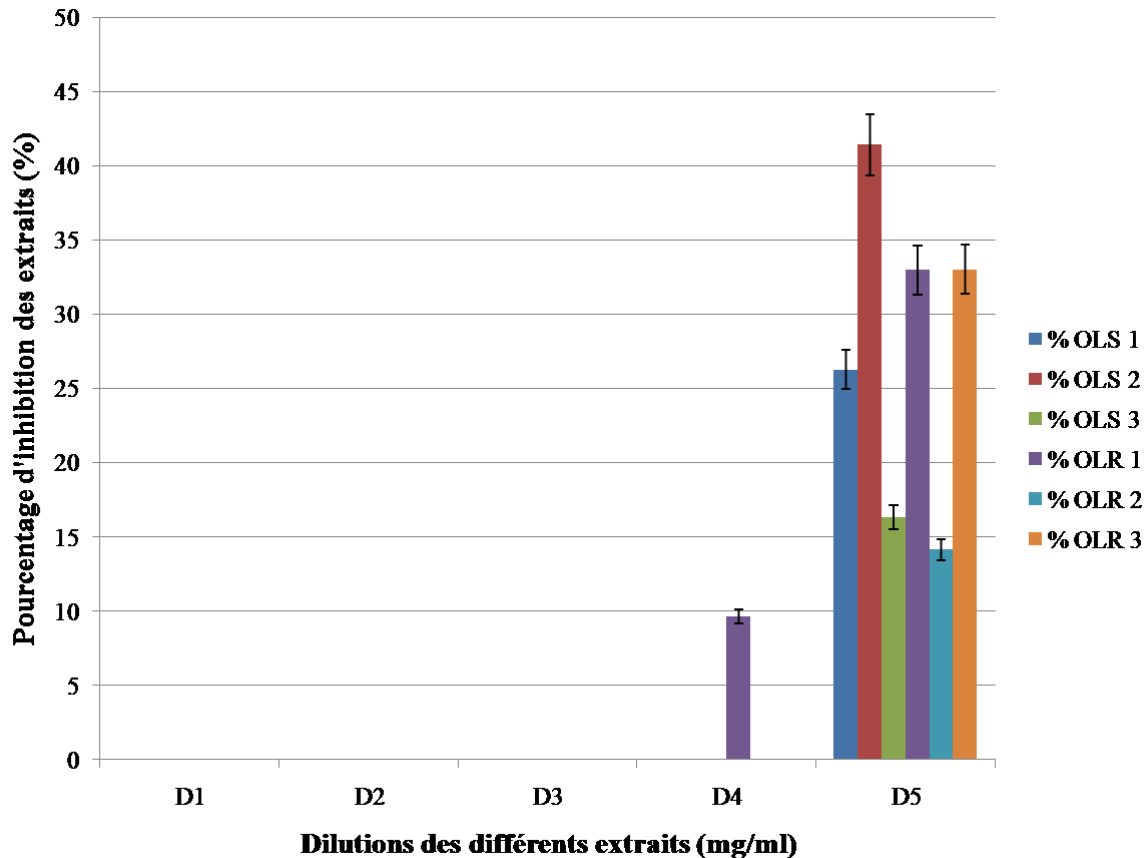


Figure 23: comparaison des pourcentages d'inhibition de la dénaturation d'ovalbumine à différentes concentrations des extraits éthanoliques des feuilles de l'oléastre des deux années 2017 et 2018.

A partir de la figure 23, il apparaît que le taux le plus élevé est obtenu en utilisant l'extrait OLS2 à la concentration D5 qui correspond à 1/26 de la concentration de la solution mère et qui équivaut à 7,78 mg/ml. Toutefois OLR1 est le seul extrait à avoir manifesté un effet anti-dénaturant à la dose D4 qui correspond à 1/24 qui équivaut 9,05 mg/ml.

Au vu des résultats des taux d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine à différentes concentrations des extraits éthanoliques des feuilles de l'oléastre, on constate que le taux d'inhibition est inversement proportionnel à la concentration. En d'autres termes

l'effet anti dénaturant des extraits augmente avec la diminution des concentrations contrairement aux taux d'inhibition obtenus avec l'aspirine (Figure 24) qui augmentent proportionnellement avec l'augmentation des concentrations jusqu'à atteindre 94,765 % avec la dose C8 qui équivaut à 400 µg/ml. Ces résultats coïncident avec les résultats de WILLIAMS et *al.*,(2008), selon lesquels l'activité anti dénaturante, des composés naturels isolés à partir des plantes, est plus importante lorsque la concentration est faible.

Selon AREZKI et *al.*,(2017) la diminution de l'effet, des extraits éthanoliques avec l'augmentation de la concentration, pourrait impliquer un effet antagoniste des composés minoritaires qu'ils contiennent : parmi leurs composants, certains exerceraient un effet opposé à d'autres se manifestant lorsque leur concentration est élevée, d'un autre part elle pourrait être liée à la formation d'agrégats suite à la forte interaction entre l'albumine et certains composés (provoquent la précipitation de l'albumine).

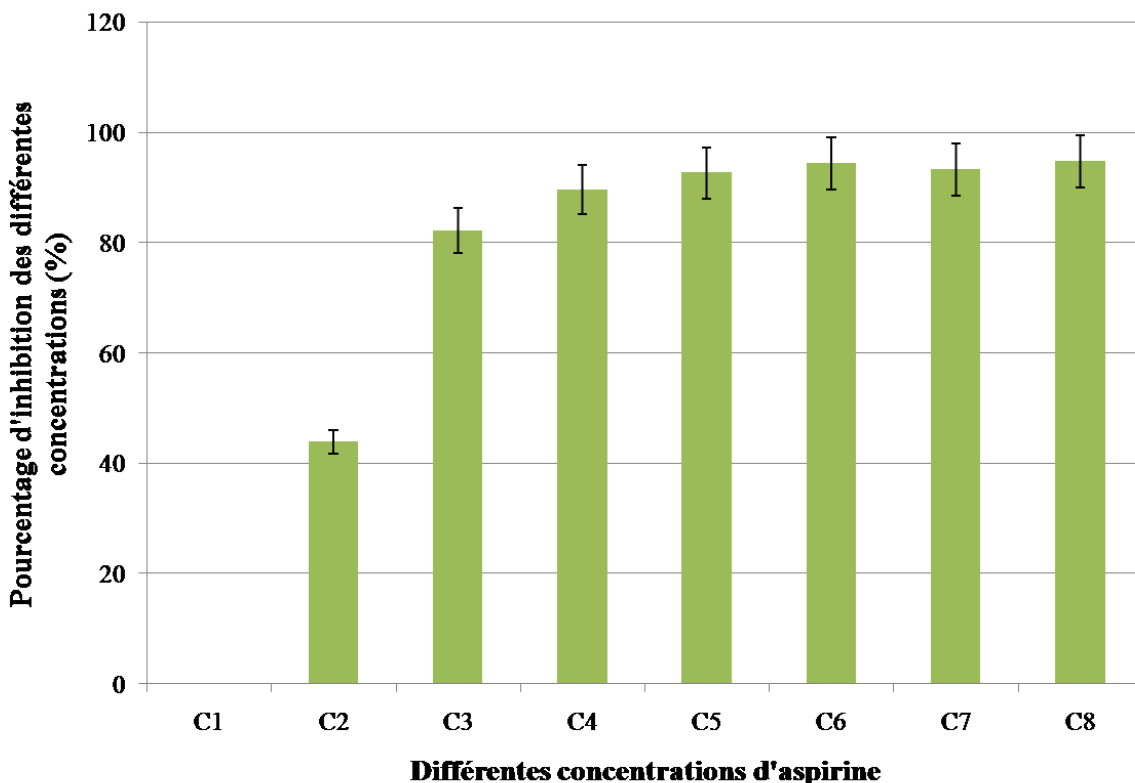


Figure 24 : pourcentages d'inhibition de la dénaturation thermique de l'ovalbumine en présence de l'aspirine.

Dans une étude récente, il a été rapporté que les extraits des feuilles d'*O. europaea* L sont dotés de propriétés anti-inflammatoires après avoir été appliqués sur des souris

présentant une inflammation aiguë (DEGHDEGH *et al.*, 2017). L'activité anti-inflammatoire des extraits de la même espèce a été évaluée par LAKACHE (2016) et les extraits utilisés ont plus ou moins donné une inhibition de l'œdème par rapport au témoin. Par ailleurs, ARAQAS (2013) a obtenu des résultats intéressants puisqu'il a été constaté que l'extrait diminue l'inflammation de presque la moitié (45%) dès le premier test réalisé après 3h d'injection alors que l'indométacine n'inhibe qu'avec 19% seulement.

Le test de l'activité anti-inflammatoire indique que nos extraits exercent un pouvoir anti-inflammatoire dose-dépendant, avec une activité plus significative pour les concentrations les plus basses.

La dénaturation protéique, *in vivo*, peut être la cause de l'apparition d'auto-antigènes dans certaines maladies arthritiques. Les agents possédant des propriétés protectives contre la dénaturation protéique, seraient de bons candidats pour le développement de nouvelles molécules anti-inflammatoires (CHANDRA *et al.*, 2012). Il est donc toujours important de trouver de nouvelle source de molécules bioactives avec des propriétés anti-inflammatoires aussi faibles soient-elles.

L'ensemble des résultats de cette étude montre une variabilité entre les extraits d'une même année ainsi qu'une différence en comparant les résultats des deux années 2017 et 2018. Il est à retenir que la variation des résultats pourrait être attribuée à l'origine géographique de la plante, à la technique d'extraction, aux facteurs climatiques, mais également à la période de cueillette de la matière végétale et la partie de la plante étudiée (SMITH *et al.*, 2005).



Conclusion

Dans le but de déterminer de nouveaux agents naturels antibactériens et anti-inflammatoires et de valoriser la flore algérienne, nous nous sommes intéressés à l'étude des propriétés biologiques des extraits des feuilles de l'oléastre, une plante appartenant à la famille des Oleaceae et qui est réputée pour son utilisation fréquente dans la médecine traditionnelle. Les extraits éthanoliques ont été obtenus à partir des feuilles récoltées en deux années 2017 et 2018. En premier lieu, l'étude de l'activité antibactérienne de nos extraits végétaux a révélé une activité modérée, se traduisant par des diamètres des zones d'inhibition et des valeurs de CMI obtenues, (7 à 14 mm ; 13530 à 55660 µg/ml) en fonction des souches bactériennes testées. Elle est plus prononcée chez *S. aureus* FRI 361 où on a enregistré la moyenne maximale des diamètres des zones d'inhibition, qui est de 14 mm. En second lieu, le potentiel anti-inflammatoire de nos extraits bruts a été évalué par leur capacité à inhiber la dénaturation thermique de l'ovalbumine, qui s'est avérée moyennement efficace et ce avec des taux d'inhibition qui sont inversement proportionnel à la concentration.

Cependant, malgré leurs importances, ces résultats restent partiels et d'autres travaux sur cette plante s'imposent aux niveaux pharmacologiques et chimiques, il serait intéressant à l'avenir:

- D'utiliser d'autres méthodes d'extraction avec différents solvants tels que l'éther de pétrole, l'acétone et autres.
- D'étudier d'autres propriétés biologiques de cette plante, à savoir les propriétés antioxydantes, antivirales et autres.
- D'évaluer l'activité antibactérienne des extraits de cette plante vis-à-vis d'autres germes.
- D'approfondir l'investigation phytochimique et biologique sur cette plante afin d'isoler les molécules responsables des activités observées, ce qui permettra d'élargir l'arsenal thérapeutique des médicaments à base de plantes.
- D'effectuer une étude de l'effet de synergie avec des extraits d'autres plantes notamment des huiles essentielles.



Références bibliographique

- AIT YOUSSEF M. (2006).** Plantes médicinales de Kabylie. Ed. IBIS Press, Paris, 349p.
- ALCANTARA J. M. and REY P. J. (2003).** Conflicting selection pressures on seed size: evolutionary ecology of fruit size in a bird-dispersed tree, *Olea europaea* L. *Journal of Evolutionary Biology.*, **16**, 1168–1176.
- ALIGIANNIS N., KALPOTZAKIS E., MITAKU S. and CHINOUE I. B. (2001).** Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, **49**, 4168-4170.
- AMOURETTI M. C. and COMET G. (1998).** Artisanat et matériaux : la place des matériaux dans l'histoire des techniques. *Cahiers d'histoire des techniques.*, **4**, 251 p.
- APARICIO M. and LUNA G. (2002).** Characterization of monovarietal virgin olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology.*, **104**, 614-637.
- ARAQAS H. (2013).** Extraction des composés phénoliques de feuilles d'olivier et étude de leurs activités biologiques. Mémoire de Master en sciences et techniques : Chimie des Molécules Bio Actives. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Fès. 47p.
- AREZKI S. and ATOUI D. (2017).** Inhibition de la dénaturation de la sérulalbumine bovine par les huiles essentielles de Lavande et de Rue et les polyphénols de pépins de Pamplemousse. Mémoire de Master en sciences Biologiques. Université A. MIRA, Bejaia. 25p.
- ASSAOUI K. and MAAMRI. (2009).** Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait foliaire brut de *Salvadora persica* Lindl. Mémoire de Master en sciences Biologiques. Université Kasdi Merbah, Ouargla. 40p.
- AYSE K. U., ZUHAL G., KARSTEN S., DEMIREZER L. O. and ZEECK A. (2004).** Phytochemical and antimicrobial investigation of *Echium vulgare* growing in Turkey. *Biochemical-Systematics and Ecology.*, **32**, 833-836.
- BELARBI M., BENDIMERED S., SOUR S., SOUALEM Z., BAGHDAD C., HMIMED S., CHEMAT F. and VISIOLI F. (2011).** Oleaster oil positively modulates plasma lipids in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, **59**, 8667-8669.
- BENNANI-KABCHI N. (2000).** Effet thérapeutique des feuilles d'*Olea europea* var. *oleaster* sur le métabolisme glucido-lipidique chez le rat des sables (*Psammomys obesus*) obèse prédiabétique. *Annales Pharmaceutiques Françaises.*, **58**, 271-277.
- BERGOGNE-BEREZIN E. and DELLAMONICA P. (1995).** Antibiothérapie en pratique clinique. Ed. Masson, Paris, 486p.

- BERKANI I. E. and ZIAD A. E. (2015).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne de l'espèce *olea europaea* L. Mémoire de Master en sciences Biologiques. Université des Frères Mentouri, Constantine. 65p.
- BESNARD G. and BERVILLE A. (2000).** Multiple origins for Mediterranean olive (*Olea europaea* L. *subsp. europaea*) based upon mitochondrial DNA polymorphisms. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences Série III.*, **323**, 81-173.
- BEZANGER-BEAUQUESNE L., PINKAS M., TORK M. and TROTIN F. (1980).** Plantes médicinales des régions tempérées. Ed. Maloine S.A, Paris, 440p.
- BILLING J. and SHERMAN P. W. (1998).** Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like it Hot. *The Quarterly Review Biology.*, **73**, 3-49.
- BIYITI L. F., MEKOO D., TAMZE V. and AMVAM ZOLLO P. H. (2004).** Recherche de l'Activité Antibactérienne de Quatre Plantes Médicinales Camerounaises. *Pharmie. Médecine Traditionnelle. Afrique.*, **13**, 11-20.
- BOREL JP., MONBOISSE JC. and BELLON G. (1988).** Inflammation, collagène et radicaux libres oxygénés. *Médecine/sciences.*, **5**, 304-310.
- BOUAZIZ M., CHAMKHA M. and SAYADI S. (2004).** Comparative Study on Phenolic Content and Antioxidant Activity during Maturation of the Olive Cultivar Chemlali from Tunisia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, **52**, 5476-5481.
- BOUBY L. and TERRAL J. F. (2016).** Archéobiologie et agrobiodiversité de l'olivier : domestication et diffusion dans l'Ouest de la Méditerranée. *Options méditerranéennes.*, **118**, 17-27.
- BOUCHER CH., YVES D., CHAUX D. and NESTLE S. (2011).** Guide des arbres et arbustes de méditerranée. Ed. Delachaux, Paris, 291p.
- BOUDRIBILA M. (2004).** Les anciens Amazighs avant les phéniciens : Mode de vie et organisation sociale. *AWAL.* 29: 17-31.
- BOUHLALI E. D. T., SELLAM K., BAMMOU M., ALEM C. and FILALI-ZEHZOUTI Y. (2016).** *In vitro* Antioxidant and anti-inflammatory properties of selected Moroccan medicinal plants. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.*, **6 (5)**, 156-162.
- BOUKEF M. K. (1986).** Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne, médecine traditionnelle et pharmacopée. Ed. Agence de coopération culturelle et technique, Paris, 350p.
- CA-SFM. (2012).** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Société Française de Microbiologie.

- CHAMI F., CHAMI N., BENNIS S., BOUCHIKHI T. and REMMAL A. (2005).** Oregano and clove essential oils induce surface alteration of *saccharomyces cerevisiae*. *Phytotherapy Research.*, **19 (5)**, 405-408.
- CHANDRA S., CHATTERJEE P., DEY P. and BHATTACHARYA S. (2012).** Evaluation of *in vitro* anti inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.*, 178-180.
- CHARLES N. S., PETER A. W. and DEREK W. G. (2010).** Fundamentals of Inflammation. Ed. Cambridge University Press, Cambridge, 488p.
- CHATZISSAVIDIS C. (2002).** Study of boron toxicity in olive plants. Thèse de doctorat. School of Agriculture, Aristotle University, Thessaloniki, Greece. 379p.
- CHEVALIER A. (1948).** L'origine de l'Olivier cultivé et ses variations. *Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale.*, **28**, 1-25.
- CHIOLERO A., WÜRZNER G. and BURNIER M. (2000).** Les inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase de type 2: moins d'effets rénaux que les anti-inflammatoires non stéroïdiens classiques. *Néphrologie.*, **21(8)**, 425-430.
- CHOPRA I., O'NEILL AJ. and MILLER K. (2003).** The role of mutators in the emergence of antibiotic-resistant bacteria. *Drug Resistance Updates.*, **6**, 137-145.
- CLSI. (2010).** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 20th Informational Supplement M100-S20. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- COMTE H. (1990).** Le tour de l'olivier. Ed. Régine Vallée, Paris, 116p.
- CONDE C., DELROT S. and GEROS H. (2008).** Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening. *Journal of Plant Physiology.*, **165**, 1545- 1562.
- CONNOR D.J. (2005).** Adaption of olive (*Olea europaea* L.) to water-limited environments. *Australian Journal of Agricultural Research.*, **56**, 1181-1189.
- CRONQUIST A. (1981).** An integrated system of classification of flowering plants. Ed. Columbia University Press, New York, 1262p.
- CUSHNIE T. P., HAMILTON V. E. S. and LAMB AJ. (2003).** Assesment of the antimicrobial activity of selected flavonoïds and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiological Research.*, **158(4)**, 281-289.
- DAVIES JE. (1997).** Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. *Ciba Foundation Symposium.*, **207**, 15-27.

- DEGHDEGH F. Z., ABBACHI S. and BOUHARMA W. (2017).** Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* de l'extrait des feuilles d'*Olea europaea* L. Mémoire de Master en sciences Biologiques. Université des Frères Mentouri, Constantine. 50p.
- DICHIO B., XILOYANNIS C., ANGELOPOUTOS K., NUZZO V., BUFO S. A. and CELANO G. (2003).** Drought-induced variations of water relations parameters in *Olea europaea* L. *Plant and Soil.*, **257**, 381-389.
- DJENANE D., YANGÜELA J., DERRICHE F., BOUARAB L. and RONCALES P. (2012).** Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens ; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. *Nature & Technologie.*, **7**, 53-61.
- DORMAN H. J. and DEANS S. G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology.*, **88**, 308-316.
- DOVERI S. and BALDONI L. (2007).** Olive in Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants. Ed. C. Kole, **4: Fruits and Nuts**, 253-264.
- DUGAS A. J., CASTANEDA-ACOSTA J., BONIN G. C., PRICE K. L., FISCHER N. H. and WINSTON G.W. (2000).** Evaluation of the total peroxy radical-scavenging capacity of flavonoids: structure-activity relationships. *Journal of Natural Products.*, **63**, 27-31.
- DUMITRESCU O., DAUWALDER O., BOISSET S., REVERDY M. E., TRISTAN A. and VANDENESCH F. (2010).** Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*. *Med Sci.*, **26(11)**, 943-949.
- ELQAJ M., AHAMI A. and BELGHYTI D. (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.
- GACIOUI F., HADJ AMAR Z. and OUSSAID S. (2014).** Extraction, optimization and antioxidant activity of oleaster leaves polyphenols. *Nutrition & santé, SAN.*, **2**, 30-36.
- GARBACKI N., TITS M., ANGENOT L. and DAMAS J. (2004).** Inhibitory effects of proanthocyanidins from *Ribes nigrum* leaves on carrageen in acute inflammatory reactions induced in rats. *BMC Pharmacol.*, **4**, 25.
- GAZIANO J. M. and GIBSON C. M. (2006).** Potential for drug-drug interactions in patients taking analgesics for mild-to-moderate pain and low-dose aspirin for cardioprotection. *The American Journal of Cardiology.*, **97**, 23-39.
- GHEDIRA K. (2008).** L'olivier. *Phytothérapie.*, **6**, 83-89.

- GIMENO E., FIT M., LAMUELA-RAVENTCS R. M., CASTELLOTE A., COVAS M. and FARRE M. (2002).** Effect of ingestion of virgin olive oil on human low-density lipoprotein composition. *European Journal of Clinical Nutrition.*, **56**, 114-120.
- GOODYER J. (1959).** The greek herbal of Discorides. Ed. Hafner Publishing Company, New York, 701p.
- GRANT L., MCBEA D. E., FYFE L. and WARNOCK A. M. (2007).** A review of the biological and potential therapeutic actions of *Harpagophytum procumbens*. *Phytotherapy Research.*, **21**, 199–209.
- GREEN P.S. (2002).** A revision of *Olea* L. (*Oleaceae*). *Kew Bull.*, **57**, 91-140.
- GUALERZI C. O., BRANDI L., FABBRETTI A. and PON C. L. (2014).** Antibiotics: Targets, Mechanisms and Resistance. WILEY-VCH, Germany., 576p.
- HANNACHI H., BRETON C., MSALLEM M., BEN EL HADJ S., EL GAZZAH M. and BERVILLE A. (2010).** Genetic Relationships between Cultivated and Wild Olive Trees (*Olea europaea* L. var. *europaea* and var. *Sylvestris*) based on nuclear and chloroplast SSR Markers. *Natural Resources.*, **2**, 95-103.
- HANNACHI H., SOMMERLATTE H. and BRETON C. (2009).** Oleaster (var. *sylvestris*) and subsp. *Cuspidata* are suitable genetic resources for improvement of the olive (*Olea europaea* subsp. *europaea* var. *europaea*). *Genetic Resources and Crop Evolution.*, **56**, 393-403.
- JACOTOT B. (1996).** Huile d'olive et prévention. *Nutrition Clinique et Métabolisme.*, **10**, 75-95.
- KAYSER F. H., BIENZ K. A., ECKERT J. and ZINKERNAGEL R. M. (2005).** Medical Microbiology. Ed. Thieme, New York, 698p.
- KIM K. H., LEE E. N., PARK J. K., LEE J. R., KIM J. H., CHOI H. J., KIM B. S., LEE H. W., LEE K. S. and YOON S. (2012).** Curcumin Attenuates TNF- α -induced Expression of Intercellular Adhesion Molecule-1, Vascular Cell Adhesion Molecule-1 and Proinflammatory Cytokines in Human Endometriotic Stromal Cells. *Phytotherapy Research.*, **26**, 1037–1047.
- KOSTOVA I. and IOSSIFOVA T. (2007).** Chemical components of *Fraxinus* species. *Fitoterapia.*, **78**, 85–106.
- KUBO A., LUNDE C. S. and KUBO I. (1995).** Antimicrobial Activity of the Olive Oil Flavor Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, **43**, 1629-1633.
- LAKACHE Z. (2016).** Investigation d'activités biologiques de différents extraits de deux plantes médicinales Algériennes: *Olea europaea* L et *Crataegus azarolus*. Thèse de doctorat. L'Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger. 84p.

- LECLERC H., GAILLARD J-L. and SIMONET M. (1998).** Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Ed. Doin, Paris, 535p.
- LEELAPRAKASH G. and MOHAN DASS S. (2011).** *In vitro* anti-inflammatory activity of methanol extract of *Enicostemma axillare*. *International Journal of Drug Development & Research.*, **3 (3)**, 189-196.
- LOUSSERT R. and BROUSSE G. (1978).** L'olivier. Coll. Techniques agricoles et productions méditerranéennes. Ed. Maisonneuve et Larousse, Paris, 480p.
- MAILLARD P. (1975).** L'olivier. Ed. INVUFLEC, Paris, 147p.
- MAIMOONA A., NAEEM I., SADDIQA Z. and JAMEEL K. (2011).** A review on biological, nutraceutical and clinical aspects of French maritime pine bark extract. *Journal of Ethnopharmacology.*, **133 (2)**, 261-277.
- MARRASSINI C., ACEVEDO C., MINO J., FERRARO G. and GORZALCZANY S. (2010).** Evaluation of Antinociceptive, Anti inflammatory Activities and Phytochemical Analysis of Aerial Parts of *Urtica urens* L. *Phytotherapy Research.*, **24**, 1807-1812.
- MESROUK A. (1984).** Caractérisation et genèse des sols de la région de Tizi-Ouzou, Grande Kabylie, Algérie. Thèse de doctorat. 173p.
- MOHD NOR N. H., OTHMAN F., MOHD TOHIT E. R. and MD NOOR S. (2016).** Medicinal Herbals with Antiplatelet Properties Benefit in Coronary Atherothrombotic Diseases. *Hindawi Publishing Corporation.*
- MOREAUX S. (1999).** L'olivier. Ed. Actes Sud, Arles, 92p.
- MULAS M. and DEIDDA P. (1998).** Domestication of woody plants from Mediterranean maquis to promote crops for mountain lands. *Acta Horticulturae.*, **457**, 295-301.
- MUTHU C., AYYANAR M., RAJA N. and IGNACIMUTHU S. (2006).** Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine.*, **2(43)**, 1-10.
- NGUYEN V. T., MORANGE M. and BENSUADE O. (1989).** Protein denaturation during heat shock and related stress. *Escherichia coli* beta-galactosidase and *Photinus pyralis* luciferase inactivation in mouse cells. *Journal of Biological Chemistry.*, **264(18)**, 10487-10492.
- NORMAK B. H. and NORMAK S. (2002).** Evolution and spread of antibiotic resistance. *Journal of Internal Medicine.*, **252**, 91-106.
- OSMAN N. I., SIDIK N. J., AWAL A., ADAM N. A. M. and REZALI N. I. (2016).** *In vitro* xanthine oxidase and albumin denaturation inhibition assay of *Barringtonia racemosa* L.

and total phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in gouty arthritis. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology.*, **5** (4), 343-349.

OUSSOU K. R., KANKO C., GUESSEND N., YOLOU S., KOUKOUA G., DOSSO M., GUESSAN Y. T., FIGUEREDO G. and CHALCHAT J-C. (2004). Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire. *Comptes Rendus Chimie.*, **7**, 1081-1086.

PAGNOL J. (1996). L'olivier. Ed. AUBANEL, France, 180p.

PANSIOT F. P. and REBOUR H. (1961). Improvements in Olive Cultivation. Ed. FAO, Rome, 249p.

PONCE A. G., FRITZ R., DEL VALLE C. and ROURA S. I. (2003). Antimicrobial activity of oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Society of Food Science and Technology.*, **36**, 679-684.

RANKIN J. A. (2004). Biological mediators of acute inflammation. *AACN Clinical Issues.*, **15**, 3-17.

RAVELOMANANTSOA S. H. (2004). Les endophytes de *Eugenia jambolana* Lam (*Myrtaceae*): un modèle de relation plante-microorganismes. Université d'Antananarivo. Thèse. 87p.

RAYNOLD, 1976; GERARD, 1979 in ISSAOUN D and YAHIAOUI S. (2008). Variation du statut phosphaté dans la rhizosphère de l'olivier après apport d'engrais. Thèse d'ingénieur en science agronomiques. Université de Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. 79p.

RIOS J. and RECIO M. C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology.*, **100**, 80-84.

RIVAS-MARTINEZ S., GANDULLO GUTIERREZ J. M., ALLUE ANDRADE J. L., MONTERO DE BURGOS J. L. and GONZELEZ REBOLLAR J. L. (1987). Memoria del mapa de series de vegetación de España. 1:400.000. Ed. I.C.O.N.A, Madrid, 270p.

RUGINI E. and FEDELI E. (1990). Olive (*Olea europaea* L.) as an oilseed crop. *Biotechnology in Agriculture and Forestry, Legumes and Oil Seed Crops I.*, **10**, 593-641.

RUIZ-GARBAJOSA P., CANTON R., PINTADO V., COQUE T. M., WILLEMS R. and BAQUERO F. (2006). Genetic and phenotypic differences among *Enterococcus faecalis* clones from intestinal colonisation and invasive disease. *Clinical Microbiology and Infection.*, **12**, 1193-1198.

RUSLAN M. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature.*, **454**, 428-435.

SAVARESE T. M., STROHSNITTER W. C., LOW H. P., LIU Q., BAIK I., OKULICZ W., CHELMOW D. P., LAGIOU P., QUESENBERRY P. J., NOLLER K. L. and

- HSIEH C. C. (2007).** Correlation of umbilical cord blood hormones and growth factors with stem cell potential: implications for the prenatal origin of breast cancer hypothesis. *Breast Cancer Res.*, **9(3)**, 1-10.
- SHARIFIFAR F., MOSHAFI M.H., MANSOURI S.H., KHODASHENAS M. and KHOSHNOODI M. (2007).** *In vitro* evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control* 18: 800–805.
- SIDI MAMMAR, 2012 in LAIB A. and MEDBOUH S. (2016).** Impact de l'huile d'oléastre sur l'inflammation colique chez le rat de la souche Wistar. Mémoire de Master en sciences Biologiques. Université des Frères Mentouri, Constantine. 26p.
- SINGH S. B. and BARRETT J. F. (2006).** Empirical antibacterial drug discovery-foundation in natural products. *Biochemical Pharmacology.*, **71**, 1006-1015.
- SMITH R. L., COHEN S. M., DOULL J., FERON V. J., GOODMAN J. I., MARNETT L. J., PORTOGHESE P. S., WADDELL W. J., WAGNER B. M., HALL R. L., HIGLEY N. A., LUCAS-GAVIN C. and ADAMS T.B. (2005).** A procedure for the safety evaluation of natural flavor complexes used as ingredients in food: essential oils. *Food and Chemical Toxicology.*, **43**, 345–363.
- TAHRAOUI A., EL-HILALY J., ISRAILI Z. H. and LYOUSSI B. (2007).** Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). *Journal of Ethnopharmacol.*, **110**, 105-117.
- TERRAL J.F. and ARNOLD-SIMARD G. (1996).** Beginnings of olive cultivation in eastern Spain in relation to Holocene bioclimatic changes. *Quaternary Res.*, **46**, 176-85.
- THANGARAJ H. S., ADJEI O., ALLEN B. W., PORTAELS F., EVANS M. R. W., BANERJEE D. K. and WANSBROUGH-JONES M. H. (2000).** *In-vitro* activity of ciprofloxacin, sparfloxacin, ofloxacin, amikacin and rifampicin against Ghanaian isolates of *Mycobacterium ulcerans*. *Journal Antimicrobial Agents Chemotherapy.*, **45 (2)**, 231-233.
- TOUITOU Y. (2006).** Biochimie : structure des glucides et lipides. Ed. Université Pierre et Marie Curie, Paris, 48p.
- VECKA M., PROKES L., TVRZICKÁ E., KARPAS K., PERNICKÝ A., PFLEGER R. and VOTRUBA M. (2008).** Anti-inflammatory effect of flavonoids from Comfort-G and the changes in arachidonic acid metabolism. *Klin. Biochem. Metab.*, **16 (37)**, 27–32.

WAINSTEIN J., GANZ T., BOAZ M., BAR DAYAN Y., DOLEV E., KEREM Z. and MADAR Z. (2012). Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *Journal of Medicinal Food.*, **15**, 1-6.

WIELL B. and BATTEUX F. (2003). Immunologie et réactions inflammatoire. Ed. BOECK, Bruxelles, 310p.

WILLIAMS L. A. D., CONNAR A. O., LATORE L., DENNIS O., RINGER S., WHITTAKER J.A., CONRAD J., VOGLER B., ROSNER H. and KRAUS W. (2008). The in vitro Anti-denaturation Effects Induced by Natural Products and Non-steroidal Compounds in Heat Treated (Immunogenic) Bovine Serum Albumin is Proposed as a Screening Assay for the Detection of Anti-inflammatory Compounds, without the use of Animals, in the Early Stages of the Drug Discovery Process. *The West Indian Medical Journal.*, **57(4)**, 327- 331.



Annexes

Annexe 01 : composition (par litre) des milieux de culture utilisés.

Le milieu	Composition	Unité
Milieu Mueller-hinton (MH)	Infusion de viande de bœuf.....300	ml g
	Hydrolysate acide de caséine.....17.5	
	Amidon.....1.5	
	Agar agar.....17	
Bouillon Cœur cervelle (BHIB)	Proteose peptone.....10	g
	Infusion de cervelle veau.....12.5	
	Infusion de cœur boeuf.....5	
	Glucose.....2	
	Chlorure de sodium.....5	
	Hydrogénophosphate de sodium.....2.5	

Annexe 02 : préparation des milieux de culture utilisés.

Le milieu	Composition
Le milieu MH	-38 g de poudre de MH. -1 l d'eau distillée.
Le milieu BHIB	-37 g de poudre BHIB. -1 l d'eau distillée.
Le milieu BHI	-37 g de poudre BHIB. -15 g d'agar agar. -1 l d'eau distillée.

Annexe 03 : résultat de l'analyse des moyennes des diamètres des zones d'inhibition des extraits vis-à-vis *B. cereus* ATCC 10876.

	ddl	SC	CM	F	Proba
Extraits	7,00	7323,33	1046,19	2678,00	0,00
Var.résiduelle	118,00	46,10	0,39		
Total	125,00	7381,90			

Annexe 04 : résultat de l'analyse des moyennes des diamètres des zones d'inhibition des extraits vis-à-vis *E. faecalis* ATCC 49453.

	ddl	SC	CM	F	Proba
Extraits	7,00	8977,52	1282,50	6101,27	0,00
Var.résiduelle	118,00	24,80	0,21		
Total	125,00	9028,54			

Annexe 05 : résultat de l'analyse des moyennes des diamètres des zones d'inhibition des extraits vis-à-vis *S. aureus* LGA 251.

	ddl	SC	CM	F	Proba
Extraits	7,00	6083,25	869,04	2020,55	0,00
Var.résiduelle	118,00	50,75	0,43		
Total	125,00	6155,36			

Annexe 06 : résultat de l'analyse des moyennes des diamètres des zones d'inhibition des extraits vis-à-vis *S. aureus* FRI 361.

	ddl	SC	CM	F	Proba
Extraits	7,00	4146,61	592,37	821,34	0,00
Var.résiduelle	118,00	85,10	0,72		
Total	125,00	4232,48			

Annexe 07 : résultat de l'analyse des moyennes des CMI des extraits vis-à-vis *B. cereus* ATCC 10876.

	ddl	SC	CM	F	Proba
Extraits	24,00	807,16	33,63	18,51	0,00
Var.résiduelle	119,00	216,17	1,82		
Total	143,00	1023,64			

Annexe 08 : résultat de l'analyse des moyennes des CMI des extraits vis-à-vis *E. faecalis* ATCC 49453.

	ddl	SC	CM	F	Proba
Extraits	24,00	1491,44	62,14	60,37	0,00
Var.résiduelle	119,00	122,50	1,03		
Total	143,00	1615,35			

Annexe 09 : résultat de l'analyse des moyennes des CMI des extraits vis-à-vis *S. aureus*
LGA 251.

	ddl	SC	CM	F	Proba
Extraits	24,00	1814,22	75,59	134,93	0,00
Var.résiduelle	119,00	66,67	0,56		
Total	143,00	1883,28			

Annexe 10 : résultat de l'analyse des moyennes des CMI des extraits vis-à-vis *S. aureus*
FRI 361.

	ddl	SC	CM	F	Proba
Extraits	24,00	1386,94	57,79	93,56	0,00
Var.résiduelle	119,00	73,50	0,62		
Total	143,00	1461,30			

Résumé

Dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles, nous avons essayé dans cette étude de contribuer à la connaissance de certains effets biologiques des feuilles de l'olivier sauvage (*Olea europaea* var. *sylvestris*), qui est une plante spontanée à caractère médicinal. Les feuilles des mêmes sujets ont été récoltées dans la région de Tizi-Rached sur deux années 2017 et 2018. Afin d'évaluer leur pouvoir antibactérien et anti-inflammatoire, nous avons procédé à la préparation des extraits éthanoliques, qui ont été ensuite testés sur des souches bactériennes de référence à savoir : *S. aureus* FRI 361, *S. aureus* LGA 251, *B. cereus* ATCC 10876 et *E. faecalis* ATCC 49453, par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé. La détermination de la CMI de chaque extrait a également été réalisée. La moyenne des diamètres des zones d'inhibition la plus élevée a été enregistrée sur *S. aureus* FRI 361 (14 ± 0 mm). Par ailleurs, la souche *E. faecalis* ATCC 49453 s'est montrée plus résistante avec des diamètres ne dépassant pas 7.5 mm. Les valeurs des CMI oscillent entre 13530 µg/ml et 53580 µg/ml pour les extraits de l'année 2017 et entre 16640 µg/ml et 55660 µg/ml pour ceux de l'année 2018. On en conclue que nos extraits sont doués d'une activité antibactérienne modérée et ce pour tout nos extraits. Les extraits ont également fait l'objet d'un second test, qui consiste à évaluer leur activité anti-inflammatoire *in vitro*. A partir des résultats obtenus, nous constatons un effet anti-dénaturant d'une intensité moyenne avec des pourcentages atteignant 45% pour l'extrait le plus performant et aussi que le taux d'inhibition se manifeste à de faibles doses.

Mots clés : *Olea europaea* var. *sylvestris*, extrait éthanolique, activité antibactérienne, activité anti-inflammatoire, ovalbumine.

Summary

As part of the development of natural resources, we have tried in this study to contribute to the knowledge of some biological effects of leaves of wild olive (*Olea europaea* var., *Sylvestris*), which is a spontaneous plant with a medicinal character. The leaves of the same subjects were harvested in the Tizi-Rached region over two years in 2017 and 2018. In order to evaluate their antibacterial and anti-inflammatory properties, we proceeded to the preparation of the ethanolic extracts, which were then tested on reference bacterial strains namely: *S. aureus* FRI 361, *S. aureus* LGA 251, *B. cereus* ATCC 10876 and *E. faecalis* ATCC 49453, by the method of diffusion of disks in agar medium. The determination of the MIC of each extract was also performed. The average of the diameters of the zones of greatest inhibition was recorded on *S. aureus* FRI 361 (14 ± 0 mm). In addition, *E. faecalis* strain ATCC 49453 was more resistant with diameters not exceeding 7.5 mm. The MIC values range from 13530 µg / ml to 53580 µg / ml for the 2017 extracts and from 16640 µg / ml to 55660 µg / ml for the 2018 samples. We conclude that our extracts are gifted moderate antibacterial activity for all our extracts. The extracts were also subjected to a second test, which consists in evaluating their anti-inflammatory activity *in vitro*. From the results obtained, we find an anti-denaturing effect of average intensity with percentages reaching 45% for the best performing extract and also that the inhibition rate is manifested at low doses.

Key words: *Olea europaea* var. *sylvestris*, ethanolic extract, antibacterial activity, anti-inflammatory activity, ovalbumin