



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Departement de Biochimie & Microbiologie

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie
Spécialité : Biochimie de la nutrition

**Effets de l'origine géographique, de la saison
oleicole et de la maturation des olives sur les
polyphenols et les activités biologiques de
l'huile d'olive de Kabylie.**

Présenté par : **M^{elle}. Sarah TOUAT**

Soutenu le : 28 Novembre 2019

Devant le jury composé de :

D^r Ait Said S.	Maître de conférences A	Président, U.M.M.T.O.
D^r Bouazza B.	Maitre de conférences A	Promoteur, U.M.M.T.O.
D^r Lefsih K.	Maître de conférences B	Examineur, U.M.M.T.O.
D^r Bengana M.	Maître de conférences B	Examineur, U.M.M.T.O.

Année universitaire :2018/2019

Remerciements

Mes sincères remerciements s'adressent à mon directeur de recherche Dr BOUAZZA. B. Je vous remercie pour l'aide que vous m'avez accordée pour l'accomplissement de ce travail. Vous m'avez patiemment guidée en faisant prévaloir beaucoup de gentillesse. Je vous exprime ma profonde reconnaissance pour m'avoir initiée à la recherche, pour vos encouragements ainsi que vos conseils qui ont permis à ce travail d'aboutir. Votre rigueur scientifique et vos compétences étaient mon grand support.

Je tiens à exprimer ma gratitude et mes remerciements aux membres de jury pour avoir porté un intérêt à mon travail en acceptant de le juger.

J'exprime mes plus vifs remerciements envers tous les enseignants qui m'ont apporté du soutien durant mes études.

Je remercie également tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet.

Dédicaces

Je dédie ce travail

Aux êtres les plus chers : mes parents,

A mon père,

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils.

J'espère que ce travail sera à la hauteur de tes attentes.

A ma mère,

Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous MES CHERS PARENTS que je le dois, que Dieu vous garde.

A mon cher frère : Ghiles

A mes chères sœurs : Sofia et Sabrina

A tous **mes collègues** de travail de l'école « **Tamda Nouvelle** » ainsi qu'à tous **mes ami(e)s** et tous ceux et toutes celles que j'ai involontairement omis de citer et qui n'en demeurent pas moins chers.

Résumé

Introduction. L'huile d'olive (HO) est largement utilisée dans la médecine traditionnelle sous différentes formes, en raison de sa richesse en substances anti-oxydantes qui sont impliquées dans la lutte contre le stress oxydatif qui prédispose l'organisme humain à des maladies inflammatoires notamment l'asthme. La richesse de l'HO en métabolites secondaires peut être affectée par plusieurs facteurs tels que le climat (la pluviométrie, la température), la saison de récolte, la variété et la maturation des olives.

Objectifs. i)-examiner l'effet de l'origine géographique, la saison oléicole et le stade de maturation des olives sur la composition de l'HO en polyphénols et en flavonoïdes, et ii) évaluer leurs activités anti-oxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne.

Méthodes. Neufs échantillons de l'HO de la variété Chemlal provenant de différentes localités de la région de Kabylie (notamment au niveau de Boukhalfa, Mechtras, Ouaguenoun et Ifri Ouzellaguen) ont été étudiés. L'extraction des composés phénoliques de l'HO a été réalisée par extraction liquide-liquide. L'activité anti-oxydante des extraits a été évaluée en utilisant le procédé au 2,2 diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH). L'activité anti-inflammatoire a été examinée par le test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines. L'activité antibactérienne a été déterminée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé, sur des germes isolés à partir de crachats de patients asthmatiques.

Résultats. Le taux de polyphénols varie selon la région, la saison et la maturation des olives, nous avons noté le taux le plus élevé en polyphénols dans l'HO issue de Ouaguenoun (saison 2009) avec un taux de 72.05mg EAG/kg de MS. Les résultats obtenus montrent une corrélation significative entre la concentration totale en composés phénoliques et l'activité anti-oxydante. Cette dernière est affectée par le type d'HO, dont l'HO de Ouaguenoun possède la valeur la plus élevée (70.85 mg EAA/kg). Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA des extraits méthanoliques est compris entre 13,39% et 39,59%. Le meilleur pouvoir anti-inflammatoire est obtenu avec l'HO de Ouaguenoun (39.59%). En effet, L'activité anti-inflammatoire est également affectée par les trois facteurs testés, ce qui pourrait moduler la composition et la concentration des molécules bioactives dans l'HO. Cependant, les extraits de l'HO de Ouaguenoun des saisons 2009 et 2011 possèdent la meilleure activité antibactérienne avec des zones d'inhibitions de 8 mm de diamètre sur les souches bactériennes isolées de patients asthmatiques (*E. coli* et *K. pneumoniae*). De plus, les différentes HO étudiées montrent une activité antibactérienne plus intéressante contre *Staphylococcus aureus* avec des diamètres de zone d'inhibition allant jusqu'à 10mm et des (CMI) et (CMB) de 0.8mg/ml et 1mg/ml respectivement.

Conclusion. Nos résultats montrent que l'origine géographique, la saison oléicole et le stade de maturation des olives sont des facteurs qui influencent de manière significative la quantité de composés phénoliques de l'huile d'olive, ainsi que leurs activités biologiques. L'HO de la région de Kabylie notamment celle de Ouaguenoun pourrait avoir un potentiel thérapeutique dans les maladies inflammatoires en particulier l'asthme.

Mots clés. Huile d'olive, saison oléicole, maturation des olives, polyphénols, activité anti-oxydante, activité anti-inflammatoire, activité antibactérienne.

Abstract

Introduction. Olive oil (OO) is widely used in traditional medicine in different forms, due to its wealth of antioxidants that are involved in the fight against oxidative stress that predisposes the human organism to inflammatory diseases including asthma. Polyphenols are the largest group of secondary metabolites in OO and can be affected by several factors such as climate (precipitation and temperature), season of harvest, variety and maturation of olives.

Aims. i) To examine the effect of geographical origin, the harvesting season and olive maturation on the polyphenols composition of OO, and ii) to evaluate their antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial activities.

Methods. Nine samples of the OO of the Chemlal variety collected from different locations of the Kabylie region (Boukhalfa, Mechtras, Ouaguenoun and Ifri Ouzellaguen) were studied. Extraction of the phenolic compounds was carried out by liquid-liquid extraction using the Folin Ciocalteu reagent. The antioxidant activity was evaluated using 2,2 -diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. The anti-inflammatory activity was examined by the protein denaturation inhibition. The anti-bacterial activity was determined by the diffusion method on agar medium, on bacterial strains isolated from sputum of asthmatic patients.

Results. The polyphenols content varies according to the region, the harvesting season and the maturation of the olives. The best polyphenol rate (72.05 mg EAG / kg of OO) was observed with the Ouaguenoun OO (season 2009). Interestingly, we show a positive correlation between the total concentration of phenolic compounds and the antioxidant activity. The latter is also affected by the same factors, and the highest percent of DPPH inhibition was obtained with the Ouaguenoun OO (70.85 %). The percent of BSA denaturation inhibition of the different methanolic extracts was between 13.39% and 39.59%. However, the maximum anti-inflammatory activity was demonstrated with Ouaguenoun OO (39.59%). In fact, the anti-inflammatory activity is also affected by the three tested factors. Similarly, the Ouaguenoun OO from 2009 and 2011 seasons showed the best antibacterial activity with inhibition zones of 8 mm on bacteria isolated from asthmatic patients (*E. coli* and *K. pneumoniae*). In addition, all the studied OO showed an interesting antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* with inhibition zone of 10 mm and (MIC) and (MBC) of 0.8 mg / mL and 1 mg / mL, respectively.

Conclusion. The geographical origin, the harvesting season and the olive maturation stage significantly affected phenolic compound content of OO, as well as their biological activities. The OO of the Kabylie region specifically from Ouaguenoun area may have a therapeutic potential in inflammatory diseases including, asthma.

Keywords. Olive oil, harvesting season, olive maturation, polyphenols, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, and antibacterial activity.

Table des matières

Liste des abréviations

Listes des figures

Listes des tableaux

Introduction générale1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Olive et huile d'olive

I. Présentation de la famille des Oleaceae : 6

II. Classification..... 6

III. Description botanique6

IV. Répartition de la culture de l'olivier en Algérie 7

V.Olive..... 7

V.1. Définition de l'huile d'olive..... 7

V.2. Composition de l'huile d'olive 7

V.3. Métabolites secondaires 9

V.3.1. Les composés phénoliques..... 9

V.3.2. Les flavonoïdes 9

V.3.3. Propriétés pharmacologiques des métabolites secondaires..... 9

VI. Intérêt thérapeutique de l'huile d'olive 10

VII. Antioxydants 10

VII.1. Effet des antioxydants sur la santé humaine 10

CHAPITRE II : Huile d'olive et activités biologiques

I. Stress oxydatif 13

II. Les défenses anti-oxydantes des bronches 13

III. Les anti-inflammatoires d'origine végétale	14
IV. Activité anti-inflammatoire de l'huile d'olive extra vierge.....	14
V. Propriétés anti-asthmatiques	14
VI. Activité anti-bactérienne des extraits méthanoliques de l'huile d'olive.....	15

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III : matériels et méthodes

I. Introduction	18
II. Echantillonnage.....	18
III. Dosage des composés phénoliques	19
III.1. Préparation des extraits.....	19
III.2. Composés phénoliques totaux	19
III.3. Les flavonoïdes	19
IV. mesure de l'activité anti-oxydante.....	19
V. Mesure de l'activité anti-inflammatoire (Inhibition de la dénaturation des protéines)	20
V.1. Principe	20
V.2. Mode opératoire	20
VI. Mesure de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique.....	20
VI.1. Méthode de diffusion sur milieu gélosé	20
VI.1.1. Principe.....	20
VI.1.2. Mode opératoire.....	21
VI.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	21
VI.2.1. Principe.....	21
VI.2.2. Mode opératoire.....	22
VI.3. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)	22
VI.3.1. Principe.....	23
VI.3.2. Mode opératoire.....	23
VII. Analyse statistique.....	23

CHAPITRE IV : Résultats et discussions

I. Les composés phénoliques totaux	25
II. Les flavonoïdes	27
III. Activité anti-oxydante.....	29
IV. Activité anti-inflammatoire	31
V. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques par diffusion sur milieu gélosé	33
V.1.1. Activité des extraits méthanoliques vis-à-vis d'Escherichia coli et de Klebsiella pneumoniae	34
V.1.2. Activité des extraits méthanoliques vis-à-vis de S. aureus	36
V.1.3. Activité des différents antibiotiques vis-à-vis des bactéries E. coli, K. pneumoniae et S. aureus isolées à partir de patients asthmatiques.....	38
V.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB).....	40
Conclusion et perspectives	44

Références bibliographies

Annexes

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ANOVA : Analyse de la variance.

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

DPPH : Radical 2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl

EAA : Equivalent en Acide Ascorbique.

EAG : Equivalent en Acide Gallique.

EC : Equivalent de Catéchine.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

F-C : Folin-Ciocalteu.

GSH : Glutathion réduit.

H₂O : eau distillée

Me : Méthanol

MS : Matière sèche.

SOD : Superoxyde dimustase.

UV : Radiations ultra-violettes.

rpm : Rotation par minute.

Liste des figures

Figure 1. Teneurs en polyphénols totaux des échantillons d'huile d'olive.....	25
Figure 2. Teneurs en flavonoïdes des échantillons d'huile d'olive.....	27
Figure 3. Pourcentage d'inhibition DPPH des échantillons d'huile d'olives étudiées.....	29
Figure 4. Résultats de l'activité anti-inflammatoire des extraits méthanoliques de l'huile d'olive étudiés.....	32
Figure 5. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques vis-à-vis des bactéries <i>Escherichia. coli</i> , <i>Kleibsiella. pneumoniae</i> et <i>Staphylococcus. aureus</i> isolées à partir de patients asthmatiques.....	34
Figure 6. Antibiogramme des souches <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> et <i>K. pneumoniae</i>	39

Liste des tableaux

Tableau 1. Pourcentage des acides gras dans l'huile d'olive.....	8
Tableau 2. Présentation des échantillons d'huiles d'olive étudiées.....	18
Tableau 3. Analyse de la variance à un facteur pour les polyphénols et les groupes homogènes selon le test de NEWMAN et KEULS.....	26
Tableau 4. Analyse de la variance à un facteur selon le type HL et la composition en flavonoïde.....	28
Tableau 5. Analyse de la variance à un facteur pour l'activité anti-oxydante et les groupes homogènes selon le test de NEWMAN et KEULS.....	30
Tableau 6. Analyse de la variance à un facteur de l'activité anti-inflammatoire et les groupes homogènes selon le test de NEWMAN et KEULS.....	31
Tableau 7. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques vis-à-vis d' <i>E. coli</i> et de <i>K. pneumoniae</i>	35
Tableau 8. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques vis-à-vis de <i>S. aureus</i>	37
Tableau 9. Résultats de l'antibiogramme sur les souches <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> et <i>S. aureus</i>	39
Tableau 10. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) des extraits méthanoliques des différents échantillons d'huile d'olive étudiés.....	40

Introduction
générale

Introduction générale

En Algérie, la culture de l'olivier constitue une composante importante du processus du développement durable (Sahli et Mekersi, 2005). L'olivier peut supporter des conditions climatiques défavorables (température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols, notamment les flavonoïdes. La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante (Falleh *et al.*, 2008).

En raison de potentiels bénéfiques que l'huile d'olive pourrait apporter à la santé humaine (nutritionnels, sanitaires, et sensoriels) elle suscite de plus en plus l'intérêt des chercheurs et des consommateurs (Fedeli, 1977 ; Haddada *et al.*, 2007).

Les bienfaits de la consommation de l'huile d'olive ne sont pas uniquement dus à l'acide oléique et ne sont pas tous liés au métabolisme lipidique. En effet, d'autres substances à propriétés anti-oxydantes ont des effets bénéfiques sur la santé, car elles interviennent dans la lutte contre le stress oxydant impliqué dans diverses pathologies notamment l'asthme, les maladies cardiovasculaires et certains types de cancers (Covas, 2007).

Au cours de ces dernières années, l'intérêt porté sur les composés phénoliques de l'huile d'olive a augmenté à cause de leurs activités biologiques, jouant ainsi un rôle important dans la santé humaine. Ils constituent une large classe de métabolites secondaires, qui sont des dérivés d'oléuropeine et de ligstroside (Bravo, 1998 ; Ryan *et al.*, 2002).

Plusieurs études ont démontré la capacité anti-oxydante des polyphénols de l'huile d'olive (Visioli *et al.*, 2002 ; Servili *et al.*, 2009). En plus de l'inhibition de la peroxydation des lipides, les composés phénoliques piègent les radicaux libres et par conséquent protègent le corps humain (Cicerale *et al.*, 2009).

La teneur de l'huile d'olive en composés phénoliques dépend de plusieurs facteurs, comme la variété, les conditions climatiques, le degré de maturation des olives et la technologie d'extraction de l'huile (Servili *et al.*, 2004). De nombreux travaux de recherche sont consacrés à l'étude de l'influence de ces différents facteurs sur la fraction phénolique de l'huile d'olives.

D'autres études se sont focalisées sur la détermination du profil en composés phénoliques de l'huile d'olive vierge par différentes techniques d'analyse, notamment par HPLC (Montedoro *et al.*, 1992 ; Rovellini *et al.*, 1997 ; Owen *et al.*, 2000 ; Bendini *et al.*, 2003 ; De

La Torre-Carbot *et al.*, 2005 ; Rovellini, 2008 ; Bubonja-Sonje *et al.*, 2011). Un autre volet de recherche très important sur les polyphénols de l'huile d'olive concerne l'étude de leurs différentes propriétés biologiques.

Néanmoins, la recherche de nouvelles thérapies pour les maladies inflammatoires devient nécessaire afin d'éviter les effets secondaires de la thérapie conventionnelle et de son inefficacité. De ce fait, la recherche de thérapies antiasthmatiques devrait s'orienter vers la recherche de composés capables d'empêcher le stress oxydatif, de réduire l'inflammation ou d'inhiber la prolifération de germes pathogènes dans le cas d'infections respiratoires.

En outre, beaucoup de travaux de recherche ont montré que les polyphénols de l'huile d'olive ont une haute activité antimicrobienne contre un large spectre d'espèces pathogènes (Medina *et al.*, 2006 ; Karaosmanoglu *et al.*, 2010). L'oleuropéine (Bisignano *et al.*, 1999 ; Furneri *et al.*, 2004) et l'hydroxytyrosol (Bisignano *et al.*, 1999) inhibent ou ralentissent la croissance de plusieurs bactéries. La maîtrise des infections bactériennes devient complexe du fait de l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques. De nombreux cas de bactéries multi résistantes sont rapportés en Algérie (Bouzenoune *et al.*, 2009), pour cela le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre ce phénomène.

Bien que l'huile d'olive a fait l'objet de plusieurs études notamment dans l'investigation de ses activités biologiques, cependant, très peu ont rapporté l'effet (de la saison de cueillette, le type, l'année d'extraction, la région, la couleur des olives) sur des germes responsables d'infections respiratoires notamment l'asthme, afin de rechercher une meilleure alternative pour le traitement.

L'objectif de cette étude était d'examiner quelques activités biologiques à savoir l'activité anti-oxydante, anti- inflammatoire et l'évaluation antibactérienne des extraits méthanoliques de l'huile d'olive locale, une étude comparative entre neuf variétés d'huile issues de diverses régions de la Kabylie a été évaluée sur trois paramètres à savoir l'origine, la saison oléicole et le stade de maturation des olives sur les composés phénoliques de l'huile d'olive.

Pour cela notre travail a été réparti en deux parties :

La première partie : (Synthèse bibliographique) comprend deux chapitres ; le premier chapitre est consacré à l'étude botanique de l'espèce *Olea europea* et les métabolites secondaires, le

deuxième chapitre est consacré à l'étude de l'huile d'olive et ses activités biologiques notamment ses propriétés anti-asthmatiques.

La deuxième partie : (partie expérimentale) comprend aussi deux chapitres dont le premier chapitre est consacré aux matériels et méthodes, le deuxième chapitre est consacré pour la présentation de l'ensemble des résultats obtenus et leur discussion, avec une conclusion et quelques perspectives.

Partie I

Synthèse

bibliographique

Chapitre I
Olive et huile d'olive

I. Présentation de la famille des Oleaceae

La famille des Oleaceae est une famille de plantes dicotylédones qui comprend 900 espèces réparties en 25 à 26 genres. Ce sont des arbres et des arbustes ou parfois des lianes, à feuilles entières opposées, simples ou composées pennées, sans stipules. L'inflorescence des fleurs de la famille est une cyme bipare, souvent modifiée dans son apparence en grappe ou en panicule. Cette famille comporte de nombreuses plantes exploitées pour leurs essences ou cultivées pour l'ornementation. La plupart de ces espèces sont aussi bien utilisées dans la médecine traditionnelle que dans la médecine moderne (Judd *et al.*, 2002).

II. Classification

La classification botanique de l'olivier selon GUIGNARD (2004) :

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Astéridées

Ordre : Lamiales

Famille : Oléacées

Genre : Oléa

Espèce : Oléa européa

III. Description botanique

Les oliviers sont des arbres de morphologie différente, ils se différencient selon plusieurs critères on distingue des oliviers avec des ;

Hauteur : de 5 à 15 m

Largeur : de 4 à 12 m

Feuillage : persistant

Floraison : avril à juin

Fructification : juin à aout

Origine : Asie, bassin méditerranéen

IV. Répartition de la culture de l'olivier en Algérie

En Algérie, l'olivier compte environ 32 millions d'arbres distribués sur une superficie d'environ 328.884 hectares soit 34,09% du verger arboricole national. L'olivier, de part ses fonctions multiples de lutte contre l'érosion, de valorisation des terres agricoles et de fixation des populations dans les zones de montagne, s'étend sur tout le territoire national, il se concentre notamment dans trois principales régions : la région du Centre (54%), la région de l'Est (29%) et la région de l'Ouest (17%). Pour la région centre, l'essentiel du verger oléicole de cette zone (95%) est occupé par les wilayas de Bejaïa, Tizi-Ouzou et Bouira. Les wilayas de Guelma, Sétif, Jijel et Skikda détiennent (68%) du verger oléicole de la région Est ; et enfin, la région Ouest (71%) du verger est occupée par les wilayas de Mascara, Sidi Bel abbés, Relizane et Tlemcen (Sekour, 2012).

V. Olive

L'olive est le fruit de l'olivier, arbre fruitier caractéristique des régions méditerranéennes. La couleur de l'olive dépend du moment de sa cueillette, d'abord verte avant maturation, puis rose ou tournante à maturation et enfin vire au noire après maturation (Zarrouk *et al.*, 1996).

V.1. Définition de l'huile d'olive

L'huile d'olive vierge est l'une des huiles végétales les plus appréciées dans le monde, c'est une huile végétale du fruit de l'olivier *Oléa europaea* obtenue seulement par des méthodes mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions thermiques notamment qui n'entraînent pas d'altération de l'huile et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration (Peñalvo *et al.* 2016).

V.2. Composition de l'huile d'olive

L'huile d'olive comprend une fraction saponifiable constituée d'acides gras et de leurs dérivés, et une fraction insaponifiable qui est représentée par les stérols, les alcools aliphatiques, les pigments, les hydrocarbures, les composés aromatiques, les tocophérols et les composés phénoliques (Berra, 1998).

L'acide Oléique constitue le principal représentant des acides gras mono insaturés majoritaires dans l'huile d'olive dont :

- AGS (16 :0, 18 :0) avec une proportion de 15,0%
- AGMI (18 :1) avec une proportion de 77%
- AGPI (18 :2 n-6) avec une proportion 7,4%
- AGPI (18 :3 n-3) avec une proportion 0,6% (Dubois *et al.*, 2008).

La composition chimique de l'huile d'olive dépend largement de la variété, du degré de maturité, des procédés d'extraction et des conditions de stockage (Dugo *et al.*, 2004).

Tableau 01 : Pourcentage des acides gras dans l'huile d'olive (Harwoode et Aparico, 2000).

Acide gras	Pourcentage
Acide myristique	≤ 0.05
Acide palmitique	7.5 – 20
Acide palmitoleique	0.3 – 3.5
Acide heptadécanoïque	≤ 0.3
Acide heptadécénoïque	≤ 0.3
Acide stéarique	0.5 – 5
Acide oleique	55 – 83
Acide linoléique	3.5 – 21
Acide linoléique	≤ 0.9
Acide arachidique	≤ 0.6
Acide eicosénoïque	≤ 0.4
Acide béhenique	≤ 0.2
Acide lignocérique	≤ 0.2

V.3. Métabolites secondaires

V.3.1. Les composés phénoliques

Constituent un des groupes les plus nombreux et les plus largement distribués des substances dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques présentes dans tous les organes de la plante (Lugasi *et al.*, 2003).

Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV (Lebham, 2005).

Les composés phénoliques forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (Xiuzhen *et al.*, 2007). Ces substances sont dotées de certaines activités biologiques.

Les principales classes de composés phénoliques sont : les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (King et Young., 1999 ; Tapiero *et al.*, 2002).

V.3.2. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Seyoum *et al.*, 2006).

Du point de vue structurale, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées (Harborne et Williams, 2000).

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : flavones, isoflavandiols, flavanols, flavondiols, aures, chalcones, anthocyanes (Effendi *et al.*, 2008).

V.3.3. Propriétés pharmacologiques des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont reconnus par leurs activités biologiques nombreuses qui comprennent des activités antibactériennes, anticancéreuses, antifongiques, analgésiques, anti-inflammatoires, diurétiques gastro-intestinales, anti-oxydantes (Harborne, 1998 ; Bruneton, 1999).

Les flavonols et les flavonones représentent environ 80% des flavonoïdes connus, ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance. Souvent anti-inflammatoires, ils peuvent être antiallergiques, hépato-protecteurs, diurétiques, antibactériens et antiviraux (Bruneton, 1999).

VI. Intérêt thérapeutique de l'huile d'olive

L'huile d'olive est riche en substances anti-oxydantes qui sont impliquées dans la protection de certaines maladies : maladies cardiovasculaires, certains cancers et maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson) (Servili *et al.*, 2004).

D'autre part, les composés phénoliques de l'huile d'olive ont un effet positif sur les lipoprotéines, les plaquettes, les marqueurs d'inflammation, le fonctionnement cellulaire et l'activité antimicrobienne (Cicerale *et al.*, 2009).

La consommation régulière de cette huile est importante pour lutter contre certains troubles de l'appareil digestif et hépatobiliaire, l'ostéoporose et contribue au renforcement du système immunitaire (Ghedira, 2008).

VII. Antioxydants

Les antioxydants sont des molécules susceptibles d'inhiber la propagation des espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre et en générant du glutathion (Favier, 2003).

VII.1. Effet des antioxydants sur la santé humaine

Lors de la photosynthèse, les plantes fabriquent des substances anti-oxydants pour se protéger des effets délétères des radiations solaires. Par conséquent, des vitamines (C, E, caroténoïdes) et des enzymes (catalases, peroxydases) sont synthétisés. De plus, ces plantes élaborent des flavonoïdes qui préviennent l'oxydation. Ces substances jouent deux rôles au niveau de la plante : celui d'un filtre solaire et celui d'un antioxydant vis à vis des radicaux libres produits par les radiations. Tous ces antioxydants sont directement assimilables par notre organisme quand on consomme des végétaux ou des produits dérivés de ceux-ci. Il existe une forte corrélation entre la consommation de légumes et de fruits et une moindre incidence des maladies cardio-vasculaires et les cancers. Les antioxydants végétaux ont des propriétés protectrices en matière de vaisseaux sanguins, leurs vertus antievieillessement et leurs

implications probables dans la prévention des pathologies liées au stress oxydatif (Guitoune et Selli, 2015).

Chapitre II

Huile d'olive et
activités biologiques

I. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des Espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs, ce déséquilibre a pour conséquences l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour les cellules (Aravodis, 2005). Les cibles biologiques les plus vulnérables à cet endommagement oxydatif sont : l'acide désoxyribonucléique (ADN) par des modifications des bases et des cassures des brins (Rehman et al., 1999), les protéines (modification structurales et fonctionnelles) et les lipides à savoir peroxydation lipidique (Hu et al., 2005).

Le stress oxydatif est impliqué dans de très nombreux désordres et maladies : athérosclérose, la cancérogenèse, l'arthrite, l'asthme, la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, le mongolisme, les maladies cardiovasculaires, arthrose, cataracte, le diabète, chute de cheveux et le vieillissement (Guitoune et Selli, 2015).

II. Les défenses anti-oxydantes des bronches

Pour lutter contre le stress oxydant, l'organisme possède un système antioxydant très développé présent au niveau de l'épithélium bronchique et qui est constitué à la fois de systèmes enzymatiques (Superoxyde dimustase (SOD), catalase, peroxydases, hème oxydase, glutarédoxine, thiorédoxine, peroxyrédoxine) et non-enzymatiques (vitamine C, urate, glutathion réduit, vitamine E, β -carotène).

C'est le déséquilibre oxydants-antioxydants qui est à l'origine du stress oxydant associé aux pathologies pulmonaires (Comhair et Erzurum, 2010). Il a été montré une diminution de l'activité des SOD intra et extra-cellulaire dans les bronches de patients asthmatiques, cette diminution pourrait être liée à l'inactivation par nitration ou oxydation de la protéine (Comhair *et al.*, 2000 ; De Raeve *et al.*, 1997). Cette réduction de l'activité des SOD contribue à l'augmentation du stress oxydant. Cependant, une autre étude a montré une augmentation significative de l'activité des SOD dans un modèle expérimental d'asthme (Nishida *et al.*, 2002). Une inhibition de l'activité de la catalase et de la glutathion peroxydase a également été mise en évidence chez des patients asthmatiques (Varshavskii *et al.*, 2003) Une augmentation de la glutathion peroxydase extra-cellulaire chez des patients asthmatiques en réponse à l'augmentation des radicaux libres a également été observée (Comhair *et al.*, 2001). Les taux de glutathion de l'épithélium bronchique sont augmentés chez les patients asthmatiques, ainsi que la γ -glutamylcystéine synthétase qui est une enzyme impliquée dans la synthèse de

Gluthation (GSH). Les taux de thiorédoxines et glutarédoxines, enzymes anti-oxydantes, sont également augmentés dans l'asthme (Reynaert *et al.*, 2007 ; Yamada *et al.*, 2003).

Une étude a également montré une augmentation du statut oxydant total, de la peroxydation lipidique et de la capacité anti-oxydante totale chez des enfants asthmatiques, l'exposition à un stress oxydant entraînant une augmentation de la réponse anti-oxydante (Cakmak *et al.*, 2009).

L'expression de certains gènes impliqués dans la protection contre le stress oxydant est induite par le stress oxydant lui-même. Le facteur de transcription Nrf2, sensible au statut redox de la cellule, va réguler un grand nombre de gènes antioxydants (Cho et Moon, 2010). Il semble exister différents profils antioxydants en fonction du type d'antioxydant observé, du site d'action et de l'origine du processus oxydatif (Rahman *et al.*, 2006).

III. Les anti-inflammatoires d'origine végétale

Le nombre de composés phytochimiques trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti-inflammatoires, beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipooxygénase ainsi que par d'autres mécanismes.

L'*Olea europea* est largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour un large éventail des problèmes de santé dans divers pays. L'écorce, les fruits, les feuilles, le bois, les graines, et l'huile sont utilisés sous différentes formes, seuls ou parfois en combinaison avec d'autres herbes. L'huile d'olive est prise par voie orale comme un laxatif et également appliqué à l'extérieur comme un baume pour l'inflammation (Deghdegh *et al.*, 2017).

IV. Activité anti-inflammatoire de l'huile d'olive extra vierge

L'huile d'olive extra vierge présente une activité anti-inflammatoire remarquable due à oleocanthal. Un composé présent dans l'huile d'olive extra vierge (EVOO) qui a un profil remarquablement similaire à l'ibuprofène, un médicament anti-inflammatoire synthétique (Deghdegh *et al.*, 2017).

V. Propriétés anti-asthmatiques

L' α -tocophérol, par la modification de la voie des leucotriènes, montre un effet bénéfique dans l'asthme et les maladies allergiques. Le γ -tocophérol montre aussi un rôle dans la

prévention de l'infiltrât éosinophile et l'hypersécrétion de mucus dans des modèles expérimentaux d'asthme et de rhinite allergique. (Jiang et Ames, 2003 ; Wagner *et al.*, 2008).

Plusieurs études récentes ont également montré les effets bénéfiques de la vitamine E dans des modèles murins d'asthme par diminution de l'hyperréactivité bronchique, de la réponse Th2 et donc de l'inflammation bronchique (Mabalirajan *et al.*, 2009 ; Okamoto *et al.*, 2006).

Une autre étude épidémiologique récente a mis en évidence l'association d'une diminution des défenses anti-oxydantes circulantes avec la sévérité de la maladie chez des patients asthmatiques, les patients atteints d'asthme sévère ayant un taux réduit d' α -tocophérol (Wood et Gibson, 2010).

Une diminution du taux d' α -tocophérol pendant les crises et également au cours des phases de rémission dans les sérums de 14 enfants atteints d'asthme a également été décrite. Dans un modèle *in vivo*, une déficience sévère en vitamine E a été associée à l'aggravation des lésions pulmonaires liées au stress oxydatif et à l'inflammation. A l'inverse, une supplémentation en γ -tocophérol chez des patients asthmatiques a montré un effet bénéfique sur le stress oxydatif systémique (Wiser *et al.*, 2008).

VI. Activité anti-bactérienne des extraits méthanoliques de l'huile d'olive

L'*Oléa europaea* a été utilisée comme un remède populaire pour la guérison de nombreux troubles infectieux d'origine bactérienne, fongique et virale. Plusieurs études ont été effectuées dans le passé en validant le potentiel anti-microbien et antiviral d'*Oléa europaea*. Les composés phénoliques des extraits méthanoliques de l'huile d'olive ont été évalués contre plusieurs microorganismes qui sont des agents causaux d'infections respiratoires humaines telle que l'asthme, y compris des bactéries Gram positives (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*), des bactéries Gram négatives (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*) (Adnan *et al.*, 2014).

Partie II

Partie expérimentale

Matériels

et

méthodes

I. Introduction

L'objectif de la présente étude est de rechercher les activités biologiques (activité anti oxydante, anti inflammatoire et antibactérienne) des neuf échantillons d'huile d'olive récoltés dans différentes régions et pendant diverses saisons oléicoles.

Cette étude a été réalisée durant la période allant du mois de Mai au mois de Septembre 2019, dont les analyses physico-chimiques ont été réalisées au niveau du Laboratoire Commun II de la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'UMMTO et l'analyse microbiologique a été réalisée au niveau du laboratoire de Bactériologie du Centre Hospitalo-universitaire Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou.

II. Echantillonnage

Tableau 2. Présentation des échantillons d'huiles d'olive étudiées.

<i>Echantillon</i>	<i>Origine</i>	<i>Variété</i>	<i>Couleur des olives</i>	<i>Année de récolte</i>
<i>hl 1</i>	Boukhalfa	Chemlal	Vert	2018
<i>hl 2</i>	Boukhalfa	Chemlal	Violet	2018
<i>hl 3</i>	Boukhalfa	Chemlal	Noir	2018
<i>hl 4</i>	Ouaguenoun	Chemlal	Noir	2009
<i>hl 5</i>	Ouaguenoun	Chemlal	Noir	2011
<i>hl 6</i>	Ouaguenoun	Chemlal	Noir	2017
<i>hl 7</i>	Ouaguenoun	Chemlal	Noir	2018
<i>hl 8</i>	Ifri ouzellaguen	Chemlal	Noir	2018
<i>hl 9</i>	Mechtras	Chemlal	Noir	2018

III. Dosage des composés phénoliques

III.1. Préparation des extraits

La méthode adoptée est basée sur l'extraction liquide-liquide décrite par Pirisi *et al.* (2000). Une masse de 4 g d'huile est solubilisée dans un mélange constitué de 4 ml de n-hexane et 4 ml du méthanol 60%. Après agitation pendant 2 min, le mélange est centrifugé (3000 rpm/5 min). Les deux solvants se séparent et la phase méthanolique est récupérée ; l'opération est répétée deux fois et les extraits méthanoïques ainsi obtenus sont combinés.

III.2. Composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques totaux est déterminée selon la méthode décrite par Negi *et al.*, (2003). Un volume de 0,4mL d'extrait est mélangé avec 2mL du réactif de Folin-Ciocalteu 1 N dilué 1/10. Le mélange est agité pendant 3 minutes puis additionné de 1.6 mL de carbonate de sodium (7,5%). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 760 nm. La concentration en composés phénoliques totaux est estimée en mg équivalent d'acide gallique par kg d'huile d'olive en se référant à une courbe d'étalonnage (annexe I, fig 1).

III.3. Les flavonoïdes

Un volume de 1 mL d'extrait est mélangé avec 1 mL de chlorure d'aluminium (2%). Après incubation pendant 10 min. L'absorbance du mélange réactionnel est mesurée à 430 nm et la teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de catéchine (EC)/g d'huile d'olive en se référant à une courbe d'étalonnage (annexe I, fig 2) (Ordonez *et al.*, 2006).

IV. mesure de l'activité anti-oxydante

La méthode au DPPH (1,1-di-phenyl-2-picrylhydrazyl radical) est utilisée pour déterminer la capacité des extraits à céder des protons et/ou des électrons. La réduction des radicaux DPPH• implique une baisse de l'absorbance. Sous la forme radicalaire, le DPPH• absorbe à 515 nm (Williams *et al.*, 1995). $\text{DPPH}\cdot + \text{AH} \rightarrow \text{DPPH} - \text{H} + \text{A}\cdot$ Un volume de 1ml d'extrait est additionné de 2ml de la solution DPPH•. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au témoin, contenant le DPPH• et le solvant d'extraction est mesurée à 517 nm (Goupy *et al.*, 2003).

L'activité anti radicalaire est exprimée en mg équivalent d'acide ascorbique/kg d'huile en se référant à une courbe d'étalonnage (annexe I, fig 3). Elle est aussi exprimée en pourcentage d'inhibition par rapport au témoin selon la formule suivante :

$$\text{Le pourcentage d'inhibition (\%)} = (A_t - A_e / A_t) \times 100$$

A_t : Absorbance du témoin.

A_e : Absorbance de l'extrait.

V. Mesure de l'activité anti-inflammatoire (Inhibition de la dénaturation des protéines)

V.1. Principe

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire des extraits méthanoliques de l'huile d'olive, nous avons suivi la méthode de la dénaturation thermique des protéines par la BSA décrite par Gunathilake *et al.* (2018).

V.2. Mode opératoire

- Préparer un mélange réactionnel (5mL) constitué de 0,2mL d'albumine bovine à 1%, ajouter 4,78mL de solution saline tamponnée au phosphate (à un PH=6,4) et 0,02mL d'extrait.
- Mélanger et incuber dans un bain marie à 37° C pendant 15min.
- Ensuite le mélange est chauffé à 70°C pendant 5 min.
- Laisser refroidir, et lire au spectromètre UV/Vis à 660 nm.
- Une solution tampon de phosphate est utilisée comme témoin.

VI. Mesure de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique

VI.1. Méthode de diffusion sur milieu gélosé

VI.1.1. Principe

Pour évaluer cette activité, nous avons opté pour la méthode de diffusion sur milieu gélosé décrite par Garrab *et al.* (1998).

Des disques imprégnés d'extrait, déposés sur une gélose préalablementensemencée, va induire après incubation de 24 h à 37°C, une diffusion de l'extrait qui engendrera l'inhibition de la croissance microbienne, visualisable par des zones claires, ne contenant pas de colonies, autour du disque à extrait ayant une activité antimicrobienne.

Les diamètres (\emptyset) des zones d'inhibition sont mesurés en millimètre, incluant le diamètre du disque, permettant ainsi de classer les souches microbiennes selon leurs sensibilités vis-à-vis de l'extrait : $\emptyset < 8$ mm : microorganisme non sensible, $9 < \emptyset < 14$ mm : microorganisme sensible, $15 < \emptyset < 19$ mm : microorganisme très sensible et $\emptyset > 20$ mm : microorganisme extrêmement sensible.

VI.1.2. Mode opératoire

Nous avons choisi de travailler sur 3 souches bactériennes isolées à partir de crachats de patients asthmatiques : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Klebsiella pneumoniae*. Les souches sont fournies par le binôme Senani et Yezid (Mémoire de master en Biotechnologie Microbienne, 2019). En premier lieu, un repiquage sur milieu Mueller-Hinton (MH) a été fait, suivi par une incubation dans l'étuve à 37°C durant 18 heures, afin d'avoir des cultures jeunes à une phase exponentielle de croissance le lendemain, à partir desquelles des colonies isolées ont été prélevées à l'aide d'une anse à boucle. Ces dernières sont introduites dans des tubes contenant 5 mL d'eau physiologique stérile. Après homogénéisation des suspensions sous un vortex, une lecture de densité optique (DO) est mesurée à 620 nm et devra être comprise entre 0.08 et 0.1, ce qui correspond à une concentration de 10^6 UFC/ml (0.5 Mc Farland). Un ensemencement par écouvillonnage, à partir de ces suspensions standardisées, a été effectué sur des boîtes de Pétri préalablement coulées par du milieu MH.

Des disques de 6 mm de diamètre découpés à partir du papier Whatman grade 1 chr à l'aide d'un perforateur, sont stérilisés par autoclavage, puis imprégnés de 20 μ l d'extraits à différentes concentrations ($5 \cdot 10^{-4}$, $2 \cdot 10^{-3}$ et $1 \cdot 10^{-2}$ g/ml) et additionné de 5% (1 μ l) de diméthylesulfoxyde (DMSO), et enfin déposés à la surface de la gélose à raison de trois disques par boîte en plus du disque pour le témoin négatif (20 μ l du solvant utilisé dans la préparation des dilutions, plus 1 μ l de DMSO).

Les boîtes seront ainsi mises au niveau de l'étuve durant 24 h à 37°C.

VI.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

VI.2.1. Principe

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration d'extrait pour laquelle, aucune croissance bactérienne n'est observée. Elle n'est pas totalement bactéricide, une partie de l'inoculum est capable de se développer après disparition de l'inhibiteur.

En vue de déterminer la CMI de nos extraits vis-à-vis des différentes souches microbiennes, nous avons opté pour la méthode de dilution sur milieu liquide. Et dont le principe est de visualiser et de déterminer le tube ne contenant pas de trouble bactérien sur une série de tube contenant : le même volume du milieu de culture, le même volume de suspension bactérienne, le même volume de l'échantillon d'extrait mais avec une concentration différente formant une courbe de dilution décroissante. Le premier tube, où le trouble n'est pas visualisé, représente le tube avec la CMI de l'extrait utilisé.

VI.2.2. Mode opératoire

La mesure de la CMI en milieu liquide est effectuée comme suit :

On distribue dans un premier temps dans un tube à essai stérile un volume de 3.55 ml de milieu de culture (Brain Heart Infusion Broth (BHIB)). Puis 450 μ l de l'extrait, à une concentration de 1.10^{-2} g/ml sont ajoutés. Le tube, additionné ensuite de 24 μ l du DMSO (agent diffuseur), sera désormais appelé tube à solution mère. En parallèle, une série de dix tubes est préparée avec 2 mL de BHIB chacun.

2 mL de la solution mère seront transférés dans le premier tube de cette série. A partir de ce tube, un pipetage de 2 mL est effectué et transféré dans le deuxième tube. Ainsi de suite jusqu'au dernier tube où les 2 mL pipetés seront jetés.

Enfin la série de dix tubes ainsi diluée, est additionnée de 10.5 μ l de suspension microbienne au préalablement standardisée.

Une incubation de 18 ou 24 h est effectuée à 37°C et une lecture de résultats est faite le lendemain.

VI.3. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

L'effet bactéricide ou fongicide, est celui se manifestant par une accélération de la mort de la bactérie ou du champignon au contact avec des concentrations définies d'extraits ou d'ATBs. Après 18 h de culture en présence de l'ATB, de l'ATF ou de l'extrait, il est visualisable par la persistance de moins de 0,01% de colonies survivantes.

Au-delà de ce pourcentage de survie, on ne parle plus d'effet bactéricide ou fongicide, mais plutôt d'effet bactériostatique ou fongistatique qui ne se manifeste pas par une destruction microbienne, mais par une inhibition de sa croissance, qui reprend dès que la substance disparaît.

VI.3.1. Principe

La CMB ou la CMF est la plus petite concentration de l'agent inhibiteur, ne laissant subsister que 0.01% ou moins de survivant de l'inoculum initial après 18 heures de culture à 37°C.

Au niveau de la série de tube utilisé dans l'étude de la CMI, un repiquage est effectué à partir de chaque tube, ne comportant pas de trouble y compris le tube positif de la CMI, dans un autre tube contenant quant à lui que le milieu de culture. L'absence de croissance après incubation indique un effet bactéricide pour la concentration correspondante au tube étudié. Tandis que la présence de croissance correspondra quant à elle à un effet bactériostatique.

VI.3.2. Mode opératoire

Le mode opératoire suivi pour la détermination de la CMB est celui décrit par Oussou *et al.* (2004).

On distribue, dans un premier temps, dans une série de tubes à essai stériles un volume de 2 ml de milieu de culture BHIB. Puis un repiquage à partir des tubes, au-delà du tube correspondant à la CMI (y compris ce dernier), sera transféré dans le tube lui correspondant au niveau de cette série. Une incubation de 18 heures à 37°C déterminera la croissance (effet bactériostatique ou fongistatique) ou pas (effet bactéricide ou fongicide) de nos souches microbiennes en présence de l'extrait.

VII. Analyse statistique

Pour la représentation graphique des données (tableaux et graphes), nous avons utilisé le logiciel de calcul « EXCEL 2007 ».

Chaque test est réalisé en trois essais et les résultats représentent la moyenne des trois mesures. Une étude statistique a été réalisée pour la comparaison des résultats et la mise en évidence des différences significatives entre les échantillons, et ce, pour chaque paramètre en appliquant une analyse de la variance (ANOVA) suivie du test de Newman-Keuls à l'aide d'un logiciel STATISTICA 7.1. Le degré de signification des résultats est pris à la probabilité $p < 0,05$.

Résultats
et
discussion

I. Les composés phénoliques totaux

L'olive contient une quantité appréciable de composés phénoliques qui passent dans l'huile lors de son extraction (De Stefano *et al.*, 1999). Les composés phénoliques sont considérés comme des antioxydants naturels qui protègent les huiles contre l'oxydation, ils leur confèrent une meilleure stabilité lors du stockage, une saveur amère et une sensation de piquant (Perrin, 1992 ; Ollivier *et al.*, 2004).

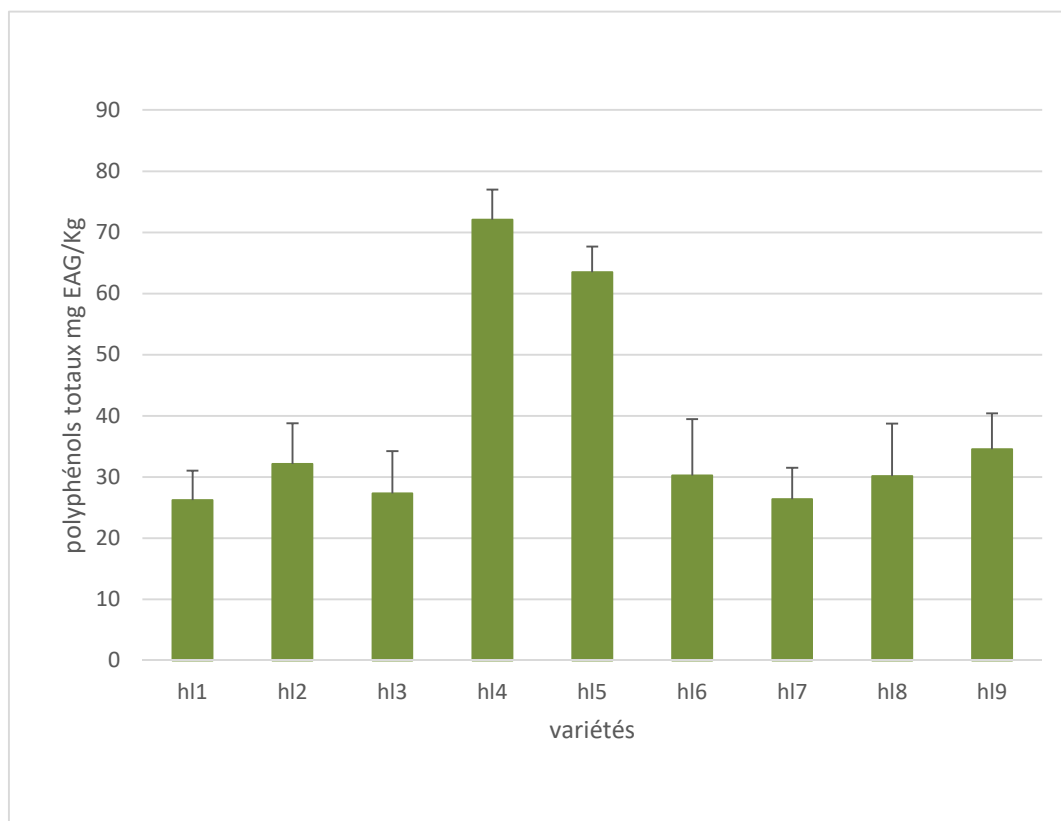


Figure 1. Teneurs en polyphénols totaux des échantillons d'huile d'olive.

Les résultats illustrés sur la figure 1 montrent la présence d'une différence significative ($p < 0,05$) entre les différents échantillons d'huile d'olive étudiées, selon l'origine géographique, la saison oléicole et selon la couleur des olives. Les extraits de d'huile d'olive de la région de Ouaguenoun des saisons oléicoles 2009 et 2011 contiennent une teneur élevée en polyphénols totaux par rapport aux extraits méthanoliques de l'huile d'olive récoltés dans cette même région pendant la saison oléicole 2017 et 2018 et aussi par rapport aux autres extraits méthanoliques des huiles d'olives récoltées dans les régions de Boukhalfa, Ifri Ouzellaguen, et Mechtras pendant la saison oléicoles 2018.

Les résultats obtenus par l'analyse de la variance à un facteur : HL montrent que les quantités de polyphénol varient de façon très hautement significative selon le type de d'HL, ceci est montré par une p-value de ≤ 0.001 et donc inférieure à 0,05 (tableau 1).

Le test de NEWMAN et KEULS classe les types d'HL en deux groupes homogènes. Dont la teneur la plus élevée en polyphénols totaux des extraits méthanoliques de l'huile d'olive est enregistrée pour HL4 ($72.05 \pm 4,9$ mg EAG/kg de MS) et la teneur la plus faible est celle de HL1 ($26.24 \pm 4,7$ mg EAG/kg de MS). (Tableau 1).

Tableau 3. Analyse de la variance à un facteur pour les polyphénols et les groupes homogènes selon le test de NEWMAN et KEULS.

Facteur	Type	Moyenne \pm écart-type	Groupes Homogènes	Analyse de la variance				
				SCE	DDL	CM	Test F	PROBA
Type	HL1	26.24 \pm 4,8	A	7092.39	8	886.55	21.2241	0.001
	HL7	26.38 \pm 5,1	A					
	HL3	27.30 \pm 6,9	A					
	HL8	30.15 \pm 8,5	A					
	HL6	30.27 \pm 9,2	A					
	HL2	32.14 \pm 6,7	A					
	HL9	34.55 \pm 5,9	A					
	HL5	63.47 \pm 4,2	B					
	HL4	72.06 \pm 4,9	B					

* Chaque valeur représente la moyenne \pm l'écart type (n = 3).

La teneur en polyphénols varie en fonction de plusieurs facteurs tels que le degré de maturation des olives, le climat, le procédé d'extraction ainsi que le cultivar (Alarcón de la Lastra *et al.*, 2001). Les études menées par Aganchich *et al.* (2008), ont montré que les teneurs en polyphénols augmentent dans des conditions de stress hydrique, et qu'une corrélation négative est notée entre le contenu en polyphénols totaux et le taux d'irrigation et des pluies abondantes (Paz Romero *et al.*, 2003).

Plusieurs autres travaux ont mis en évidence d'autres paramètres influençant la teneur en polyphénols dans l'huile d'olive, à savoir l'état sanitaire des olives et le stockage de l'huile d'olive (Goamez et al., 2002 ; Brenes *et al.*, 2006).

D'autre part les travaux de Baiano *et al.* (2009), et Aguilera *et al.* (2005) concernant l'effet de la région sur la teneur en composés phénoliques dans l'huile d'olive, ont révélé que des teneurs faibles en polyphénols totaux sont enregistrées dans les huiles en provenance de basse altitudes.

Une comparaison de nos résultats avec ceux de littérature est difficile en raison de l'influence de divers facteurs propres à la plante de l'olivier (les facteurs génétiques liés au cultivar, le degré de maturation, l'âge des graines d'olives, la composition, etc.), les conditions climatiques et environnementales, méthodes d'extraction et de dosage (type de solvant et sa concentration, méthodes et température d'extraction) et des composés phénoliques. Car nous constatons que l'huile d'olive issue de la région de Ouaguenoun à une altitude de 254m est plus riche en polyphénols que l'huile issue des régions d'Ifri Ouzellaguen (152m), de Mechtras (389m) et de Boukhalfa (680m). Cela indique que les conditions environnementales et géographiques jouent un rôle important dans le rendement en quantité de polyphénols des huiles d'olives étudiées.

II. Les flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes repose sur la capacité de ces derniers à former des complexes jaunâtres Flavonoïde-Aluminium par chélation des métaux (Ribéreau-gayon, 1968).

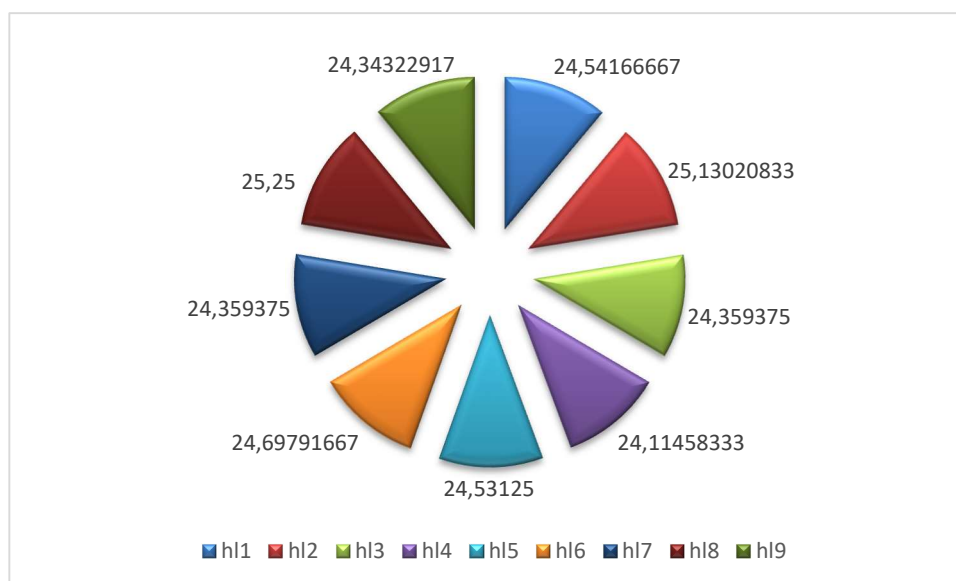


Figure 2. Teneurs en flavonoïdes des échantillons d'huile d'olive.

Les résultats obtenus par l'analyse de la variance à un facteur montrent que la quantité de flavonoïde ne varie pas en fonction du type d'huile d'olive (HL) (P-value = 0.108), cela signifie qu'il n'existe pas de différence significative en terme de richesse en flavonoïdes dans les différentes huiles étudiées. (Tableau 4).

Tableau 4. Analyse de la variance à un facteur selon le type HL et la composition en flavonoïde.

Facteur	Type	Moyenne ± écart-type	Groupes Homogènes	Analyse de la variance				
				SCE	DDL	CM	Test F	PROBA
Type	HL4	24,54 ± 0,27	A	3,41	8	0,43	1,99	0,108164
	HL9	25,13 ± 0,90	A					
	HL3	24,36 ± 0,09	A					
	HL7	24,11 ± 0,22	A					
	HL5	24,53 ± 0,79	A					
	HL1	24,70 ± 0,28	A					
	HL6	24,36 ± 0,38	A					
	HL2	25,25 ± 0,33	A					
	HL8	24,34 ± 0,21	A					

* Chaque valeur représente la moyenne ± l'écart type (n = 3).

En se référant à la littérature, nos résultats obtenus dépassent largement ceux rapportés par Oliveras-Lopez *et al.* (2007) et ceux rapportés par Brahim et Boutagrabet (2008). Donc les huiles des différentes régions de la Kabylie en Algérie sont très riches en flavonoïdes.

Nous constatons que les huiles des différentes régions Boukhalfa, Ifri ouzellaguen, Mechtras et Ouaguenoun sont très riches en flavonoïdes ce qui influence par ailleurs sur les différentes activités biologiques qui pourraient potentiellement être des remèdes aux infections respiratoires telle que l'asthme.

III. Activité anti-oxydante

Afin de déterminer l'activité anti-oxydante des extraits méthanoïques de l'huile d'olive étudiées, nous avons procédé par l'activité anti-radriculaire du radical DPPH.

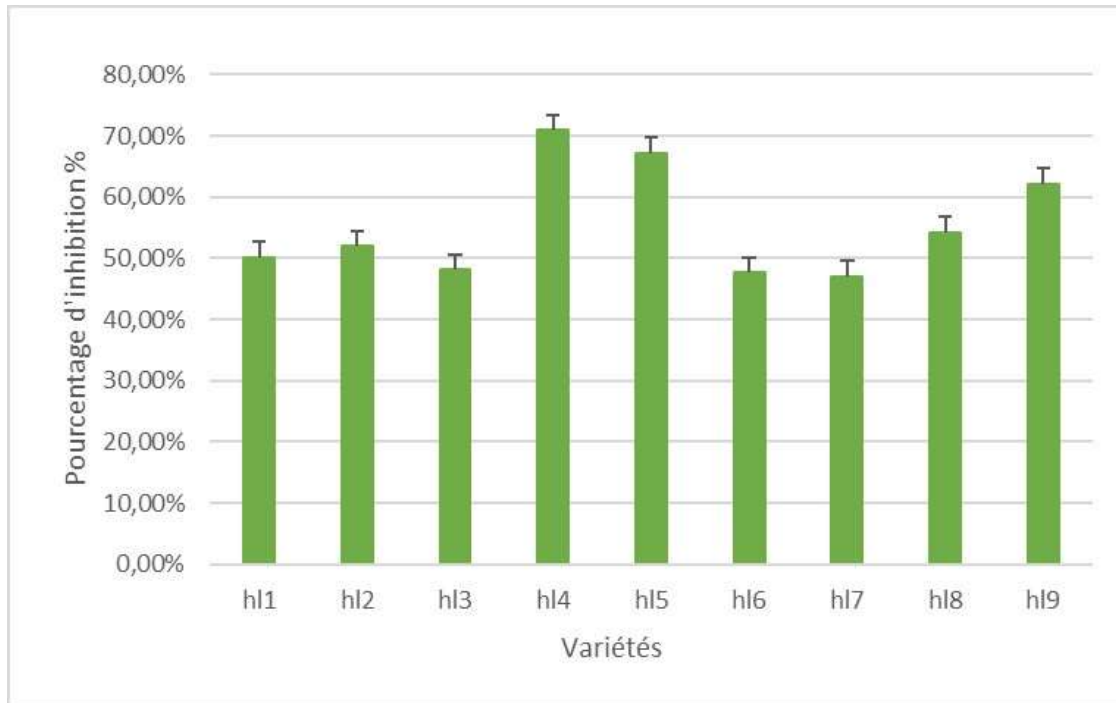


Figure 3. Pourcentage d'inhibition DPPH des échantillons d'huile d'olives étudiées.

Les résultats de l'activité anti radicalaire des échantillons étudiés exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH (Figure. 3) montrent qu'ils ont d'importantes capacités inhibitrices du DPPH.

Les résultats illustrés sur la figure 3 montrent la présence d'une différence significative ($p < 0,05$) entre les différents échantillons d'huile d'olive étudiées, selon l'origine géographique, la saison oléicole et selon la couleur des olives. Les extraits de d'huile d'olive de la région de Ouaguenoun des saisons oléicoles 2018 présente une forte capacité inhibitrices du DPPH par rapport aux extraits méthanoliques de l'huile d'olive récoltés dans cette même région pendant la saison oléicole 2009, 2011 et 2017 et aussi par rapport aux autres extraits méthanoliques des huiles d'olives récoltées dans les régions de Boukhalfa, Ifri Ouzellaguen, et Mechtras pendant la saison oléicoles 2018, dont ces derniers présentent des capacités inhibitrices du radical DPPH avec des pourcentages plus au moins proches.

Les résultats obtenus par l'analyse de la variance à un facteur (HL) montrent que l'activité anti-oxydante déterminée par DPPH varie de façon hautement significative en fonction du type de l'huile d'olive (HL) ($P = 0.0007$).

Le test de NEWMAN et KEULS classe les types d'HL en trois groupes homogènes selon différents paramètres (couleur des olives, région de récolte et la saison oléicole). Dont HL7 avec une valeur la plus faible de 47.08 mg EAA/kg et HL4 avec la valeur la plus élevée de 70.85 mg EAA/kg (tableau 5).

Tableau 5. Analyse de la variance à un facteur pour l'activité anti-oxydante et les groupes homogènes selon le test de NEWMAN et KEULS.

Facteur	Type	Moyenne± écart-type	Groupes Homogènes	Analyse de la variance				
				SCE	DDL	CM	Test F	PROBA
Type	HL7	47,08000	A	1938,49	8	242,31	5,994	0,000796
	HL6	47,69667	A					
	HL3	48,10000	A					
	HL1	50,14000	A					
	HL2	52,02333	A					
	HL8	54,17000	B					
	HL9	62,12333	B					
	HL5	67,22333	C					
	HL4	70,85333	C					

* Chaque valeur représente la moyenne ± l'écart type (n = 3).

Les résultats obtenus concordent avec ceux rapportés par Gutfinger (1981) et Ben Youssef *et al.* (2010) qui ont noté que la capacité anti-oxydante de l'huile d'olive est proportionnelle aux concentrations en polyphénols. Et selon Baiano *et al.* (2013), l'activité anti-oxydante des extraits méthanoliques de l'huile d'olive évaluée par la méthode au DPPH est significativement influencée par la variété des olives.

De plus, Turkmen *et al.* (2007), estiment que les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH en raison de leur structure chimique. Alors que Condelli *et al.* (2013) révèlent que les différences observées sont essentiellement dues aux profils phénoliques.

De même nos résultats révèlent ainsi que les différents échantillons d’huiles d’olives étudiées ont des propriétés anti radicalaires et montrent également que le pourcentage d’inhibition du radical libre est très significatif dans les différents extraits méthanoliques.

D’après Bougandoura et Bendimerad, (2012). Ils ont démontré que les molécules anti-oxydantes telles que l’acide ascorbique, tocophérol, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l’hydrogène (D’où les polyphénols contenus dans nos extraits sont probablement responsables de l’activité anti-oxydante.

IV. Activité anti-inflammatoire

Lorsque la BSA est chauffée, elle subit une dénaturation, caractéristique de celle qui se produit durant le processus inflammatoire.

Tableau 6. Analyse de la variance à un facteur de l’activité anti-inflammatoire et les groupes homogènes selon le test de NEWMAN et KEULS.

Facteur	Type	Moyenne± écart-type	Groupes Homogènes	Analyse de la variance				
				SCE	DDL	CM	Test F	PROBA
Type	HL9	13,39 ± 0,97	A	2056,99	8	257,12	1080,03	0,00
	HL7	15,12 ± 0,18	A					
	HL6	15,95 ± 0,28	A					
	HL8	20,85 ± 0,15	AB					
	HL2	27,25 ± 0,82	B					
	HL3	27,48 ± 0,31	B					
	HL1	29,94 ± 0,45	B					
	HL5	35,28 ± 0,24	C					
	HL4	39,59 ± 0,21	C					

* Chaque valeur représente la moyenne ± l’écart type (n = 3).

Le test de NEWMAN et KEULS classe les types d’HL en trois groupes homogènes. Dont HL9 avec une valeur la plus faible de 13.39 % et HL4 avec la valeur la plus élevée de 39.59% (tableau 6).

Tous les extraits méthanoliques présentent une réponse anti-inflammatoire. En effet, chaque extrait a montré une activité d'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA dont les valeurs sont comprises entre 13.39 % et 39.59 %.

Les extraits méthanoliques de l'huile d'olive présentent donc une bonne activité anti-dénaturante. De ce fait, les activités prometteuses des extraits confirment le potentiel thérapeutique de l'huile d'olive et leur utilisation traditionnelles comme traitement selon lesquelles les extraits seraient utilisés dans plusieurs maladies inflammatoires chroniques notamment dans l'asthme.

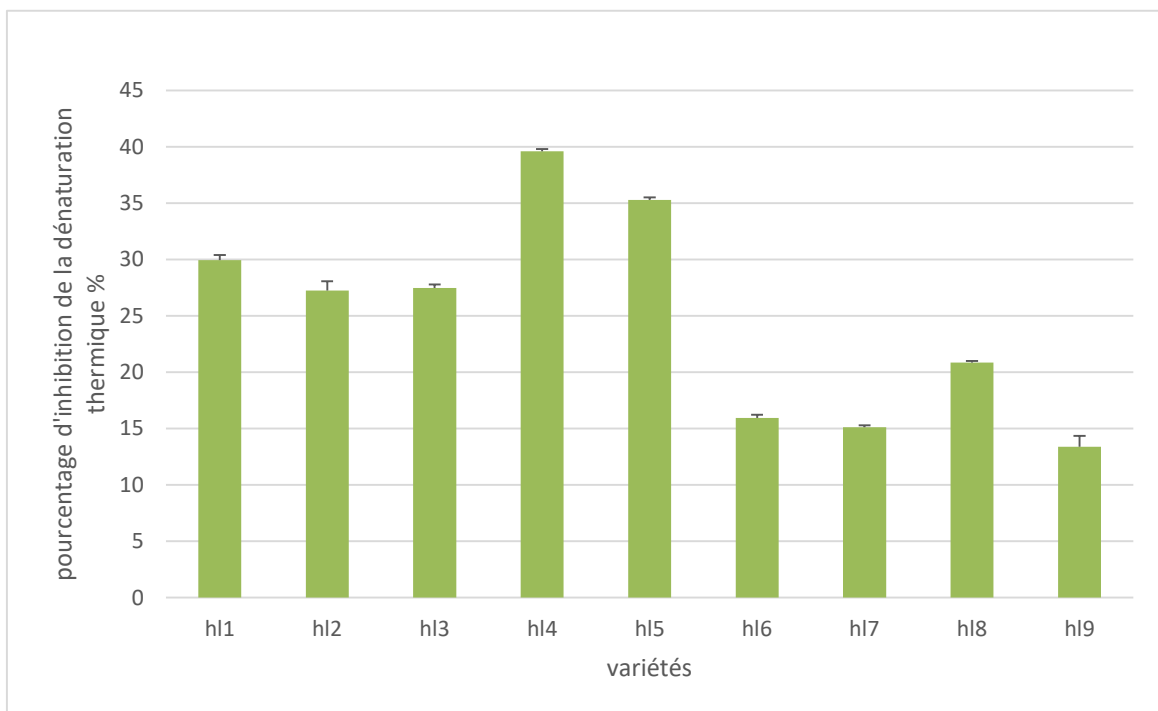


Figure 4. Résultats de l'activité anti-inflammatoire des extraits méthanoliques de l'huile d'olive étudiés.

Les résultats illustrés sur la figure 4 montrent la présence d'effet biologique important des différents extraits méthanoliques d'huile d'olive étudiées, y compris leur capacité de traiter les troubles inflammatoires. Ces effets seraient dû principalement à la présence des différents composés phénoliques l'oléuropeine et l'hydroxytyrosol dans d'Oléa europaea. L'oléuropeine s'est révélée être un antioxydant puissant doté de propriétés anti-inflammatoires (Deghdegh *et al.*, 2017).

Les résultats obtenus par l'analyse de la variance à un facteur (HL) montrent que l'activité anti inflammatoire varie de façon hautement significative en fonction du type de l'huile d'olive (HL) sur les différents paramètres à savoir, la couleur des olives, la région et saison oléicole ($P = 0.0005$).

V. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques par diffusion sur milieu gélosé

L'activité antibactérienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour du disque contenant l'extrait à tester, cette activité est exprimée par le diamètre de la zone d'inhibition (mm). Les résultats relatifs à l'activité antibactérienne de diverses concentrations d'extraits méthanoliques pour l'ensemble des variétés d'huile d'olive sont regroupés dans les tableaux 1 et 2. En général, on remarque que la plupart des extraits agissent surtout sur *S. aureus*. Il est aussi à noter que l'activité est proportionnelle (en termes de diamètre d'inhibition) aux concentrations des extraits testés. L'extrait de la région de Ouaguenoun des saisons 2009 et 2011 montre une meilleure activité antibactérienne à l'égard des trois souches testées. Nous avons noté aussi l'absence d'activité antibactérienne au tour des disques imprégnés par le solvant d'extraction méthanol/eau (60/40) et le DMSO qui sont considéré comme témoin négatif.

Selon Pereira *et al.* (2006), on distingue différents niveaux d'activité des extraits en se basant sur le diamètre (D) des zones d'inhibitions : aucune activité : $D = 0$ mm, faible activité : $2 \text{ mm} \leq D \leq 3 \text{ mm}$, activité intermédiaire : $4 \text{ mm} \leq D \leq 5 \text{ mm}$, forte activité : $6 \text{ mm} \leq D \leq 9 \text{ mm}$ et très forte activité : $D > 9$.

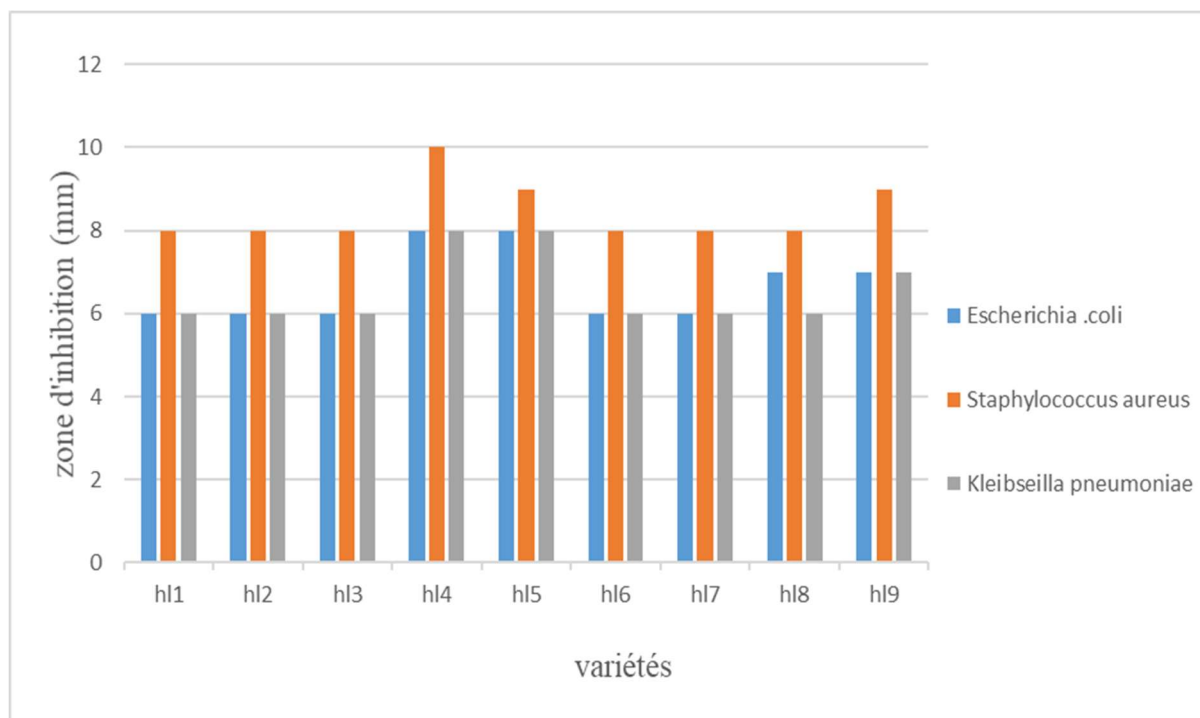


Figure 5. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques vis-à-vis des bactéries *Escherichia. coli*, *Kleibsiella. pneumoniae* et *Staphylococcus. aureus* isolées à partir de patients asthmatiques.

L'activité antibactérienne testée par la méthode de diffusion sur disques avec des concentrations croissantes ([0.25], [0.5], [1]) montre des zones d'inhibition de diamètres variables (0 – 0 – 6.66), (0 – 0 – 8.44), (0– 0 – 6.55) pour les bactéries : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebseilla pneumoniae* respectivement. De ce fait l'extrait méthanolique exerce un effet inhibiteur sur la croissance des bactéries.

V.1.1. Activité des extraits méthanoliques vis-à-vis d'*Escherichia coli* et de *Klebseilla pneumoniae*

Les neuf extraits méthanoliques testés ont exercé un effet antibactérien sur *E. coli* et *K. pneumoniae*. Une forte activité inhibitrice a été noté à une concentration de 1mg/disque vis-à-vis des deux souches testées pour les différents extraits méthanoliques. Ainsi pour *E. coli* et *K. pneumoniae* les diamètres des zones d'inhibition oscillent entre 6 à 8 mm exerçant ainsi une forte activité sur ces deux souches bactériennes.

Tableau 7. Activité antibactérienne des extraits méthanoïques vis-à-vis d'*E. coli* et de *K. pneumoniae*.

Origine	Couleur des olives	Année de récolte	Concentration (mg/disque)	Diamètre de la zone d'inhibition (mm) des extraits vis-à-vis à différentes souches	
				<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>
Boukhalfa (hl1)	Vert	2018	0.25	--	--
			0.5	--	--
			1	6	6
Boukhalfa (hl2)	Violet	2018	0.25	--	--
			0.5	--	--
			1	6	6
Boukhalfa (hl3)	Noir	2018	0.25	--	--
			0.5	--	--
			1	6	6
Ouaguenoun (hl4)	Noir	2009	0.25	--	--
			0.5	--	--
			1	8	8
Ouaguenoun (hl5)	Noir	2011	0.25	--	--
			0.5	--	--
			1	8	8
Ouaguenoun (hl6)	Noir	2017	0.25	--	--
			0.5	--	--
			1	6	6
Ouaguenoun (hl7)	Noir	2018	0.25	--	--
			0.5	--	--
			1	6	6
Ifri ouzellaguen (hl8)	Noir	2018	0.25	--	--
			0.5	--	--
			1	7	6
Mechtras (hl9)	Noir	2018	0.25	--	--
			0.5	--	--
			1	7	7

*--: Pas de zone d'inhibition observée.

Nous avons noté un diamètre maximal de 8mm pour une concentration de 1 mg/disque pour les extraits hl4 et hl5 issus de la région de Ouaguenoun des saisons 2009 et 2011 respectivement avec une couleur noire des olives pour les deux extraits vis-à-vis des deux souches bactériennes *E. coli* et *K. pneumoniae* (annexe II, fig. 13-14-16-17). Et un diamètre de 7mm pour une concentration de 1 mg/disque pour les extraits hl8 et hl9 issus de la région de Ifri ouzellaguen et Mechtras de la saison 2018 avec une couleur noire des olives pour les deux extraits vis-à-vis d'*E. coli* (annexe II, fig. 18-19), exerçant ainsi une forte activité antibactérienne vis- à vis de cette souche. Par contre, les autres extraits présentent un effet

antibactérien plus au moins intermédiaire vis-à-vis d'*E. coli* et de *K. pneumoniae* à une concentration de 1mg/disque avec des diamètres de 6mm.

L'activité antibactérienne enregistrée est due aux composés phénoliques présents dans les différents extraits méthanoliques des huiles d'olive. En effet, plusieurs travaux de recherche ont signalé le potentiel des composés phénoliques de l'huile d'olive dans l'inhibition d'innombrables bactéries pathogènes (Bisignano *et al.*, 1999 ; Furneri *et al.*, 2004 ; Medina *et al.*, 2006 ; Romero *et al.*, 2007 ; Karaosmanglu *et al.*, 2010 ; Bubonja-Sonje *et al.*, 2011 ; Cicerale *et al.*, 2012 ; Shah *et al.*, 2013).

Les résultats négatifs (absence de zone d'inhibition) n'indiquent pas automatiquement l'absence de l'activité, mais ceci pourrait être dû aux faibles concentrations de l'extrait. En effet, d'après Nychas *et al.* (1990) et Sousa *et al.* (2015), l'activité ainsi que le mode d'action des polyphénols dépendent de leur concentration.

V.1.2. Activité des extraits méthanoliques vis-à-vis de *S. aureus*

Les neuf extraits méthanoliques testés ont exercé un effet antibactérien sur *S. aureus*.

Les résultats obtenus (tableau 8) montrent le diamètre des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques des huiles d'olives vis-à-vis de la souche bactérienne *S. aureus*. Les diamètres des zones d'inhibition varient de 8 mm (extrait de Boukhalifa de la saison 2018, extrait de Ouaguenoun des saisons 2017 et 2018 et l'extrait d'Ifri ouzellaguen de la saison 2018 à une concentration de 1mg/disque) à 10mm (extrait de Ouaguenoun de la saison 2009 à 1 mg/disque). Donc, tous les extraits testés à différentes concentrations ont montré une activité antibactérienne vis-à-vis de *S. aureus* mis à part aux concentrations 0.5 et 0.25 mg/disque ou aucune zone d'inhibition n'a été observée pour les différents extraits testés.

Tableau 8. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques vis-à-vis de *S. aureus*.

Origine	Couleur des olives	Année de récolte	Concentration (mg/disque)	Diamètre d'inhibition vis-à-vis de <i>S. aureus</i>
Boukhalfa (hl1)	Vert	2018	0.25	--
			0.5	--
			1	8
Boukhalfa (hl2)	Violet	2018	0.25	--
			0.5	--
			1	8
Boukhalfa (hl3)	Noir	2018	0.25	--
			0.5	--
			1	8
Ouaguenoun (hl4)	Noir	2009	0.25	--
			0.5	--
			1	10
Ouaguenoun (hl5)	Noir	2011	0.25	--
			0.5	--
			1	9
Ouaguenoun (hl6)	Noir	2017	0.25	--
			0.5	--
			1	8
Ouaguenoun (hl7)	Noir	2018	0.25	--
			0.5	--
			1	8
Ifri ouzellaguen (hl8)	Noir	2018	0.25	--
			0.5	--
			1	8
Mechtras (hl9)	Noir	2018	0.25	--
			0.5	--
			1	9

*--: Pas de zone d'inhibition observée.

L'activité antibactérienne est proportionnelle à la concentration de l'extrait. Les meilleures activités (en termes de diamètre de la zone d'inhibition) ont été obtenues avec les extraits de Ouaguenoun des saisons 2009 avec une très forte activité antibactérienne (10mm) (Annexe II, fig. 7), suivie de l'extrait de Ouaguenoun de la saison 2011 (annexe II, fig. 8) et l'extrait de Mechtras de la saison 2018 avec une forte activité antibactérienne (9mm) (annexe II, fig. 11) à une concentration de 1 mg/disque (figure 1).

Le reste des extraits hl1, hl2, hl3, hl6, hl7 et hl8 présentent aussi une forte activité antibactérienne vis-à-vis de *S. aureus* avec des zones d'inhibitions de 8mm pour une concentration de 1mg/disque (annexe II, fig. 4-5-6-9-10-11).

A partir des résultats obtenus, nous avons constaté la présence de différences et parfois significatives ($p < 0,05$) dans les diamètres des zones d'inhibition en fonction de l'extrait méthanolique testé. Cette variabilité peut être due à la sensibilité des microorganismes aux différents composés phénoliques présents dans ces extraits.

En utilisant des extraits phénoliques purs d'hydroxytyrosol, Obied *et al.* (2007) ont observé des diamètres d'inhibition de 20 mm sur *S. aureus* avec des concentrations de 0,3 mg/disque. De même, des CMI allant de 3,9-31,25 µg/ml ont été rapportées par Bisignano *et al.* (1999), indiquant la grande sensibilité de cette souche vis-à-vis de l'hydroxytyrosol, nos résultats sont en accord concernant la sensibilité élevée de *S. aureus* vis-à-vis des extraits de Ouaguenoun des saisons 2009 et 2011 qui enregistrent les taux les plus élevés en composés phénoliques. Cependant, un extrait brut peut contenir plusieurs biomolécules avec des activités biologiques différentes et de ce fait, peuvent avoir des effets antagonistes.

En comparant les zones d'inhibition obtenues avec les différents extraits, nous constatons que les trois souches testées ont des sensibilités différentes. En effet, *S. aureus* est la souche la plus sensible avec des zones d'inhibitions plus importantes comparée aux autres souches (*E. coli* et *K. pneumoniae*). De ce fait, les composés phénoliques présents dans nos extraits semblent avoir une meilleure activité à l'égard des bactéries Gram positif que sur les Gram négatif, ce qui est en accord avec Rahman *et al.* (2009) qui ont abouti aux mêmes constatations. Plusieurs auteurs ont expliqué cette résistance par rapport à la bicouche lipidique présente chez les Gram négatif, qui constitue une barrière pour les polyphénols (Al-Younis et Abdullah, 2008 ; Masibo et He, 2009).

V.1.3. Activité des différents antibiotiques vis-à-vis des bactéries *E. coli*, *K. pneumoniae* et *S. aureus* isolées à partir de patients asthmatiques

Dans notre étude nous avons choisi de tester deux type d'antibiotiques Ciprofloxacine 5 (CIP5) et Cefotaxime 30 (CAZ30) sur nos souches bactériennes *E. coli*, *K. pneumoniae* et *S. aureus* isolées à partir de crachats des patients asthmatiques pour évaluer leurs efficacités dans l'inhibitions de la croissance des bactéries pathogènes à l'origines des infections respiratoires à savoir l'asthme.

En effet, Ciprofloxacine est utilisé chez les adultes ainsi que chez les enfants pour le traitement des infections bactériennes des voies respiratoires, les infections des bronches et des poumons, ainsi que Cefotaxime qui est utilisé dans le traitement des patients présentant une

bactériémie associée notamment aux infections broncho-pulmonaires et les pneumonies nosocomiales.

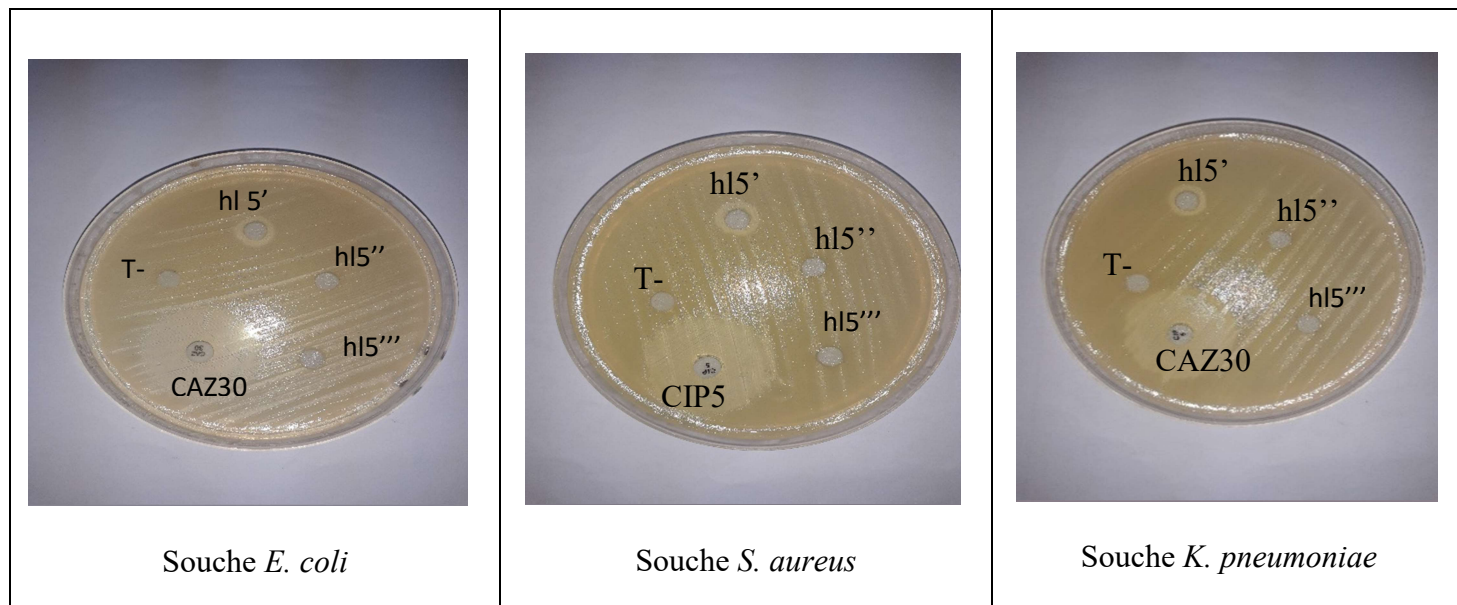


Figure 6. Antibiogramme des souches *E. coli*, *S. aureus* et *K. pneumoniae*.

Tableau 9. Résultats de l'antibiogramme sur les souches *E. coli*, *K. pneumoniae* et *S. aureus*.

Diamètre de la zone d'inhibition (mm) des antibiotiques vis-à-vis à différentes souches		
CAZ30 sur <i>E. coli</i>	CIP5 sur <i>S. aureus</i>	CAZ30 sur <i>K. pneumoniae</i>
21	25	28

Les résultats obtenus (tableau 3) montrent le diamètre des zones d'inhibition des différents antibiotiques Ciprofloxacine 5 (CIP5) et Ceftazidime 30 (CAZ30) vis-à-vis des souches bactériennes *E. coli*, *K. pneumoniae* et *S. aureus*.

Les diamètres des zones d'inhibition de CAZ 30 varient de 21mm (sur *E. coli*) à 28mm (sur *K. pneumoniae*). Et le diamètre d'inhibition de CIP5 sur (*S. aureus*) est de 25mm. Donc, tous les antibiotiques testés ont exercé une très forte activité vis-à-vis des trois souches bactériennes.

En comparant les zones d'inhibitions obtenues par les extraits des différentes huiles d'olives étudiées, nous constatons que les antibiotiques CIP5 et CAZ30 ont exercé une forte

inhibition sur la croissance des bactéries isolées de crachats des patients asthmatiques par rapport aux activités inhibitrices exercées par les différents extraits d'huile d'olive ceci est dû notamment aux concentrations de ces derniers en composés phénoliques potentiellement responsables de cette activité inhibitrice.

V.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB)

Tableau 10. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) des extraits méthanoliques des différents échantillons d'huile d'olive étudiés.

Origine	CMI en mg/ml			CMB en mg/ml		
	E. coli	K. pneumoniae	S. aureus	E. coli	K. pneumoniae	S. aureus
Boukhalfa (hl1)	1.8	1.8	1.4	2	≥2	1.6
Boukhalfa (hl2)	1.8	1.8	1.4	2	≥2	1.6
Boukhalfa (hl3)	1.8	1.8	1.4	2	≥2	1.6
Ouaguenoun (hl4)	1.6	2	0.8	2	≥2	1
Ouaguenoun (hl5)	1.6	2	0.8	1.8	≥2	1
Ouaguenoun (hl6)	1.8	1.8	1.2	1.8	≥2	1.4
Ouaguenoun (hl7)	1.8	1.8	1.2	2	≥2	1.4
Ifri ouzellaguen (hl8)	1.8	1.8	1.6	2	≥2	1.8
Mechtras (hl9)	1.8	1.8	1	2	≥2	1.2

Le tableau 10 regroupe les résultats relatifs aux CMI et CMB des différents extraits méthanoliques obtenus sur les souches testées *E. coli*, *K. pneumoniae* et *S. aureus* qui sont révélées sensibles avec le test des disques (présence de zone d'inhibition). Globalement, l'activité antibactérienne des extraits de Ouaguenoun des saisons 2009 et 2011 est plus importante par rapport aux autres extraits avec un spectre antibactérien plus large et des doses plus faibles.

La détermination des CMI et CMB relatives aux extraits méthanoliques a mis en évidence des niveaux d'activité antibactérienne variables selon l'extrait utilisé et la souche testée.

Les CMI indiquées dans le tableaux 10 montrent des preuves quantitatives de l'activité antimicrobienne des différents extraits d'huile d'olive étudiés. La CMI des extraits varient de 0.8 à 2 mg/ml sur la plupart des bactéries testées.

En fait, la croissance de *S. aureus* est significativement inhibé par des concentrations allant de 0.8 à 1.6mg/ml. La valeur de CMI la plus faible a été observé pour les extraits de la région de Ouaguenoun des saisons 2009 et 2011 (0,8 mg/ml). Tandis que les extraits de la région de Boukhalfa et Ifri ouzellaguen révèlent les valeurs les plus élevées, soit une CMI de 1,4 et 1,6 mg/ml respectivement et une CMB de 1,6 et 1.8mg/ml respectivement. Quant au reste des extraits, une CMI de 1,2mg/ml est notée pour l'extrait de la région de Ouaguenoun des saisons 2017 et 2018, et 1,2 mg/ml pour l'extrait de Mechtras.

Ces valeurs de CMI sont supérieures à celles rapportés par Pereira *et al.*, (2006). Dont *S. aureus* a montré une sensibilité plus élevée aux différents extraits avec une zone d'inhibition plus grande et une CMI plus faible.

En effet, nos résultats se rapprochent de ceux rapportés par Filomena *et al.* (2019), qui démontrent que certains polyphénols contenus dans l'huile d'olive sont capables d'inhiber la croissance de différentes bactéries incluant celles responsables de quelques infections respiratoires à savoir l'asthme.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus Brenes *et al.*, (2006) qui ont suggérer une sensibilité plus élevée des bactéries à Gram positif pathogènes aux polyphénols par rapport aux bactéries à Gram négatif cela peut être dû aux différences dans la structure de la paroi cellulaire de la bactérie. En effet, Moins la structure de la paroi est complexe chez les bactéries à Gram positif, plus elle est perméable aux composés antimicrobiens (Papadopoulou *et al.*, 2005).

Concernant les souches *E. coli* et *K. pneumoniae*, nous notons une moindre efficacité de nos extraits par rapport à *S. aureus*, les extraits testés ont dévoilés des CMI à l'égard d'*E. coli* d'ordre de 1,6 à 1.8 mg/ml et des CMI à l'égard de *K. pneumoniae* de l'ordre de 1.8 à 2mg/ml.

Les différents extraits ont montré un effet bactéricide à l'égard de la souche *E. coli* et *K. pneumoniae* pour lesquelles des CMB sont notées à la plus grande concentration testée (2 mg/ml).

De plus, nous constatons également, que *K. pneumoniae* est l'espèce la plus résistante aux extraits méthanoliques testés, avec des valeurs de CMI et CMB de 1.8 à 2mg/ml, suivie de *E. coli* pour laquelle on relève une CMI de 1,6 mg/ml a été observée pour les deux extraits méthanoliques de la région de Ouaguenoun des saisons 2009 et 2011 et une CMB de 1,8 à 2mg/ml.

D'une manière intéressante, nos résultats sont proches de ceux obtenus par Sousa *et al.* (2006), par rapport à l'ordre de sensibilité des souches à l'égard de l'extrait méthanolique de l'olive de table. Les CMI les plus faibles sont obtenues pour les souches *S. aureus* qui s'avère être l'espèce la plus sensible, tandis que les espèces *K. pneumoniae* et *E. coli* enregistrent les CMI les plus élevées dévoilant ainsi leur résistance.

D'après Taguri *et al.* (2004), la sensibilité des bactéries aux polyphénols dépend de l'espèce bactérienne et de la structure des composés phénoliques. Malgré que le mécanisme exact ne soit pas encore connu, plusieurs auteurs ont observé une augmentation de l'activité antibactérienne des composés phénoliques avec l'augmentation des groupements hydroxyles portés par ces molécules.

Conclusion

Conclusion générale

L'étude réalisée a pour but de déterminer les pouvoirs antioxydant, anti-inflammatoire et antimicrobien des extraits d'huile d'olive de neuf variétés algériennes issues de différentes localités (Boukhalfa, Mechtras, Ouaguenoun et Ifri Ouzellaguen) de la Kabylie en Algérie.

L'étude comparative entre les neuf variétés a révélé que les teneurs en composés phénoliques totaux, flavonoïdes, sont significativement différentes, cela peut être due à l'effet variétal. En effet, nos résultats ont révélé que les teneurs les plus élevées ont été observées dans l'huile de la localité de Ouaguenoun, obtenue à partir d'olives noires lors des saisons 2009 et 2011.

D'autre part, l'activité anti-oxydante et l'activité anti inflammatoire des extraits méthanoliques des huiles d'olive varient considérablement en fonction de la concentration en composés phénoliques qui sont eux même fonction de la variété, du stade de maturation des olives et de l'origine géographique.

De plus, les résultats obtenus confirment l'intérêt de la consommation de l'huile d'olive, vu leurs teneurs considérables en divers composés phénolique piégeant les radicaux libres qui sont à l'origine de nombreuses maladies inflammatoires.

Parallèlement, l'étude de l'activité antibactérienne a montré que les différents extraits d'huile d'olive ont inhibé la croissance des bactéries isolées à partir des crachats de patients asthmatiques notamment *E. coli*, *K. pneumoniae* et *S. aureus*. L'huile de la localité de Ouaguenoun et l'huile de la localité de Mechtras obtenue à partir d'olives noires lors de la saison 2018 ont révélé l'activité inhibitrice la plus élevée contre les différentes souches bactériennes étudiées.

D'une manière intéressante, les résultats obtenus dans ce travail montrent que l'huile d'olive de la Kabylie possède des potentiels anti-oxydant et anti-inflammatoire non négligeables, en plus d'un pouvoir antibactérien sur des bactéries isolées à partir de crachats de patients asthmatiques. De ce fait, l'huile d'olive pourrait avoir potentiel thérapeutique dans les maladies inflammatoires, en particulier dans la maladie de l'asthme.

-En perspectives, il serait intéressant de :

- ✓ Elargir l'étude sur d'autres variétés algériennes ;
- ✓ Tester les composés identifiés individuellement par HPLC ;

- ✓ Examiner l'effet anti-inflammatoire de la meilleure huile d'olive sur des enzymes inflammatoires.

*Références
bibliographiques*

Références

“A”

- Adnan M., Bibi R., Mussarat S., Tariq A., Shinwari ZK. (2014). Ethnomedicinal and phytochemical review of Pakistani medicinal plants used as antibacterial agents against *Escherichia coli*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 13 :1-40
- Aganchich B., El Antari A., Wahbi S., Tahi H., Wakrim R. et Serraj R. (2008). Fruit and oil quality of mature olive trees under partial root zone drying in field conditions. *Grasas y Aceites*, 59 (3): 225-233.
- Aguilera M.P., Beltran G., Ortega D., Fernandez A., Jimenez A. et Uceda M. (2005). Characterization of virgin olive oil of Italian olive cultivars: ‘Frantoio’ and ‘Leccino’, grown in Andalusia. *Food Chemistry*, 89: 387–391.
- Alarcón de la Lastra C., Barranco MD., Motilva V. et Herrerías JM. (2001). Mediterranean diet and health: biological important of olive oil. *Current Pharmaceutical Design*, 7 (10): 933-950.
- Al-Younis K.N. and Abdullah Z.M. (2008). Isolation and antibacterial evaluation of plant extracts from some medicinal plants in Kurdistan region. *Journal of Dohuk University*, 12 (1): 250-255
- Aravodis, E. (2005). Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4 (2):128-133.

“B”

- Baiano A., Gambacorta G., Terracone C., Previtali M.A., Lamacchia C. et La Notte E. (2009). Changes in phenolic content and antioxidant activity of Italian extra-virgin olive oils during storage. *Journal of Food Science*, 74(2): 177-183.
- Baiano. A., Terracone C., Viggiani I. et Alessandro M. (2013). Effects of Cultivars and Location on Quality, Phenolic Content, *American oil chemists Society*, 90:103-111.
- Bendini A., Bonoli M., Cerretoni L., Bigguzi B., Lercker G. and Toschi T.G. (2003). Liquidliquid and solid-phase extractions of phenols from virgin olives oil and their separation by chromatographic and electrophoretic methods. *Journal of Chromatography*, 985 : 425-433.
- Ben Youssef N., Zarrouk W., Carrasco-Pancorbo A., Ouni Y., Segura-Carretero A., Fernandez-Gutierrez A., Daoud D. et Zarrouk M. (2010). Effect of olive ripeness on

chemical properties and phenolic composition of chétoui virgin olive oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90: 199-204.

- Berra B. (1998). Les composants mineurs de l'huile d'olive : aspects biochimiques et nutritionnels. *Olivae*, 73 : 29-30.
- Bisignano G., Tomaino A., Lo Cascio R., Crisafi G., Uccelle N. and Saija A. (1999). On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 51 : 971-974.
- Bougandoura N. et Bendimerad N. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanoliques de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.) Briq.* Revue « *Nature & Technologie* ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n°09/Juin 2013. P14-19.
- Bouzenoune F., Boudersa F., Bensaad A., Harkat F. and Siad N. (2009). Les infections urinaires à Ain M'lila (Algérie). Résistance aux antibiotiques des 239 souches isolées entre 2006 et 2007. *Médecine et maladies infectieuses*, 39 : 142-143.
- Brahim S. et Boutagrabet K. (2008). Activité antioxydante des extraits phénoliques de quelques variétés de l'huile d'olive algérienne. Mémoire d'ingénieur en contrôle de qualité et analyse alimentaire. Université Abderrahmane Mira de Béjaia.
- Bravo L. (1998). Polyphenols : Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56 : 317-333.
- Brenes M., Garcia A., Garcia P. et Garrido A. (2006). Acid hydrolysis of secoridoid aglycons during storage of virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11): 5609-5614.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3^{ème} éd.). Paris : Editions médicales internationales, éditions *Tec & Doc Lavoisier*, 1120 p.
- Bubonja-Sonje A., Giacometti J., Abram M. (2011). Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry*, 127 : 1821-827.

“C”

- Cakmak, A., Zeyrek, D., Atas, A., Selek, S., Erel, O. (2009). Oxidative status and paraoxonase activity in children with asthma. *Clin. Invest. Med.* 32, 327-334.
- Cho, Y.S., Moon, H., (2010). The Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Asthma. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 2, 183-187.

- Cicerale S., Conlon X. A., Sinclair A.J. et Keast R.S. (2009). Chemistry and health of olive oil phenolics. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 49 (3) :218-836.
- Cicerale S., Lucas L. J. and Keast R. S. J. (2012). Antimicrobial, antioxidant and antiinflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. *Current Opinion in Biotechnology*, 23: 129-135.
- Comhair, S.A., Bhathena, P.R., Dweik, R.A., Kavuru, M., Erzurum, S.C. (2000). Rapid loss of superoxide dismutase activity during antigen-induced asthmatic response. *Lancet* 355, 624.
- Comhair, S.A., Bhathena, P.R., Farver, C., Thunnissen, F.B., Erzurum, S.C. (2001). Extracellular glutathione peroxidase induction in asthmatic lungs: evidence for redox regulation of expression in human airway epithelial cells. *FASEB J.* 15, 70-78.
- Comhair, S.A.A., Erzurum, S.C. (2010). Redox control of asthma: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *Antioxid. Redox Signal* 12, 93-124.
- Condelli N., Caruso M. C., Galgano F., Russo D., Milella L. et Favati F. (2013). Prediction of the antioxidant activity of extra virgin olive oils produced in the Mediterranean area. *Food Chemistry*, 177: 233–239.
- Covas M.I. (2007). Olive oil and the cardiovascular system. *Nutritional Pharmacology*, 55 (3): 175-186.

“D”

- Deghdegh F., Abbachi S., Bouharma W. (2017). Evaluation de l’activité anti-inflammatoire in vivo de l’extrait des feuilles d’*Olea europaea* .L. Université des frères Mentouri, Constantine.
- De La Torre-Carbot K., Jauregui O., Gimeno E., Castellote A. I., Lamuela-Raventós R. M. and López-Sabater M. C. (2005). Characterization and quantification of phenolic compounds in olive oils by solid-phase extraction, HPLC-DAD, and HPLC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(11): 4331-4340.
- De Raeve, H.R., Thunnissen, F.B., Kaneko, F.T., Guo, F.H., Lewis, M., Kavuru, M.S., Secic, M., Thomassen, M.J., Erzurum, S.C. (1997). Decreased Cu,Zn-SOD activity in asthmatic airway epithelium: correction by inhaled corticosteroid in vivo. *Am. J. Physiol.* 272, L148-154.

- De Stefano G., Piacquadio P., Servili M., Di Giovacchino L. et Sciancalepore V. (1999). Effect Of extraction systems on the phenolic composition of virgin olive oils. *Fett/Lipid*, 101(9) : 328-332.
- Dubois V., Breton S., Linder M. (2008). Proposition de classement des sources végétales d'acides gras en fonction de leur profil nutritionnel. *Oléagineux Corps gras Lipides*, 15: 56-75.
- Dugo G., Lo Turco V., Pollicino D., Mavrogeni E. et Piptone F. (2004). Caractérisation d'huile d'olive vierge siciliennes. Variation qualitative des huiles des fruits des cultivars « Biancolilla, Nocellara del Belice, Cerasuola, Tonda Iblea et Crastu » en fonction des techniques et de l'époque de récolte des olives. *Olivae*, 101 : 44-52.

“E”

- Effendi L., Yajun Y. (2008). Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metab.Eng.*8: 172-181

“F”

- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Bouraoui, N. K., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*, 331, 372 – 379.
- Favier, A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108 – 115.
- Fedeli, E. (1977). Lipids of olives. *Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids*, 15, 57–74.
- Filomena Nazzaro., Florinda Fratianni., Rosaria Cozzolino., Antonella Martignetti., Livia Malorni., Vincenzo De Feo., Adriano G. Cruz., Antonio d'Acierno. (2019). Antibacterial Activity of Three Extra Virgin Olive Oils of the Campania Region, Southern Italy, Related to Their Polyphenol Content and Composition. *Microorganisms*, 7, 321
- Furneri P.M., Piperno A., Saija A. and Bisignano G. (2004). Antimicrobial activity of hydroxytyrosol. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(12) : 4892-4894.

“G”

- Ghedira, K. (2008). L'olivier. *Phytothérapie*, 6(2), 83-89.

- Goamez S., Salvador M.D. et Fregapane G. (2002). Phenolic Compounds Profile of Cornicabra Virgin Olive Oil. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 50, 6812-6817.
- Guitoune T., et Selli N. (2015). Dosages biochimiques et mesure des activités biologiques (antioxydante et antifongique) des composés bioactifs du *Myrtus communis L.* université A. Mira, Bejaia.
- Gunathilake K. D.P.P., Ranaweera K. K.D.S., Vasantha Rupasinghe H. P. (2018). In vitro anti-inflammatory Properties of Selected Green Leafy Vegetables. *Biomedicines*, 6, 107.
- Gutfinger T. (1981). Phenols in olive oils. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 58: 966-998.
- Goupy P., Dufour C., Loonis M., and Dangles O. (2003). Quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the DPPH radical. *J. Agric. Food Chem.* 51, 615-622.

“H”

- Haddada F. M., Manai H., Ouslati I., Daoud D., Sanchez J., Osorio E. et Zarrouk M. (2007). Fatty Acid, Triacylglycerol, and Phytosterol Composition in Six Tunisian Olive Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 10941-10946.
- Harborne J B. (1998). How to characterize a biological antioxydant free radical How to characterize a biological antioxydant free radical? *International Standard Book Numbe.*
- Harwoode J., et Aparicio R. (2000). Handbook of olive oil- Analysis and properties, An Aspen publication, Ed. *Aspen Publishers Inc.* Gaithersburg, Maryland, USA, 620p.
- Hu S G., Li L. et He X W. (2005). Solid-phase extraction of esculetin from the ash bark of chinese traditional medicine by using molecularly imprinted polymers. *Journal of Chromatography A*, 1062:31-37.

“J”

- Jiang, Q., Ames, B. (2003). γ -tocopherol, but not α -tocopherol, decreases proinflammatory eicosanoids and inflammation damage in rats. *FASEB J* 17, 816-822.

“K”

- Karaosmanglu H., Soyer F., Ozen B., Tokatli F. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of turkish extra virgin olive oils. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58: 8238-8245.

- King A. et Young G. (1999). characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of the American dietetic association*.99:213-218.

“L”

- Lebham. (2005). Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).
- Lugasi A., Hovari J., Sagi K.V., et Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta. Biologica Szegedientis*. 1 (4): 119-125.

“M”

- Mabalirajan, U., Aich, J., Leishangthem, G.D., Sharma, S.K., Dinda, A.K., Ghosh, B. (2009). Effects of vitamin E on mitochondrial dysfunction and asthma features in an experimental allergic murine model. *J. Appl. Physiol.* 107, 1285-1292.
- Masibo M. and He Q. (2009). In vitro antimicrobial activity and the major polyphenol in leaf extract of *Mangifera indica* L. *Malaysian Journal of Microbiology*, 5(2): 2073-80.
- Medina E., De Castro A., Romero C. and Brenes M. (2006). Phenolic compounds in olive oil and other plant oils: correlation with antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (14): 4954-4961.
- Montedoro G.F., Servili M. Baldioli M. and Miniati E. (1992). Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their Extraction, Separation, and Quantitative and Semiquantitative Evaluation by HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 1571–1576.

“N”

- Negi P S., Jayaprakasha G K., et Jena B S. (2003). Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food Chemistry*. 80: 393–397.
- Nishida, S., Teramoto, K., Kimoto-Kinoshita, S., Tohda, Y., Nakajima, S., Tomura, T.T., Irimajiri, K. (2002). Change of Cu,Zn-superoxide dismutase activity of guinea pig lung in experimental asthma. *Free Radic. Res.* 36, 601606.
- Nychas G.J.E., Tassou S.C. and Board R.G. (1990). Phenolic extract from olives: inhibition of *Staphylococcus aureus*. *Letters in Applied Microbiology*, 10: 217-220.

“O”

- Obied H. K., Bedgood D. R., Prenzler P.D. and Robards, K. (2007). Bioscreening of Australian olive mill waste extracts: Biophenol content, antioxidant, antimicrobial and molluscicidal activities. *Food and Chemical Toxicology*, 45: 1238-1248.
- Okamoto, N., Murata, T., Tamai, H., Tanaka, H., Nagai, H. (2006). Effects of α -tocopherol and probucol supplements on allergen-induced airway inflammation and hyperresponsiveness in a mouse model of allergic asthma. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 141, 172-180.
- Oliveras-Lopez M.J., Innocenti M., Giaccherini C., Leri F., Romani A. et Mulinacci N. (2007). Study of the phenolic composition of Spanish and Italian monocultivar extra virgin olive oils: Distribution of lignans, secoridoidic, simple phenols and flavonoids. *Food Chem*, 73 :726-732.
- Ollivier D., Boubault E., Pinatel C., Souillol S., Guèrère M. et Artaud J. (2004). Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierges. *Annales des Falsifications, de l'Expertise Chimique et Toxicologique*, 965:169-196.
- Ordoñez AAL, Gomez JG, Vattuone MA, Isla MI. (2006). Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swart extracts. *Food Chem*, 97: 452–458.
- Owen R.W., Mier W., Giacosa A., Hull W. E., Spiegelhalder B. and Bartsch H. (2000). Identification of lignans as major components in the phenolic fraction of olive oil. *Clinical Chemistry*, 46: 976-988.

“p”

- Paz Romero M., Tovar M.J., Ramo T. et Motilva J. (2003). Effect of crop season on the composition of virgin olive oil with protected designation of origin « les Garrigues ». *Journal of American Oil Chemist's Society*, 8(5) :423-430.
- Peñalvo, G. C., Robledo, V. R., Callado, C. S. C., Santander-Ortega, M. J., Castro-Vázquez, L., Lozano, M. V., & Arroyo-Jiménez, M. M. (2016). Improving green enrichment of virgin olive oil by oregano. Effects on antioxidants. *Food chemistry*, 197, 509-515.
- Perrin J.L. (1992). Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. *Etude et Recherche*, 4: 25-31.

- Pirisi F. M., Cabras P., Falqui Cao C., Migliorini M. et Muggelli M. (2000). Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil. 2. Reappraisal of the Extraction, HPLC Separation, and Quantification Procedures. – *J. Agr. Food Chem*, 48: 1191-1196.
- Pereira J.A., Pereira A.P.G., Ferreira I.C.F.R., Valentao P., Andrade B.P., Seabra R., Estevinho L. and Bento A. (2006). Table olives from Portugal: phenolic compounds, antioxidant potential and antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (22): 8425-8431.

“R”

- Rahman, I., Biswas, S.K., Kode, A. (2006). Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. *Eur. J. Pharmacol.* 533, 222-239.
- Rahman A., Eun L.K. and Sun C.K. (2009). Antibacterial and antioxidant properties of ailanthus altissima swingle leaf extract to reduce food-borne pathogens and spoiling bacteria. *Journal of Food Safety*, 29: 499-510.
- Rehman A., Nouroozj. Et Moller W. (1999). Increased oxidative damage to all DNA bases in patients with type II diabetes mellitus. *EEBS*, 488:120-122.
- Reynaert, N.L., Wouters, E.F.M., Janssen-Heininger, Y.M.W. (2007). Modulation of glutaredoxin-1 expression in a mouse model of allergic airway disease. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 36, 147-151.
- Ribéreau-Gayon P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Ed. *Dunod*, Paris: 173-201.
- Romero C., Medina E., Vargas J., Brenes M. and De Castro A. (2007). In vitro activity of olive polyphenols against *Helicobacter pylori*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (3): 680-686.
- Rovellini P., Cortesi N. and Fedeli E. (1997). Analysis of flavonoids from *Olea europaea* by HPLC-UV and HPLC-ES-MS. *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 74: 273-279.
- Rovellini P. (2008). Elenolic acid in virgin olive oil: liquid chromatography-mass spectrometry method. *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 85: 21-31.
- Ryan D., Antolovich M., Prenzler P., Robards K. and Lavee S. (2002). Biotransformations of phenolic compounds in *Olea europaea* L. *Scientia Horticulturae*, 92: 147-176.

“S”

- Sahli A. et Mekersi S. (2005). Produits de terroirs Méditerranéens. *FemiseResearch* 22-35. Montpellier, France, pp. 107-143.
- Shah Q. A., Bibi F. and Shah A. H. (2013). Anti-Microbial Effects of Olive Oil and Vinegar against Salmonella and Escherichia coli. *The Pacific Journal of Science and Technology*, 14 (2): 479-486.
- Sekour, B. (2012). Phytoprotection de l’huile d’olive vierge (HOV) par ajout des plantes végétales (thym, ail, romarin).
- Servili M., Esposito S., Fabiani R., Urbani S., Taticchi A., Mariucci F., Selvaggini R. and Montedoro G.F. (2009). Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and Organoleptic activities according to their chemical structure. *Inflammopharmacology*, 17: 1-9.
- Servili M., Selvaggini R., Esposito S., Taticchi A., Montedoro G. et Morozzi G. (2004). Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: Agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography*, 1054: 113-127.
- Seyoum A., Asres K. et El-Fiky F K. (2006). Structure– radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*. 67: 2058–2070.
- Sousa A., Ferreira I.C.F.R., Calhella R., Andrade P.B., Valentao P., Seabra R., Estevinho L., Bento A. and Pereira J.A. (2006). Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives ‘Alcaparra’. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14: 8533-8538.

“T”

- Taguri T., Tanaka T., Kouno I. (2004). Antimicrobial activity of 10 different plant polyphenols against bacteria causing food-borne disease. *Biol. Pharm. Bull.* 27(12).
- Tapiero H., Tew K D., Nguyen B G. et Mathé G. (2002). Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies, *Biomed. pharmacother.* 56: 200-207.
- Turkmen, N., Velioglu, Y. S., Sari, F., & Polat, G. (2007). Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12(3), 484-496.

“V”

- Varshavskii, B.I., Trubnikov, G.V., Galaktimpva, L.P., Koreniak, N.A., Koledeznaia, I.L., Oberemok, A.N. (2003). Oxidant-antioxidant status of patients with bronchial asthma during inhalation and systemic glucocorticoid therapy. *Ter. Arkh.* 75, 21-24.
- Visioli F., Poli A. et Galli C. (2002). Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Medicinal Research Reviews*, 22 (1): 65-75.

“W”

- Wagner, J.G., Jiang, Q., Harkema, J.R., Ames, B.N., Illek, B., Roubey, R.A., Peden, D.B. (2008). γ -tocopherol prevents airway eosinophilia and mucous cell hyperplasia in experimentally induced allergic rhinitis and asthma. *Clin. Exp. Allergy* 38, 501-511.
- Wiser, J., Alexis, N.E., Jiang, Q., Wu, W., Robinette, C., Roubey, R., Peden, D.B. (2008). In vivo γ -tocopherol supplementation decreases systemic oxidative stress and cytokine responses of human monocytes in normal and asthmatic subjects. *Free Radic. Biol. Med.* 45, 40-49.
- Wood, L.G., Gibson, P.G. (2010). Reduced circulating antioxidant defences are associated with airway hyperresponsiveness, poor control and severe disease pattern in asthma. *Br. J. Nutr.* 103, 735-741.

“X”

- Xiuzhen H., Shen T., et Hongxiang L. (2007). Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal. Molecular Sciences.* 8 : 950-988.

“Y”

- Yamada, Y., Nakamura, H., Adachi, T., Sannohe, S., Oyamada, H., Kayaba, H., Yodoi, J., Chihara, J. (2003). Elevated serum levels of thioredoxin in patients with acute exacerbation of asthma. *Immunol. Lett.* 86, 199-205.

“Z”

- Zarrouk M., Marzouk B., Ben Miled Daoud D. et Chérif A. (1996). Accumulation de la matière grasse de l'olive et l'effet du sel sur sa composition. *Olivae*, 61: 41-45.

Annexes

Annexe 1

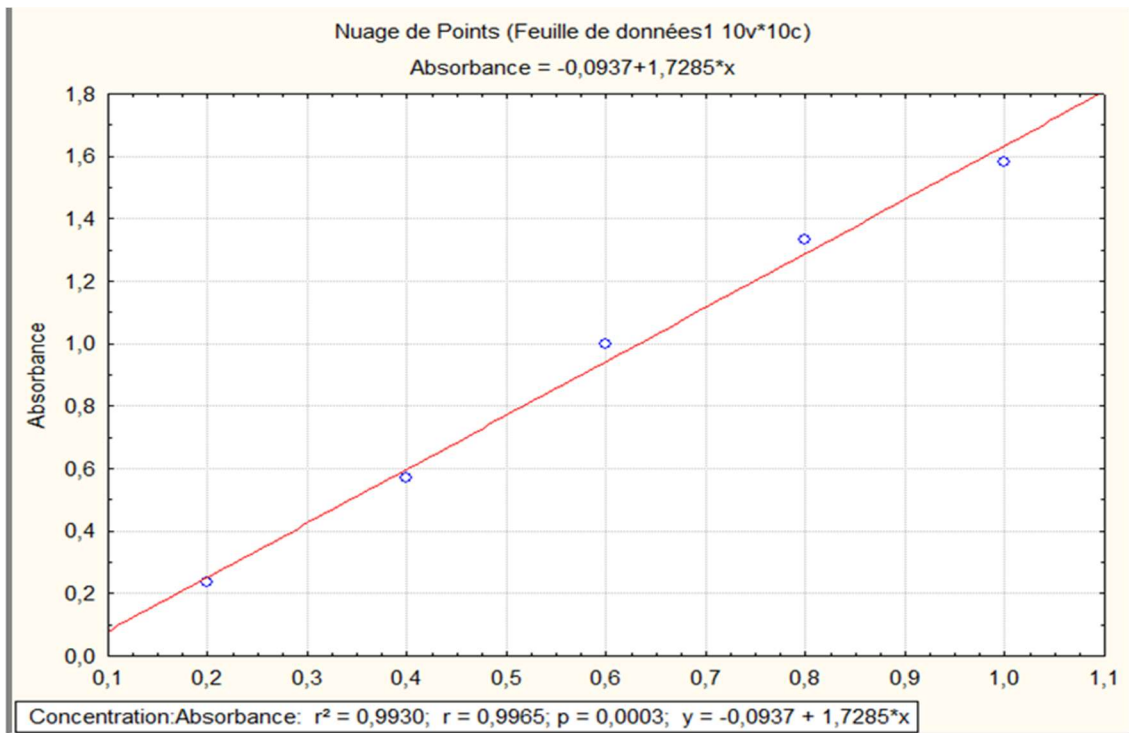


Fig 1. Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques totaux.

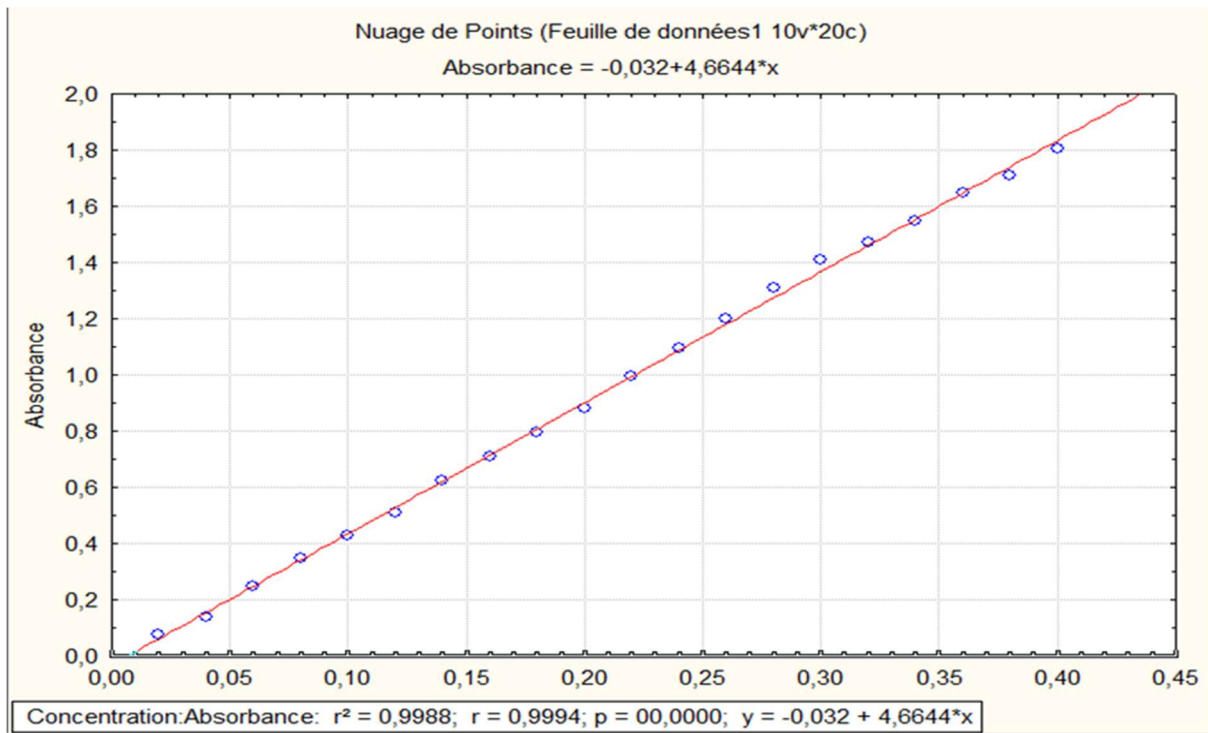


Fig 2. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.

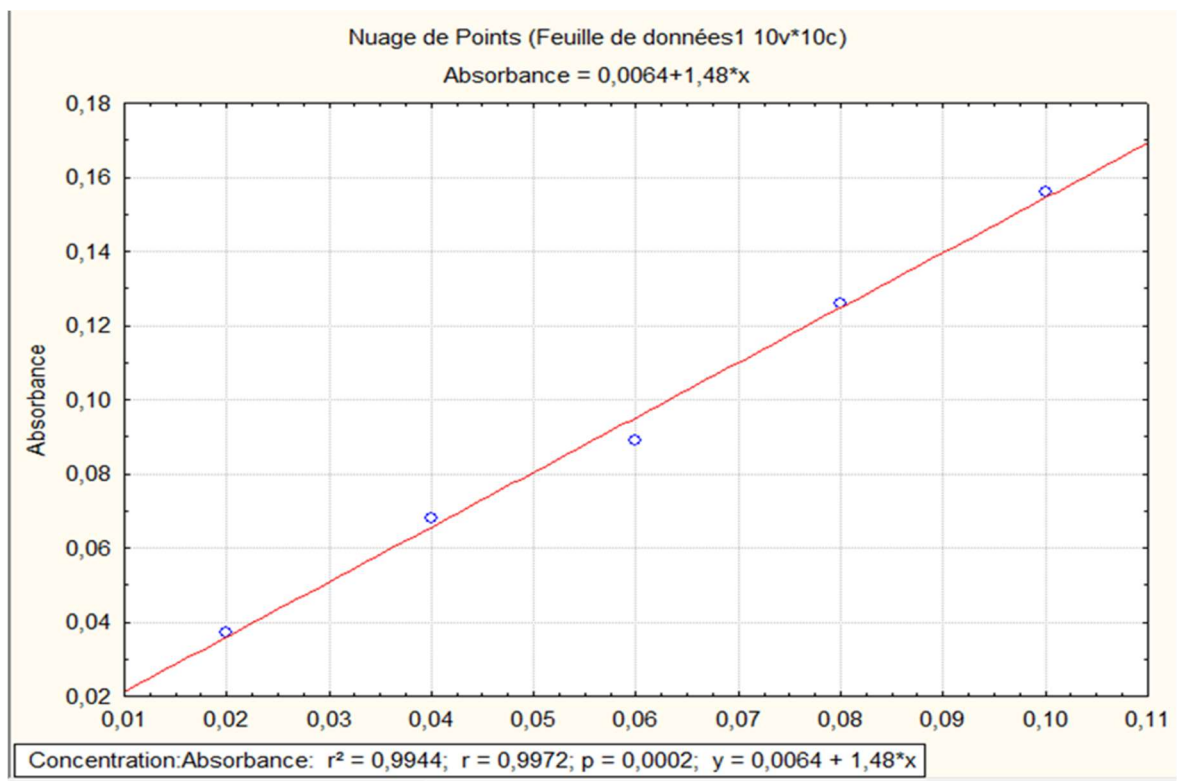


Fig 3. Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.

Annexe II

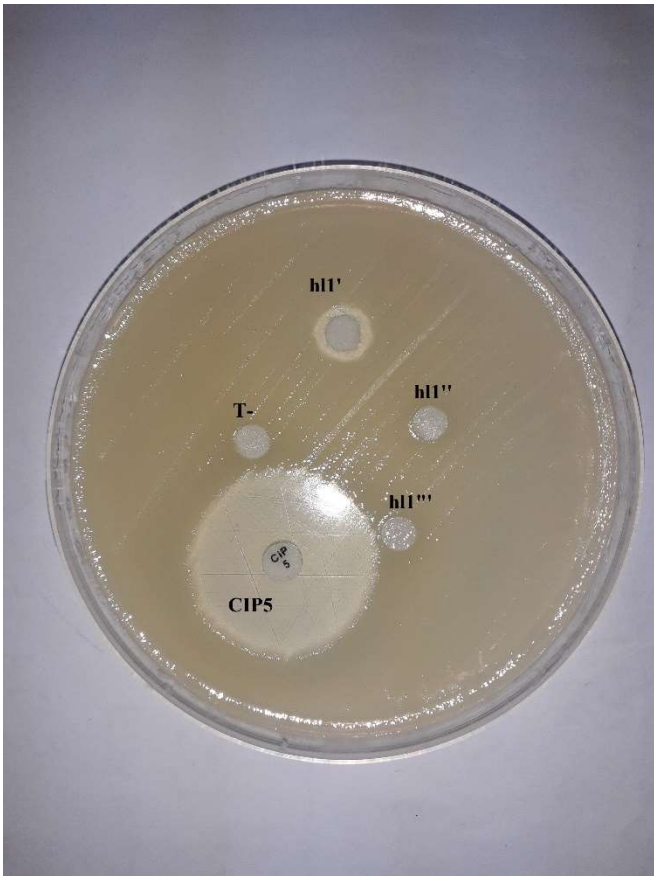


Fig 4. Activité antibactérienne de l'extrait h1 (*S. aureus*).



Fig 5. Activité antibactérienne de l'extrait h2 (*S. aureus*).

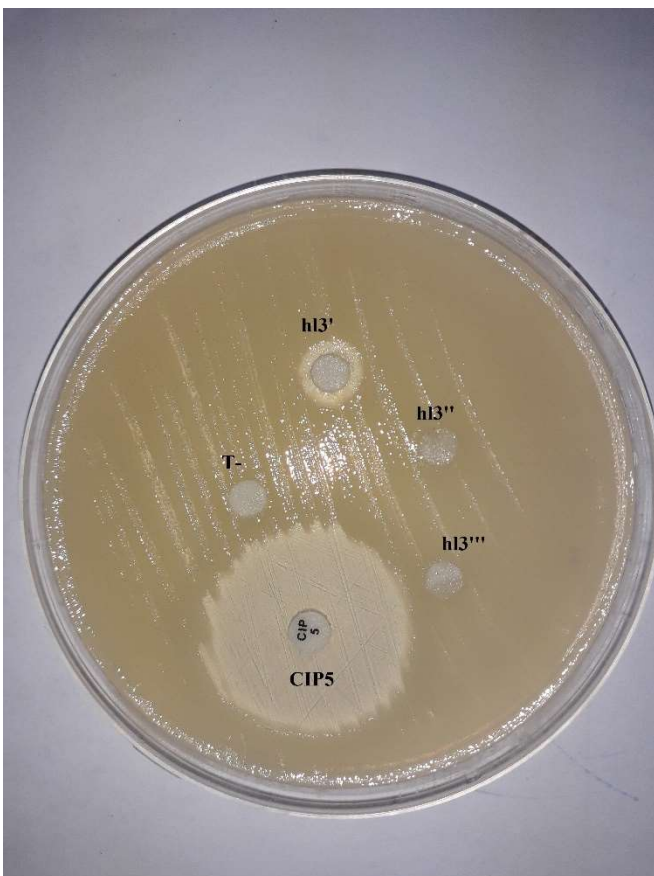


Fig 6. Activité antibactérienne de l'extrait h3 (*S. aureus*).



Fig 7. Activité antibactérienne de l'extrait h4 (*S. aureus*).

Annexe II

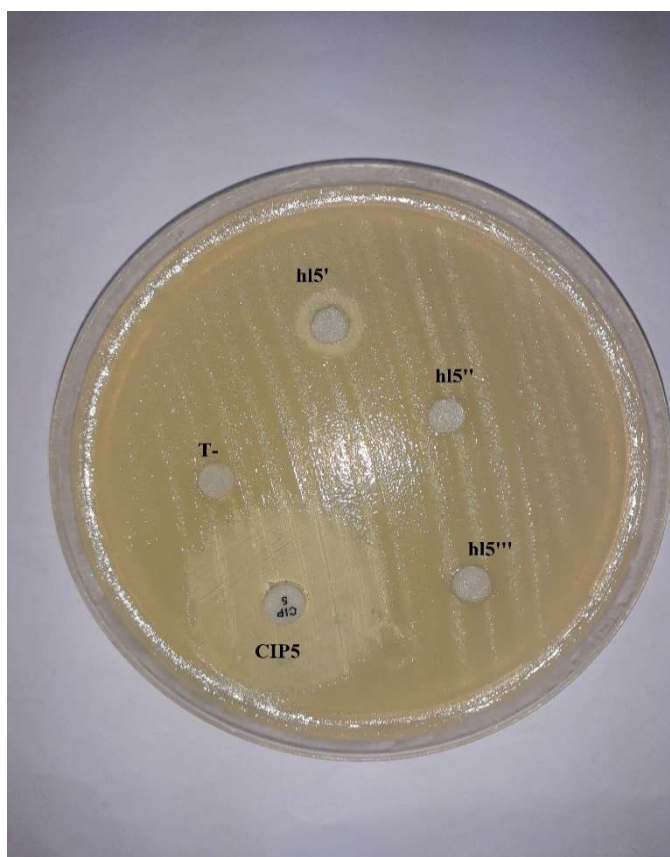


Fig 8. Activité antibactérienne de l'extrait h15 (*S. aureus*).

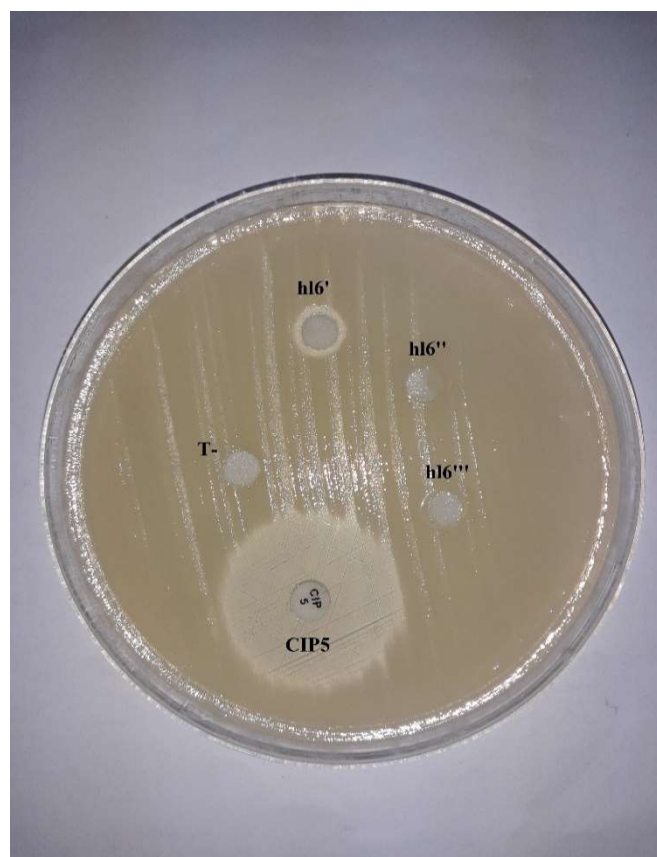


Fig 9. Activité antibactérienne de l'extrait h16 (*S. aureus*).

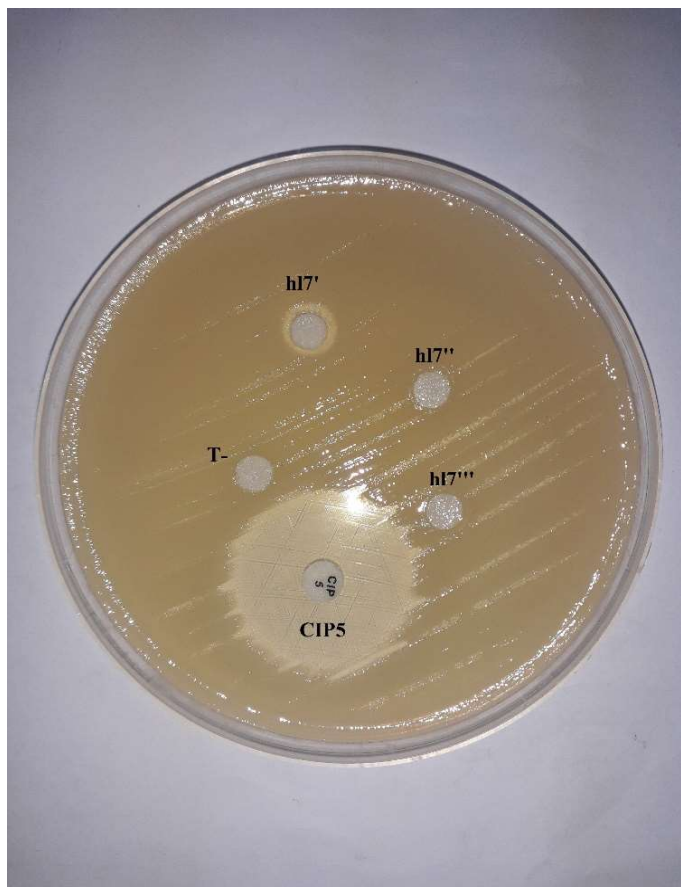


Fig 10. Activité antibactérienne de l'extrait h17 (*S. aureus*).

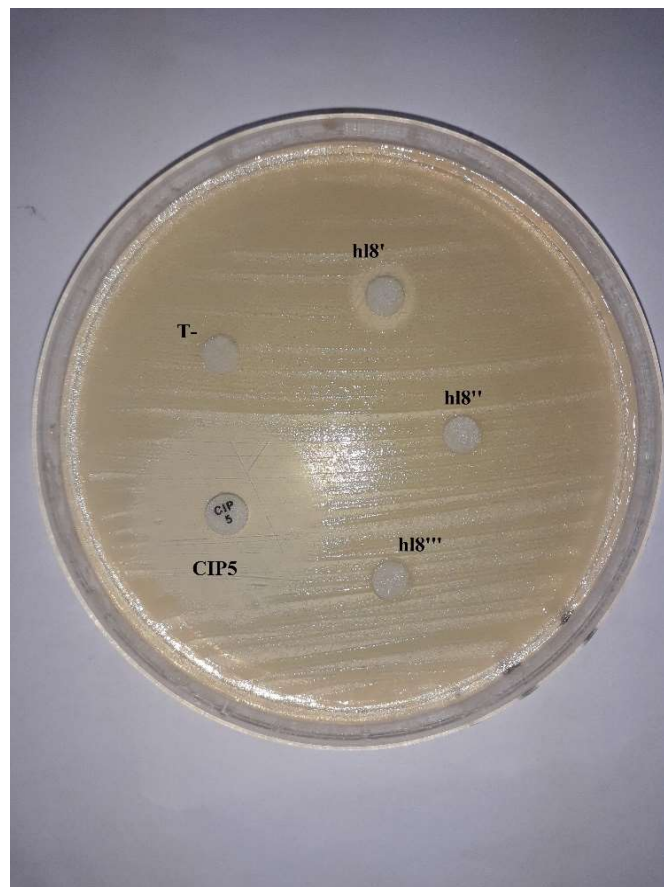


Fig 11. Activité antibactérienne de l'extrait h18 (*S. aureus*).

Annexe II

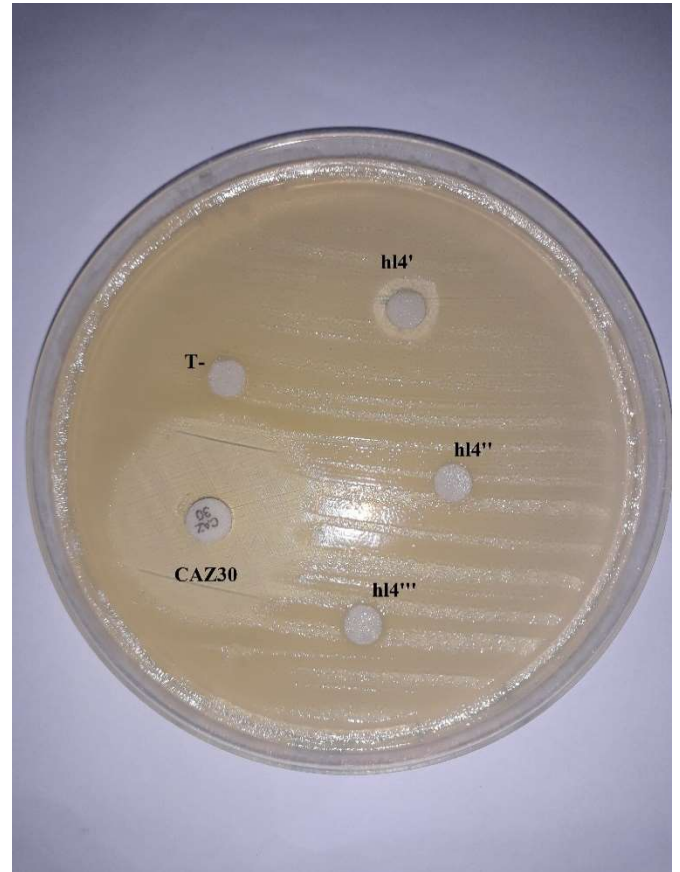
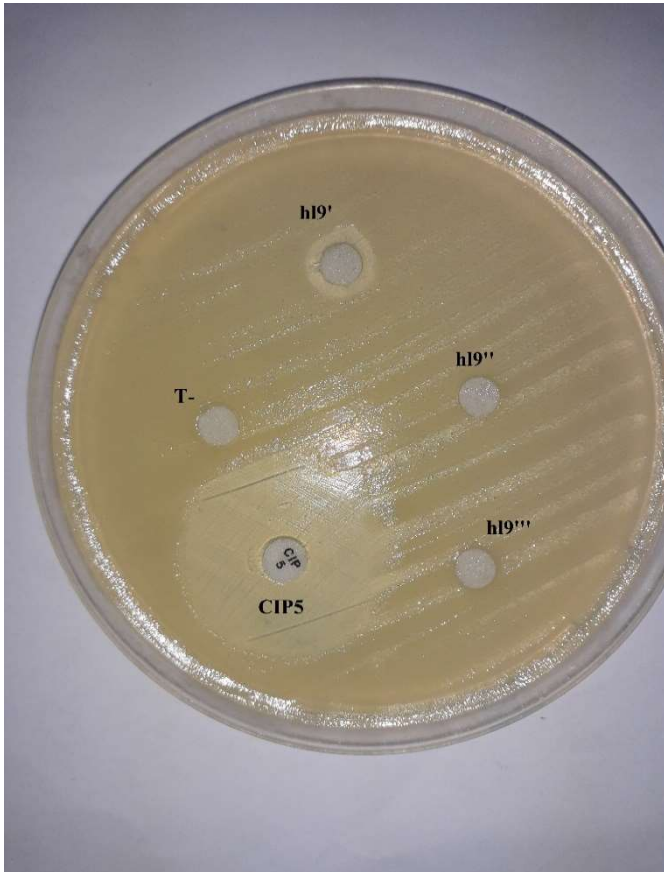


Fig 12. Activité antibactérienne de l'extrait h19 (*S. aureus*). **Fig 13.** Activité antibactérienne de l'extrait h14 (*K. pneumoniae*).

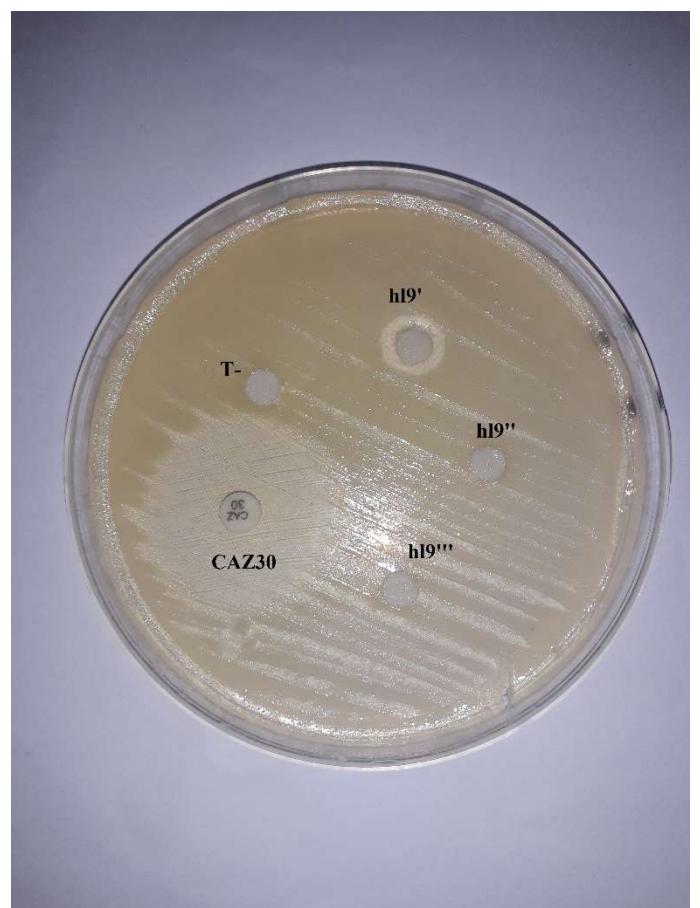
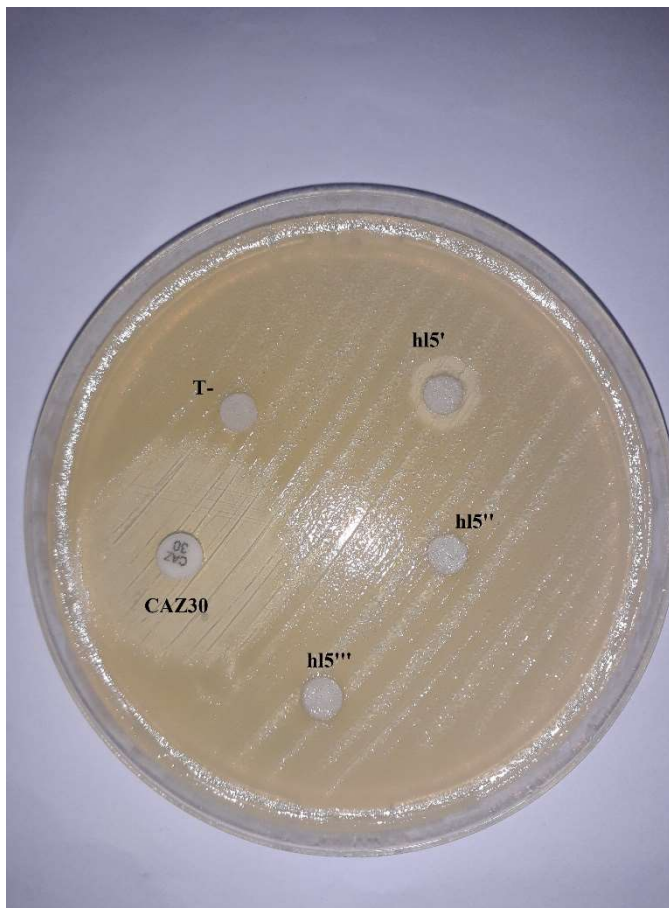


Fig 14. Activité antibactérienne de l'extrait h15 (*K. pneumoniae*). **Fig 15.** Activité antibactérienne de l'extrait h19 (*K. pneumoniae*).

Annexe II

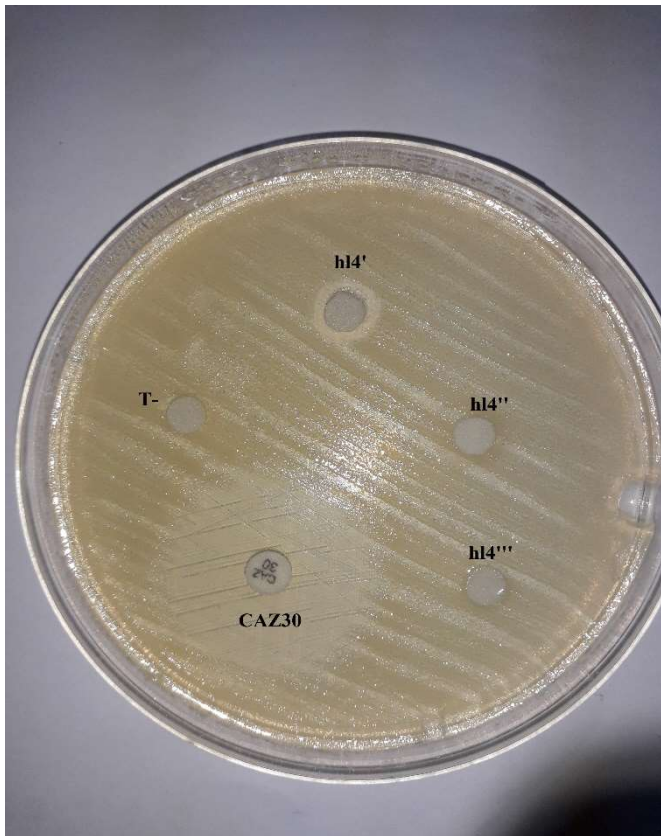


Fig 16. Activité antibactérienne de l'extrait h14 (E.coli).

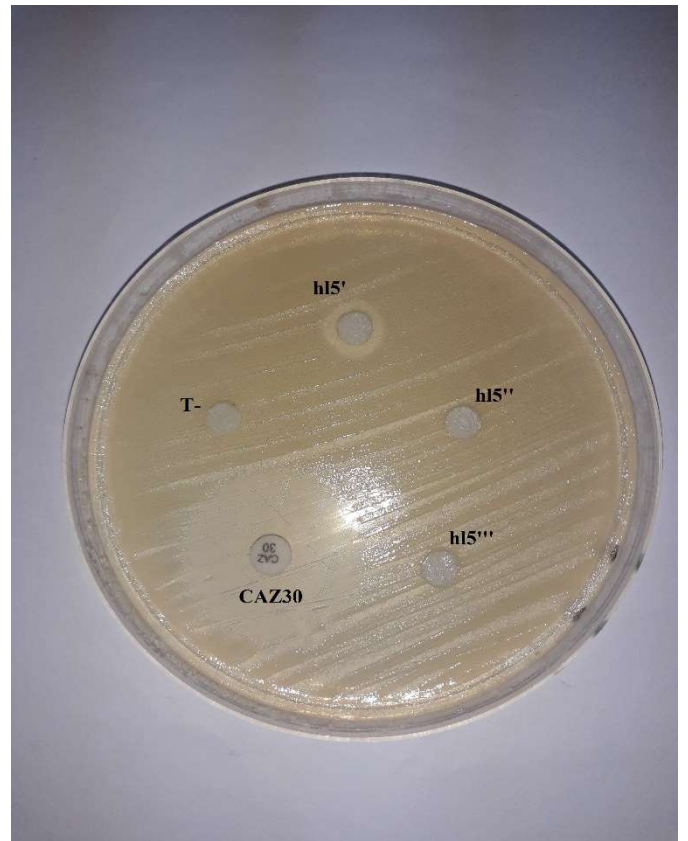


Fig 17. Activité antibactérienne de l'extrait h15 (E.coli).



Fig 18. Activité antibactérienne de l'extrait h18 (E.coli).

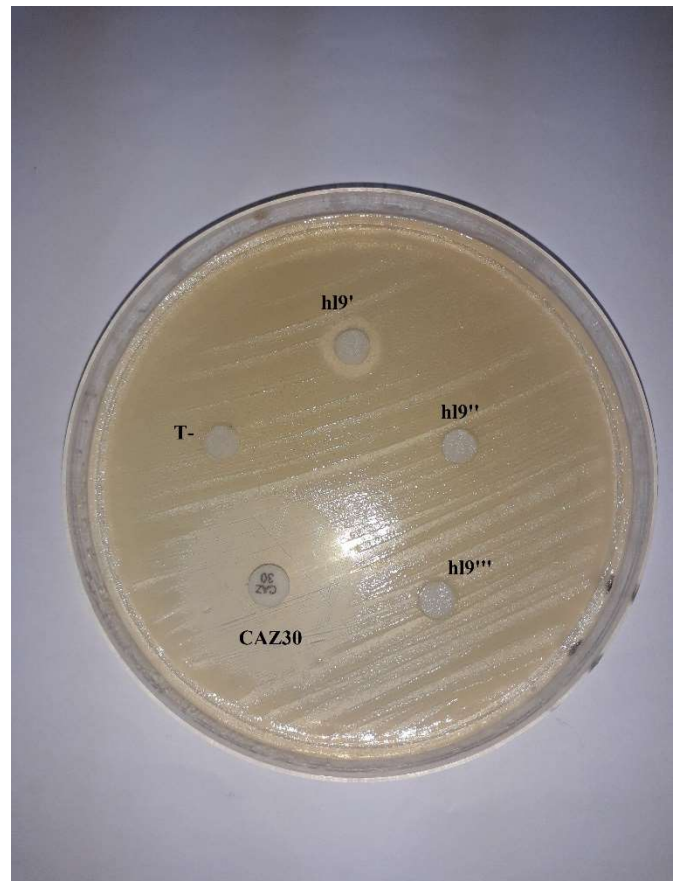


Fig 19. Activité antibactérienne de l'extrait h19 (E.coli).

Annexe III

Tableau a : Activité antibactérienne (diamètre de zone d'inhibition en mm) des extraits méthanoliques des différents échantillons d'huile d'olive.

Origine	Couleur des olives	Année de récolte	Concentration (mg/disque)	Diamètre de la zone d'inhibition des extraits vis-à-vis de		
				E. coli	K. pneumoniae	S. aureus
Boukhalfa (hl1)	Vert	2018	0.25	--	--	--
			0.5	--	--	--
			1	6	6	8
Boukhalfa (hl2)	Violet	2018	0.25	--	--	--
			0.5	--	--	--
			1	6	6	8
Boukhalfa (hl3)	Noir	2018	0.25	--	--	--
			0.5	--	--	--
			1	6	6	8
Ouaguenoun (hl4)	Noir	2009	0.25	--	--	--
			0.5	--	--	--
			1	8	8	10
Ouaguenoun (hl5)	Noir	2011	0.25	--	--	--
			0.5	--	--	--
			1	8	8	9
Ouaguenoun (hl6)	Noir	2017	0.25	--	--	--
			0.5	--	--	--
			1	6	6	8
Ouaguenoun (hl7)	Noir	2018	0.25	--	--	--
			0.5	--	--	--
			1	6	6	8
Ifri ouzellaguen (hl8)	Noir	2018	0.25	--	--	--
			0.5	--	--	--
			1	7	6	8
Mechtras (hl9)	Noir	2018	0.25	--	--	--
			0.5	--	--	--
			1	7	7	9

Annexe IV

Les appareils la verrerie et les réactifs utilisés

Les appareils	La verrerie	Les réactifs
Bain marie	Bécher	Acide ascorbique
Balance de précision	Burette graduée	Acide gallique
Centrifugeuse	Cuve en quartz	BSA à 1%
Etuve	Eprouvette graduée	Carbonate de sodium à 7.5 %
Micropipette	Fiole jaugée	Catéchine
Plaque agitatrice	Pipette graduée	Chlorure d'aluminium à 2%
Spectrophotomètre	Tube à essai	DPPH
Vortex		DMSO
		Ethanol
		Folin –Ciocalteu 1/10
		Hexane
		Méthanol
		Tampon phosphate à Ph=6.4