

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Ibn Khaldoun –Tiaret–  
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie  
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie moléculaire et cellulaire

Présenté par :

M<sup>elle</sup> : ABZOUZI Setti

M<sup>elle</sup> : NOUIDJEM Meroua

*Thème*

# Évaluation du pouvoir antibactérien de Polyphénols des feuilles de

Soutenu publiquement le :13/10/2020

**Jury :**

**Président :** M<sup>r</sup>. ACEM K.

**Encadrant :** M<sup>r</sup>. BENBEGUARRA M.

**Examineur :** M<sup>r</sup>. HOCINEL.

**Grade**

MCA

MCA

MCA

Année universitaire 2019-2020

# Remerciements

« La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage ».

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

Malgré les circonstances de l'épidémie (COVID-19).

الحمد لله الذي أعاننا على إنهاء هذا العمل وسخر لنا القوة لإتمامه رغم ظروف الوباء التي عرقلت الجانب التطبيقي فكل توفيق منه وكل سهو أو خطأ فمني ومن الشيطان.

Nous avons à exprimer nos remerciements en premier lieu à **M<sup>r</sup>. BENBEGUARA Mourad**, qui a accepté de nous encadrer, et qui nous a proposé le sujet de ce mémoire et a bien voulu diriger nos travaux, en nous faisant bénéficier de ses compétences, ses conseils et ses encouragements. Qu'il trouve ici l'expression de notre Profonde gratitude.

Nous tenons à remercier :

**M<sup>r</sup>. ACEM K.** d'avoir accepté de présider le jury pour sa sympathie et sa gentillesse.

**M<sup>r</sup>. HOCINE L.** d'avoir accepté de participer à ce jury. Nous sommes particulièrement heureux de bénéficier de ses critiques et nous lui exprimons nos profondes considérations.

Une pensée émue pour notre chère professeur **D<sup>r</sup>. BENAICHATA Lazreq** (paix à son âme) qui nous a quittés cette année.

On a appris son décès avec une profonde tristesse le 20 /06 /2020.

Le professeur **BENAICHATA Lazreq** était et reste dans la rétine de notre mémoire. et comme dit le proverbe il y a quelque chose plus fort que la mort.....C'est la présence des absents dans la mémoire des vivants.

Reposez-vous en paix notre père. Qu'Allah vous accueille en ses vastes paradis ! A Dieu nous appartenons... à lui nous retournerons.

J'exprime ma reconnaissance à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à accomplir ce modeste travail.

# *Dédicaces*

*A mes parents : Nouïdjem Miloud, Boudalí Mebarka*

*Pour vos mains qui ont tant travaillées,*

*Pour votre cœur qui m'a tant donné*

*Pour votre sourire qui m'a tant réchauffé,*

*Pour vos yeux qui furent parfois mouillés,*

*Pour vous qui m'avez tant aimé.*

*A mes sœurs : Nacera et Sadjida.*

*A mon frère : Youcef.*

*A mon beaux frère : Ibrahim.*

*A ma bínôme :Setti*

*A mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon  
cursus à l'université :*

*Alí, Ikram, Samia, Roufaída, Marwa, Meriem et Imane, Amina*

*Sans oublier : Abed Razak, Abed el kader, Iptissam, Souade, Cherifa, kamar  
et, Bouchra*

*A mes amies de la promotion de master de biologie moléculaire et cellulaire*

*A tous qui me connaisse de près ou de loin.*

*Meroua*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Les plus chers dans ma vie mes parents Abzouzi Boumediene et Ben Azouz  
ouda*

*A mes sœurs : Hanane, Ahlame*

*A mon frère : Mohammed, Adel, sidali*

*A ma binôme :Meroua*

*A tous mes amis surtout : Souadé, Zahra Nesserin et Hanane*

*A tous ceux qui m'ont aidé, soutenu et encouragé.*

*Setti*

# Sommaire

<b>Liste des figures</b>	<b>i</b>
<b>Liste des tableaux</b>	<b>ii</b>
<b>Liste des abréviations</b>	<b>iii</b>
<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>Première partie : Synthèse bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : LES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES</b>	
1. Définition	3
1.1. Plantes médicinales	3
1.2. Plantes aromatiques	3
2. Caractéristiques du <i>Pistacia lentiscus</i>	3
2.1. Taxonomie	3
2.2. Description	3
2.2.1. Morphologie	4
2.2.1.1. Morphologie Florale	4
3. Répartition géographique	4
3.1. Dans le monde	4
3.2. En Algérie	5
4. Utilisations en médecine humaine	5
<b>CHAPITRE II : Vertus thérapeutique des PAM</b>	
1. Phytothérapie des PAM	6
1.2. Phytothérapie	6
1.2.1. Définition	6
1.2.2. Intérêt	6
2. Préparation médicinales	6
3. Activité biologiques des extraits	6
4. Activité antibactériens	7
4.1. Les plantes, source naturelle d'antimicrobiens	7
4.2. Nature de l'activité antibactérienne	7
<b>Deuxième Partie Expérimentale</b>	
<b>Chapitre I : Matériel et méthodes</b>	
1. Objectifs	
2. Lieu du travail	9
3. Matériel	9
3.1. Matériel végétal	9

3.2.les souches bactériennes	9
3.3. Matériel de laboratoire	9
4. Méthodes	9
4.1. Protocole expérimental	10
4.2. Détermination de la matière sèche et de l'humidité	10
4.3. Préparation de matière première	12
4.3. 1. Nettoyage	12
4.3. 2. Séchage de la plante	12
4.3.3. Broyage	12
4.3. 4. Tamisage	13
5. Préparation des extraits	13
5.1. Extraction des polyphénols	13
5.1.1 Extraction par macération	13
5.1.2 Rendement d'extraction	13
5.2. Dosage des polyphénols	14
5.2.1. polyphénols totaux	14
5.2.1.1. Principe	14
5.2.1.2. Mode opératoire	15
5.2.2. Dosage des flavonoïdes	15
5.2.2.1. Principe	15
5.2.2.2. Mode opératoire	15
5.2.3. Dosage des tanins	15
5.2.3.1 Principe	16
5.2.3.2. Mode opératoire	16
6. Ré-Identification des souches	16
6.1. Ré-Identification morphologique	16
6.1.1. Caractères macroscopiques	16
6.1.2. Caractères microscopiques	16
6.1.3. Coloration de Gram	16
6.1.3.1. Principe	17
6.1.3.2. Mode opératoire	17
6.2. Caractères biochimiques	17
6.2.1. Mise en évidence des enzymes respiratoires	17
6.2.1.1. Test catalase	17
6.2.1.1. Test de l'oxydase	17
6.2.2. Recherche de type respiratoire	18

6.2.2.1. Identification de l'espèce	18
6.2.1.1. Test coagulase	18
6.2.3. Galerie biochimique classique	18
6.2.3.1. Test TSI	18
6.2.3.2. Test de citrate	19
6.2.3.3. Test de nitrate	19
6.2.3.4. Test d'indole	19
6.3. Conservation des souches	19
6.4. Antibiogramme	19
6.4.1. Préparation des solutions des extraits	20
6.4.2. Technique de diffusion en milieu gélosé	20
6.4.3. Préparation des disques	20
<b>Chapitre II : Résultats et Discussion</b>	<b>20</b>
1. Taux d'humidité	
1.1. Rendement	21
2. Activité antibactérienne	21
2.1. Caractérisation microscopique des souches étudiées	23
2.2. Antibiogramme	23
2.3. L'effet des extraits bruts sur la croissance des souches bactérienne	25
Conclusion	28
Références bibliographiques	
Annexe	
Résumé	

# Liste des figures

Figure 01 : Morphologie florale de <i>Pistacia lentiscus</i>	4
Figure 02 : Protocole expérimental	11
Figure 03 : Les feuilles de <i>Pistacia Lentisque</i> avant séchage	12
Figure 04 : Les feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> après séchage	12
Figure 05 : Agitation magnétique.	13
Figure 06 : Filtration.	13
Figure 07 : Conservation du filtrat	14
Figure 08 : Rendement des extraits aqueux et méthanolique exprimé en pourcentage	22
Figure 09 : Observation microscopique des souches utilisées	24



# Liste des tableaux

Tableau 01 : Appareillages, verreries, réactifs et produits utilisés.	10
Tableau 02 : Proportions approximatives équivalentes en matière sèche et eau.	21
Tableau 03 : Rendement d'extrait des composés phénoliques exprimé en %.	22
Tableau 04 : Rendement d'extrait des composés phénoliques des deux plantes étudiées.	23
Tableau 05 : Observation microscopique des souches étudiées.	24
Tableau 06 : Caractéristiques biochimiques des souches étudiées.	24
Tableau 07 : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactériennes des extraits bruts étudiés en mm.	25
Tableau 08 : Résultat d'antibiotique.	26

# Liste des abréviations

**AQ** : Aqueux.

**ATCC** : American Type Culture Collection

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice.

**DMSO** : Diméthyle Sulfoxyde.

**E. coli** : Escherichia coli.

**IESV** : Institut Européen des Substances Végétales.

**MH** : Mueller Hinton.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**Ox** : Test oxydase

**Pistacia L** : Pistacia lentisque.

**PAM** : Plantes aromatiques et médicinales.

**P. aeruginosa** : Pseudomonas aeruginosa

**S.aureus** : Staphylococcus aureus.

**.TSI** : Triples Sugar Iron

**+** : Test positive

**-** : Test négative

# **Introduction**

Depuis l'antiquité, l'homme a utilisé des plantes pour se soigner. Sur les étagères des pharmacies 60 à 70% des produits sont issus de substances naturelles (**Kudjued et al., 1989**).

Aujourd'hui, les traitements sa base de plantes Reviennent au premier plan, car l'efficacité des Médicaments tels quels antibiotiques (considérés Comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît. Les bactéries et les virus ont peu à peu adaptés aux médicament set leur résistent dé plus en plus (**Michel et al., 2001**).

Si les stratégies adoptées par la phytothérapie pour prévenir les maladies ou pour guérir les malades sont différentes selon les nombreuses traditions en usage sur la planète, les effets sur le corps des traitements à base de plantes sont eux identiques .Plusieurs milliers de plantes sont utilisées de par Le monde. Leur champ d'action est vaste et leur puissance Varie. La plupart ont des effets spécifiques sur certaines Parties de l'organisme et sont reconnues pour pouvoir traiter divers cas (**Michel et al., 2001**).

Selon **Valter ;(2014)**,la définition de la catégorie « plantes aromatiques et médicinales (PAM) comprend les plantes utilisées pour produire des produits pharmaceutiques, de suppléments alimentaires, de la beauté, les cosmétiques et produits de soins personnels, ainsi que certains produits commercialisés dans le secteur culinaire / alimentaire ».

D'après l'**OMS (1998)**, "une plante médicinale est une plante qui contient, dans un ou plusieurs de ses organes, des substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs de la chimio-pharmaceutique hémi-synthèse" (**Valter ;2014**).

La médecine traditionnelle a été définie par L'**OMS** comme comprenant diverses pratiques, approches ,connaissances et croyances sanitaires intégrant des médicaments à base de plantes, d'animaux et/ou de minéraux des traitements spirituels ,des techniques manuelles et exercices, appliqués seuls ou en association afin de maintenir le bien-être et traiter, diagnostiquer ou prévenir la maladie(**Neffati et al., 2014**).

Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire .Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, environ 170000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes (**Hechifa et Merad, 2015**).

les plantes médicinales ayant un effet thérapeutique, comme des agents préventifs, anti-inflammatoires, antimicrobien, antiseptiques, diurétiques, mais essentiellement comme des antioxydants pour la lutte contre le stress oxydatif.

## Introduction

Parmi ces plantes le lentisque (*Pistacia lentiscus*) est un arbrisseau appartenant à la famille des Anacardiaceae, cette plante est largement utilisée par la population locale dans la médecine traditionnelle (**Bensaci et al., 2015**).

Dans ce contexte nous avons choisi cette plante (*Pistacia lentiscus*) afin d'évaluer le pouvoir antibactérien des extraits poly phénoliques de ses feuilles.

**Premier partie**

**Synthèse bibliographique**

# **Chapitre I**

## **Les plantes aromatiques et médicinales**

## 1. Définition

### 1.1. Plantes médicinales

Selon la pharmacopée française (1965), une plante médicinale est utilisée entière ou sous forme d'une partie de plante et qui possède des propriétés médicamenteuses. Ces plantes peuvent aussi avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques (**Anton et al., 2005**).

### 1.2. Plantes aromatiques

Les plantes dites aromatiques sont des plantes contenant des huiles essentielles en grande quantité dans les différentes parties de leur structure. Selon différentes sources les plantes aromatiques représentent environ 10% des 800.000 espèces végétales recensées (**Perillaud, 2018**).

## 2. Caractéristiques du *Pistacia lentiscus*

### 2.1. Taxonomie

*Le lentisque*, ou *pistachier lentisque* (*Pistacia lentiscus* L.), est un arbrisseau du genre *Pistacia* appartenant à la famille cosmopolite des *Anacardiaceae* qui comprend environ 70 genres et plus de 600 espèces (**Bozorgi et al., 2013**).

Le lentisque est également appelé arbre à mastic en référence à la résine appelée mastic qui coule des troncs et branches de la plante (**Seigue ; 1985**).

D'après **Maameri (2014)**, la classification *Pistacia lentiscus* est la suivante :

- Règne : Végétal
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Ordre : Sapindales
- Famille : Anacardiaceae - Genre : *Pistacia*

### 2.2. Description

En Algérie le pistachier (*Pistacia ssp*) est représenté par le pistachier térébinthe (*Pistacia terebinthus* L.), le pistachier vrai (*Pistacia vera* L.), le pistacia de l'atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) et le pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) (**Berrichi et al., 2017**).



### 2.2.1. Morphologie

Ce sont les feuilles, les fleurs, les fruits et les graines qui distinguent les différents genres des anacardiacées.

#### 2.2.1.1. Morphologie Florale

*Pistacia lentiscus* est un arbrisseau dioïque thermophile (figure 1). Ses feuilles sont persistantes paripennées, avec 4 à 10 paires de folioles oblongues, elliptiques, obtuses, coriaces, luisantes en dessus, mates et pâles en dessous, elles prennent en hiver une teinte pourprée, pétiole étroitement ailé (Djerrou, 2011).



**Figure N°01 : Morphologie florale de *Pistacia.lentiscus* (Boukeloua, 2009).**

Les feuilles de *P.lentiscus* sont caractérisées par leurs richesses en composés phénoliques. Elles contiennent entre 5 à 7% du *Gallotannins* à savoir les dérivés *Gallolyletels* que les acides mono,di, et tri-*O-gallolylequinique* et l'acide gallique. Ces feuilles sont également riches en *glycosides* de *flavonols* tels que la *quercétine*, *myricétine*, *lutéoline* et *isoflavone génistéine*(Chaabani, 2019).

### 3. Répartition géographique

#### 3.1. Dans le monde

*Pistacia lentiscus* est un arbrisseau que l'on trouve couramment en sites arides Asie et région méditerranéenne de l'Europe et d'Afrique, jusqu'aux Canaries (Midani, 2017).

*Pistachier lentisque* est très commun dans le bassin méditerranéen ,il se trouve à l'état sauvage, dans les maquis et les garrigues dans tout type de sols, bien qu'il préfère les terrains siliceux (Polesse,2010).

### 3.2. En Algérie

L'espèce *Pistacia lentiscus* est une plante médicinale qui se développe surtout de type de sol dans l'Algérie subhumide et semi-aride .

### 4. Utilisations en médecine humaine

Le *lentisque* est utilisé, traditionnellement, sous forme de :

- Poudre, ou décoction, d'écorce et de feuilles pour guérir les troubles gastro-intestinaux, traitement de l'eczéma, la diarrhée et les infections de la gorge, et comme un puissant anti-ulcéreux(Décoction de feuilles tenues pour diurétiques et emménagogues) (**Maamer et al.,2013**).
- utilise les huiles essentielles du *lentisque* pour les effets pharmacologiques en tant qu'antispasmodique, ou comme un remède d'application local externe sous forme d'onguent pour soigner les brûlures et les douleurs dorsales(**Arab et Bouchenak, 2014**).
- Résine, aux vertus calmantes et emménagogues. Cette résine(ou « mastic ») ; Le mastic est connu par son effet analgésique, antibactérien, antifongique, antioxydant, antithérogénique, expectorant, stimulant, diurétique et spasmolytique (**Ferradji, 2011**).

# **CHAPITRE II**

## **Vertus thérapeutique des PAM**

### 1. Phytothérapie des PAM

#### 1.2. Phytothérapie

##### 1.2.1. Définition

La phytothérapie vient du grec et signifie «soigner par les plantes». Elle repose en partie sur une pratique traditionnelle, fondée sur l'utilisation ancestrale et locale des plantes. Les plantes médicinales renferment de nombreux actifs (plus de 250) qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques (**IESV, 2016**).

##### 1.2.2. Intérêt

La phytothérapie se pratique sous différentes formes et uniquement dans le cas de maladies « bénignes ». Bien sûr, bon nombre de symptômes nécessitent des antibiotiques ou autres traitements lourds. Dans d'autres cas, se soigner par les plantes représente une alternative reconnue par la médecine et dénuée de tout effet toxique pour l'organisme (**Berlencourt, 2008-2017**).

### 2. Préparation médicinales

Il existe des techniques variées pour préparer des remèdes avec les PAM.

L'extraction des composés polyphénoliques est une étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, elle dépend de la méthode et du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques (**Mahmoudi et al., 2013**).

Les composés naturels sont généralement obtenus par extraction solide/liquide. Parmi les procédés d'extraction solide/liquide usuellement utilisés on trouve la macération, la percolation, la lixiviation et la décoction. Conventionnellement, ces procédés utilisent l'eau et l'éthanol comme solvant d'extraction pour l'obtention d'extraits naturels. Néanmoins, ces solvants permettent de solubiliser principalement des composés hydrophiles avec une faible sélectivité(**Chaabani, 2019**).

### 3. Activité biologiques des extraits

Le rôle physiologique des extraits pour le règne végétal est encore inconnu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés(**Benrokia et al., 2015**).

De nombreuses études pharmacologiques ont rapporté que les molécules contenues dans les différentes parties (feuilles, fruits, partie aérienne) de cette plante ont de multiples activités biologiques à savoir :

Activités anti-inflammatoire ; Activité antimicrobienne ; Activité antioxydant ; Activité antifongique ; Activité antivirale ; Activité antibactérienne.

#### 4. Activité antibactériens

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

Les composants avec des structures polyphénoliques comme les flavonoïdes et les tannins étaient fortement actifs contre les microorganismes testés. Les membres de cette famille sont connus pour être, selon la concentration utilisée, soit bactéricides ou bactériostatiques. Les Polyphénol entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utiles dans les infections bactériennes, virales et parasitaires, quelle que soit leur localisation(**Dugo et al., 1998; Dorman, 2000; Chaumont et al., 2001**).

##### 4.1. Les plantes, source naturelle d'antimicrobiens

Les plantes synthétisent plus de 100000 petites molécules, dotées pour la plupart d'une activité antibiotique. En général, cette activité est inférieure à celle exercée par les antibiotiques d'origine microbienne. Les concentrations requises pour exercer une activité antimicrobienne sont donc plus élevées pour les molécules isolées de plantes que pour celles issues de bactéries et de champignons. En effet, une molécule phytochimique est considérée comme « antimicrobienne » si elle inhibe la croissance des micro-organismes pour des concentrations minimales inhibitrices (CMI) comprises entre 100 µg/mL et 1 000 µg/mL. Pour les antibiotiques d'origine microbienne, des CMI, variant de 0,01 µg/mL à 10 µg/ml, suffisent à générer une activité inhibitrice (Guinoiseau, 2010).

##### 4.2. Nature de l'activité antibactérienne

Quand on parle d'activité antibactérienne on distingue une activité létale (bactéricide) et une inhibition de la croissance (bactériostatique)

- Une inhibition de la croissance (bactériostatique) : inhibition momentanée de la multiplication d'une population.
- Une activité létale (bactéricide) : c'est la propriété de tuer les bactéries dans des conditions définies(**Hammer, 1999**).

**Deuxième Partie**

**Expérimentale**

# **Chapitre I**

## **Matériel et méthodes**

### 1. Objectifs

Notre travail vise à :

- Etudier le pouvoir antibactérien des feuilles de *Pistacia lentiscus* ;
- Caractérisation phytochimique des extraits aqueux et alcooliques des feuilles de *Pistacia lentiscus*.

### 2. Lieu du travail

Notre partie expérimentale a été prévue au niveau des laboratoires de Biochimie et microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Ibn Khaldoun-Tiaret.

### 3. Matériel

#### 3.1. Matériel végétal

Les feuilles de *Pistacia lentiscus*, ont été récoltés dans deux régions : Tiaret (foret de Guertoufa) et Relizane, durant la période janvier /février 2020.

#### 3.2. Les souches bactériennes

Dans le cadre de la recherche de substances naturelles antibactériennes, analysant les extraits des feuilles de la plante étudiées (*Pistacia lentiscus*) contre trois souches pathogènes :

- Staphylococcus aureus ATCC 25923.
- Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853.
- Escherichia coli ATCC 25922.

Ces souches ont été obtenues à partir de la collection de microorganismes disponibles au laboratoires de Biochimie et microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Ibn Khaldoun-Tiaret.

#### 3.3. Matériel de laboratoire

Le matériel prévu pour la réalisation de notre partie expérimentale est regroupé dans le tableau 01

**Tableau01** : Appareillages, verreries, réactifs et produits utilisés (annexe 01).



Appareillages	Verreries	Réactifs et produits	Milieux de culture
-Etuve (MEMMERT) -Autoclave(SUN) Réfrigérateur(ENIEM) - Evaporateur rotatif (HEIDOLPH) -Agitateur (FICHEUR BRAND) -Bain Marie (MEMMERT). -Balance (analytique KERN) Spectrophotomètre (HITACHI U-5100). -Plaque chauffante (STUART)	-Béchers -Boîtes de Pétri -Micropipettes -Mortier et autres -Papiers filtre et autres -Tubes à essai -Entonnoirs -Eprouvettes -Fioles jaugées -Verre de montre	-Acide Acétiqueglacial( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ). -Acide Gallique ( $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ ). -Acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). -Carbonate de sodium ( $\text{NaCO}_3$ ). -Chloroforme $\text{CHCl}_3$ . -Chlorure de fer( $\text{FeCl}_3$ ). -Eau oxygénée ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). -Ethanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ). -Méthanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ). -Réactif Folin Ciocalteu ( $\text{H}_3\text{PHO}_{12}\text{O}_4$ ) + ( $\text{H}_3\text{PW}_{14}\text{O}_{40}$ ). -Eau physiologique. Antibiotique (Ampicilline, pénicilline) -Les colorants de coloration de Gram -Alcool	-Milieu nutritif (milieu de repiquage) -Gélose nutritive (milieu de dénombrement) -Gélose Mueller Hinton (milieu de l'activité antibactérienne)

#### 4. Méthodes

##### 4.1. Protocole expérimental

Les principales étapes prévues dans notre démarche expérimentale sont résumés dans la figure 02.

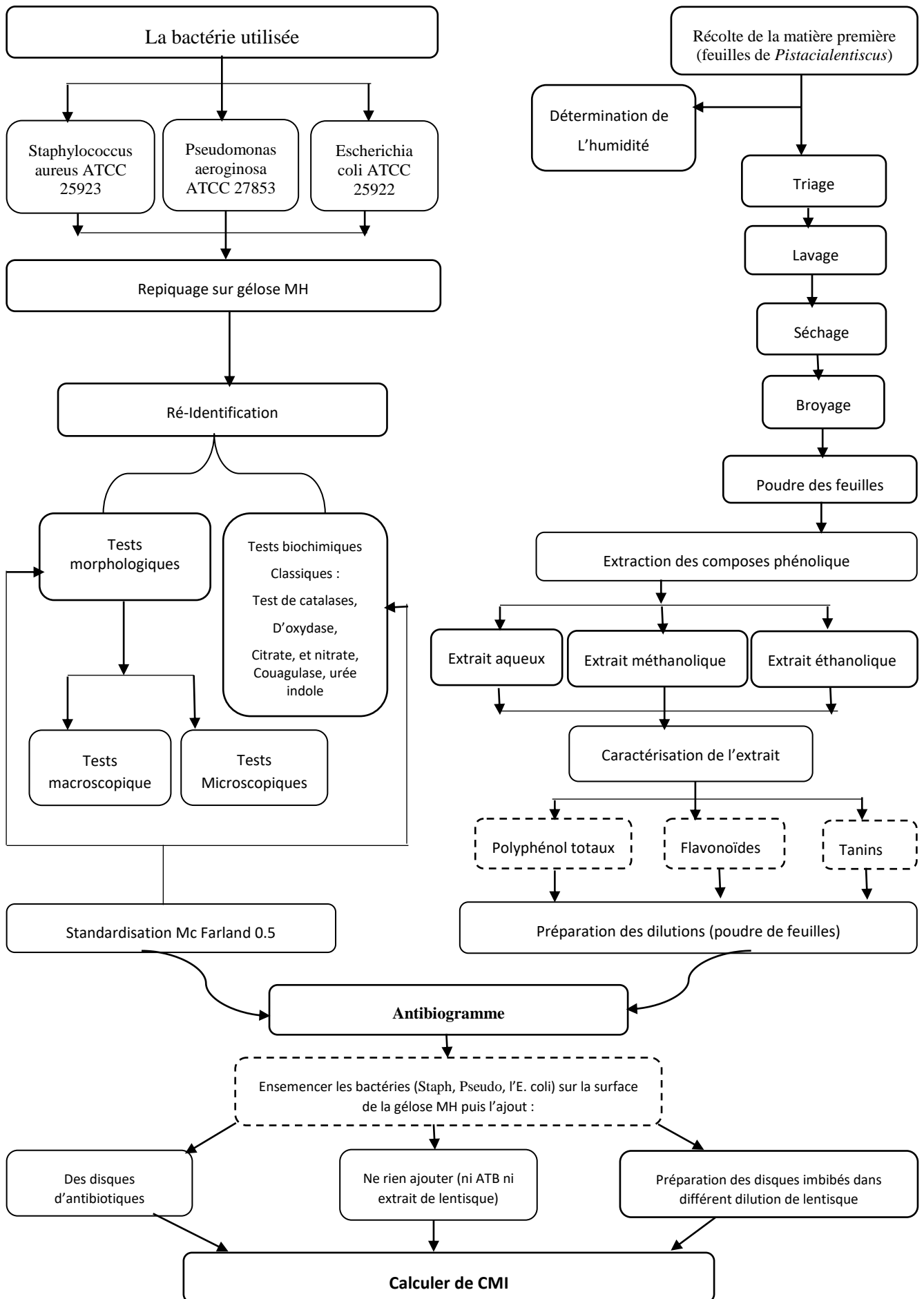


Figure 02 : Protocole expérimental

## 4.2. Détermination de la matière sèche et de l'humidité

Selon **Bouterfas et al., (2013)**, Le taux d'humidité est la quantité d'eau contenue dans la matière végétale, il est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$H (\%) = (M1 - M2)/M1 \times 100.$$

Avec :

**H** : taux d'humidité exprimé en pourcentage (%) ; **M1** : poids de l'échantillon en gramme après la récolte (matière fraîche) ; **M2** : poids de l'échantillon en gramme après le séchage (matière sèche) .

## 4.3. Préparation de matière première

### 4.3.1. Nettoyage

Les feuilles de *pistacia lentiscus* fraîchement récoltés, ont été nettoyées de toute sorte de débris et des éléments étrangers, en suite les feuilles ont été bien lavées à l'eau de robinet .

### 4.3.2. Séchage de la plante

Après le nettoyage, Les échantillons ont été séchés à l'ombre dans un endroit sec et aéré. Une fois séchés, ils sont récupérés dans des sacs en papier.



**Figure03** : les feuilles de *Pistacia Lentisque* avant séchage



**Figure04** : les feuilles de *pistacia lentiscus* après séchage

### 4.3.3. Broyage

Les feuilles séchées de *pistacia lentiscus* sont broyées à l'aide d'un broyeur de maison électrique jusqu'à l'obtention de poudre (annexe 02).

### 4.3. 4. Tamisage

Le tamisage de poudre a été réalisé à l'aide d'un tamis manuel du diamètre 1mm, cette étape a pour but d'obtenir une taille homogène des particules des échantillons broyés (annexe 03).

## 5. Préparation des extraits

Les différentes méthodes d'extraction suivies pour préparer des extraits bruts de feuilles de *Pistacia Lentiscus* par divers solvants (méthanol, éthanol et eau).

### 5.1. Extraction des Polyphénol

L'extraction des principes actifs (Polyphénol) à partir de la matière végétale, suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leurs effets bénéfiques pour la santé humaine.

#### 5.1.1 Extraction par macération

Pour extraire les Polyphénol de *pistacia lentiscus* par macération, nous avons opté pour le protocole décrit par (Mahmoudi et al., 2012). 10 à 30 g de la poudre de *pistacia lentiscus* sont macérés à température ambiante pendant 24h (deux fois) avec 100 ml de solutions aqueuses des solvants : (éthanol, méthanol à 70 % v/v et eau). Après filtration sur un tissu mousseline, les filtrats sont centrifugés pendant 20 min à 4000 t/min à température ambiante, filtrés sur papier filtre et conservés à 4 °C jusqu'à utilisation.

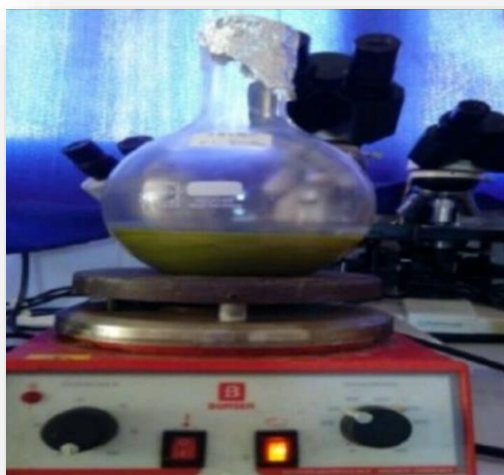


Figure05 : Agitation magnétique.



Figure 06 : La filtration.



Figure 07 : conservation de filtrat.

### .5.1.2 Rendement d'extraction

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation) (Mohammedi, 2006 ; Mahmoudi et al., 2012).

$$R = 100 \text{ Mext/Méch}$$

Où : **R** est le rendement en % ; **Mext** est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg et **Méch** est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

$$R\% = (M-M_0/M_t)*100$$

**R** : Rendement de l'extraction en pourcentage(%).

**Mt** : Poids du ballon avec extrait en (g) après évaporation du méthanol.

**M0** : Poids du ballon vide en (g).

**M** : Poids de l'échantillon initial (poudre végétale) en (g).

## 5.2. Dosage des Polyphénol

### 5.2.1. Polyphénol totaux

Le dosage des Polyphénol totaux se fait selon la méthode décrite par (Singleton et Rossi, 1965 ; Li et al., 2007).

### 5.2.1.1. Principe

La méthode est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique (WO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) phosphomolybdique (MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) de réactif de Folin par les groupement oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue.

### 5.2.1.2. Mode opératoire

Un ml d'extrait dilué et 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu ont été introduits dans un tube à essai. Après deux minutes d'incubation à l'obscurité, 2 ml de la solution de carbonate de sodium ont été ajoutés, Le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante dans un bain marie pendant 15 minutes. L'absorbance est mesurée à 765 nm par un spectrophotomètre UV.

#### ✓ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (voir annexe 04).

## 5.2.2. Dosage des flavonoïdes

### 5.2.2.1. Principe

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans d'extrait de *Pistacia lentiscus*.

### 5.2.2.2. Mode opératoire

La détermination de la quantité des flavonoïdes totaux contenue dans les extraits éthanoliques a été réalisée par la méthode colorimétrique décrite par (Mehenni et al., 2016). La quantification des flavonoïdes est effectuée en utilisant la colorimétrie connue par l'ajout de réactif au chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) vers la solution contenant l'extrait.

Un volume de 1 ml d'extrait (100mg/ml) a été combiné avec 500 ml de solution de chlorure d'aluminium (133 mg d'AlCl<sub>3</sub> +400 mg de CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>Na) dissous dans 100 ml d'eau distillée. Le mélange est agité puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance a été enregistrée à 430 nm en utilisant un spectrophotomètre UV.

#### ✓ Expression des résultats

Les résultats (concentration de flavonoïdes) sont exprimés en mg équivalent quercétine /g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage et exprimées en milligrammes (mg R Eq/g).

### 5.2.3. Dosage des tanins

#### 5.2.3.1 Principe

Le dosage des tannins condensés dans d'extrait fixe de *Pistacia lentiscus* est effectué selon la méthode de Broadhurst et Jones (1978), modifiée par (Heimler *et al.*, 2006). Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 500 nm. La concentration des tannins est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la catéchine (0-300µg/ml) est exprimée en microgramme d'équivalent de catéchine par milligramme d'extrait (µg Eq catéchine/mg d'extrait).

#### 5.2.3.2. Mode opératoire

Le dosage des tanins a été réalisé par la méthode de la vanilline en milieu acide décrite par (Julkunen, 1985). Le réactif de vanilline a été préparé en mélangeant à volume égal : HCl à 8 % (v/v), le méthanol à 37 % (v/v) et 4 % de vanilline dans du méthanol (m/v). 0.5 ml d'extrait éthanolique ont été introduits dans un tube à essai, puis 2,5 ml de vanilline acide a été rajouté. Incubation à l'obscurité pendant 20min, l'absorbance est lue à 500 nm.

#### ✓ Expression des résultats

La teneur des tannins est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec la catéchine.

## 6. Ré-Identification des souches

Ré-identification des souches utilisées est réalisée en se basant sur :

### 6.1. Ré-Identification morphologique

#### 6.1.1. Caractères macroscopiques

La recherche doit être effectuée à partir d'une culture de 24h, pour noter l'aspect de culture en milieu liquide (trouble) et définir : la forme, la taille, la couleur et l'aspect des colonies sur milieu solide (Bourgeois et Leveau, 1980).

#### 6.1.2. Caractères microscopiques

La pureté des souches est vérifiée par examen microscopique après coloration de Gram.

### 6.1.3. Coloration de Gram

#### 6.1.3.1. Principe

L'étude microscopique permet d'observer la morphologie des cellules, leur tailles, leur modes de regroupement et leur formes (**Bourgeois et Leveau, 1980**) et ainsi de distinguer entre les deux groupes bactériens « Gram positif + ou négatif - » (**Aminetou et al., 2008**).

#### 6.1.3.2. Mode opératoire

Le frottis, séché et fixé, est recouvert de violet de Gentiane, tous les bactéries prennent ce colorant. On recouvre alors de réactif de lugol qui joue le rôle mordant ; en suit, le frottis est soumis à l'action de l'éthanol de fraction volumique (90-95 %), l'éthanol dissout le violet de Gentiane et permet la décoloration de certaines bactéries dites à Gram négatif, les bactéries à Gram positif restent violettes, après un lavage à l'eau, le frottis est recouvert d'un deuxième colorant Safranine ou Fuschine basique phénolée qui recoloré en rose les bactéries précédemment décolorées.

#### ✓ Lecture de résultats

Observer après séchage et à l'immersion (Objectif 100) en pleine lumière.

## 6.2. Caractères biochimiques

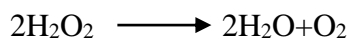
### 6.2.1. Mise en évidence des enzymes respiratoires

#### 6.2.1.1. Test catalase

##### ➤ Principe

La catalase est une enzyme présente chez la plus part des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives, elles décomposent l'eau oxygénée qui se dégage, la recherche de cette enzyme est utile pour différencier les bactéries (**Joffin et Leyral, 2006**).

La réaction est la suivante :



##### ➤ Technique

Déposer sur une lame de verre une ou deux gouttes d'eau oxygénée.

Prélever à l'aide de l'effilure d'une pipette pasteur un fragment de colonies et dissocier la culture dans l'eau oxygénée.



✓ **Lecture**

La présence d'une catalase se traduit, après quelques secondes par la formation de bulles d'oxygène (**Joffin et al., 2006**) (annexe 05).

**6.2.1.2. Test de l'oxydase**

➤ **Principe**

Le cytochrome oxydase est une enzyme qui intervient à la fin de la chaîne respiratoire pour catalyser la fixation de l'hydrogène et les électrons sur l'oxygène. Sa production est mise en évidence par des disques « OX » imprégnés d'oxalate NNdiméthyl-paraphénylène-diamine (**Joffin et Leyral, 2006**).

➤ **Technique**

Sur une lame, on dépose un disque « OX » puis à l'aide d'une pipette pasteur prélever une colonie en suspension.

✓ **Lecture**

S'il y'a apparition d'une couleur rose violette, la bactérie possède une oxydase.

**6.2.2. Recherche de type respiratoire**

D'après **Bouyoucef et Felkaoui (2018)**. Ces caractères se basant sur des tests (TSI, catalase, oxydase, citrate, nitrate, urée d'indole et coagulas) qui ayant servi à Re\_identification est :

**6.2.2.1. Identification de l'espèce**

**6.2.2.1 .1.Test coagulasse**

Après avoir une suspension bactérienne sur le bouillon BHIB, On a mélangé dans un tube à hémolyse 0,5 ml de plasma dissous et 0,5 ml de la culture en bouillon du bactérie à tester puis, incubé pendant 24h à 37°C. Les souches provoquent la coagulation du plasma en un temps variant d'une demi-heures à 24heures (annexe 05).

**6.2.3. Galerie biochimique classique**

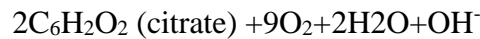
L'utilisation des substrats carbonés comme source unique de carbone et /ou d'énergie a été testée sur des différents milieux.

### 6.2.3.1. Test TSI

Il permet de mettre en évidence pendant 24 heures les fermentations du glucose, lactose et du saccharose, la production d'hydrogène sulfuré (H<sub>2</sub>S) et de gaz, après avoir préparé le milieu TSI (Annexe 1), les tubes ont été inclinés de façon à obtenir un culot de 3 cm de hauteur et une pente oblique. Ensemencer le culot du milieu par piqûre centrale et la pente en stries serrées, afin d'avoir une culture en nappe avec la souche bactérienne à tester puis incubé les tubes à 37°C pendant 24 heures.

### 6.2.3.2. Test citrate

Faire ensemencer toute la surface de la pente du milieu avec des stries séries à l'aide d'une anse de platine stérilisée au bec, incubé à 37°C, pendant 18 heures.



### 6.2.3.3. Test nitrate

On ensemence le milieu par quelques colonies des souches à tester. Après incubation des tubes à 37°C pendant 24 heures. On ajoute une ou deux gouttes de réactif de Griess (NR1 et NR2) dans le bouillon nitraté cultivé.

#### ✓ Lecture

Les bactéries « citrate positives » présentent une culture sur la pente avec alcalinisation du milieu. « virage de l'indicateur de PH du Vert au bleu » (Harley et Prescott, 2002).

### 6.2.3.4. Test d'indole

Le test est réalisé en introduisant dans de l'eau peptonée exempte d'indole quelques colonies bactérienne à l'aide d'une anse de platine, incubé pendant 24 heures à 37 °C puis ajouter du réactif de Kovac qui montre la production de l'indole qui se traduit par un anneau rouge en surface du milieu.

## 6.3. Conservation des souches

Les souches sont conservées à 5°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (gélose nutritive).

## 6.4. Antibiogramme

### 6.4.1. Préparation des solutions des extraits

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition et comparée avec celle de DMSO comme contrôle négatif et d'un antibiotique comme contrôle positif.

### 6.4.2. Technique de diffusion en milieu gélosique

Les méthodes utilisées sont : la méthode de diffusion sur gélose par disque et la méthode de dilution en milieu liquide. Sur milieu agar, l'activité antibactérienne des extraits aqueux et méthanoliques, éthanolique du matériel végétal de *pistacia lentiscus* est évaluée selon la méthode décrite par (Okombe et Nzuzi, 1997).

- Repiqué par la méthode des stries dans des boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton, Les bactérie ( E. coli, S.aureus et P.aeruginosa) pour vérifie la pureté des souches et régénérer
- Incubées à 37 °C pendant 24 h. Une ou plusieurs colonies de chaque culture pure sont prélevées et transférées dans 5 ml d'eau physiologique.
- Prélevés à l'aide d'une micropipette (3 à 4 goutte ),de cet inoculum et le déposés dans des nouvelles boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton puis étalés à l'aide d'un râteau.

### 6.4.3. Préparation des disques

Des disques stériles (9 mm de diamètre) imprégnés dans 5 µl de différentes dilutions de notre variétés( aqueux, méthanolique, éthanolique) ont été déposés à l'aide d'un pince stérile dans les boîtes de pétri coulées du milieu Mueller Hinton qui contient le type de bactérie .

Incubées à 37 °C pendant 24 h.

#### ✓ Expression de résultats

Selon Okombe et Nzuzi (1997). Les résultats sont exprimés en diamètres des zones d'inhibition produites autour des disques. Sur milieu solide

La lecture des résultats tient compte de la turbidité de la solution pour confirmer la multiplication des germes. Ainsi pour affirmer l'efficacité des extraits ou la résistance des germes aux concentrations utilisées.

# **Chapitre II**

## **Résultats et Discussion**

### 1. Taux d'humidité

Selon Les résultats obtenus par **(Benrokia et Aouar, 2015)**, **(Bouterfas et al., 2013)**, **(Mancer et Kessouri, 2016)** **(Midani, 2017)**, sont présentés selon la plante étudiée dans le tableau 02 :

Ils constatent selon le tableau que *Pistacia lentiscus* comprend des proportions approximativement équivalentes en matière sèche et eau.

**Tableau 02** : proportions approximativement équivalentes en matière sèche et eau.

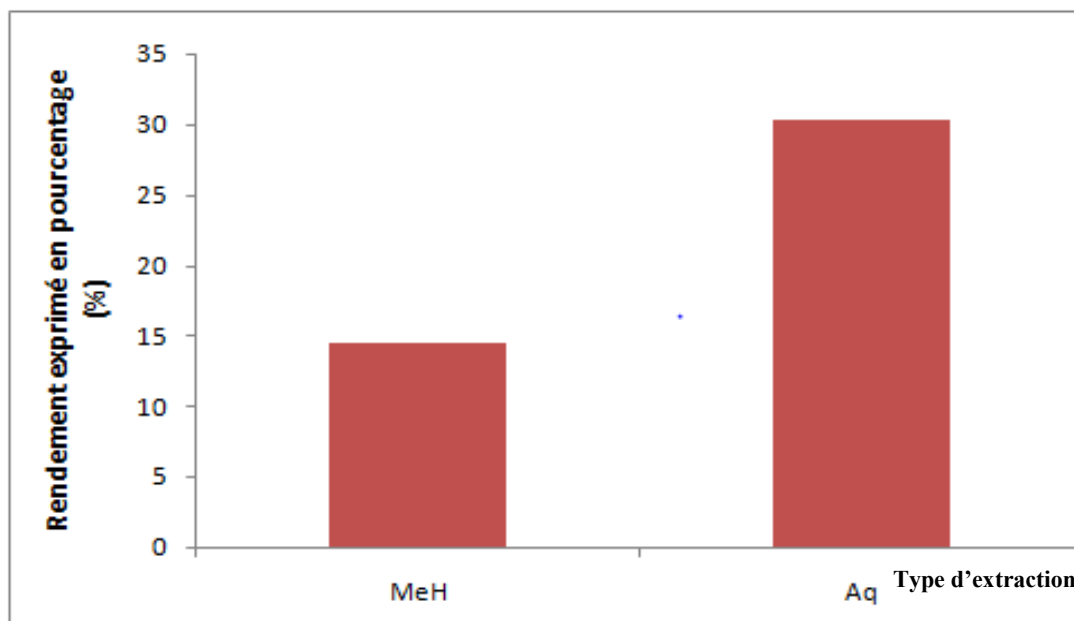
Matière sèche	Taux d'humidité	Référence
46%	54%	<b>(Benrokia etAouar, 2015)</b>
	40.32%	<b>(Bouterfas etal., 2013)</b>
	35,44 %	<b>(Mancer et Kessouri, 2016).</b>
59%	41%	<b>(Midani, 2017).</b>

Selon **Berokia et Aour (2015)**, à trouver des résultats similaires, ou le taux d'humidité était de 54%, pour 46% de matière sèche de *pistacia lentiscus*.

- Selon **Mancer et kessouri ,(2016)** ; **Bouterfas et al., (2013)**, les plantes aromatiques contiennent des proportions d'eau qui varient à 35.44% et 40.32% , cette variation d'une plante à un autre est premièrement due à l'espèce elle-même puis aux facteurs environnement citant : l'habitat et la saison.
- D'après **Midani (2017)**, les analyses des échantillons des feuilles de *pistacia lentiscus* ont révélé un taux d'humidité d'environ 41% cela signifié que environs la moitié du poids de la plante fraiche est constituée d'eau.

### 2. Rendement

Les résultats du rendement des travaux trouvés par **Messaoudi et Kessbia (2017)** ; **Tahir et Arif (2018)**, Sont présents dans la figure 08 et le tableau 03.



**Figure 08 :** Rendement des extraits aqueux et méthanolique exprimé en pourcentage.

Selon **Messaoudi et Kessbia (2017)** ; **Tahir et Arif (2018)** sont utiliser d'après les résultats, le rendement le plus élevé a été obtenu avec l'extrait aqueux soit 30,24% tandis que le rendement de l'extrait méthanolique est de 14,5%.

Toutefois, il est difficile de comparer les résultats du rendement, car le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée, ainsi qu'à l'origine géographique des feuilles.

Les résultats obtenus pour les extraits méthanoliques bruts, montrent que le rendement le plus élevé est celui de l'extrait de la région de Bouira (31.34%) suivi de celui de la région de Boumerdes (18.92%). Pour la région de Tizi-Ouzou, ont été noté un faible rendement (4.22%) (Tableau 03).

L'extrait phénolique obtenu dans les deux régions Tizi-Ouzou et Bouira présente le même aspect qui est gélatineux, par contre celui de la région de Boumerdes présente un aspect liquide peu gélatineux d'une même couleur rouge foncé. Cela est dû aux huiles qui restent dans l'extrait lors de l'étape de délipidation, donc cette dernière elle n'était pas complète ou peut être le fruit de lentisque de la région de Boumerdes est très riche en huile par rapport à ceux des deux autres régions (**Messaoudi et Kessbia, 2017**).

**Tableau 03 :** Rendement d'extraction des composés phénoliques exprimé en %.

Région	Boumerdes(Dellys)	Bouira(Tikejda)	Tizi-Ouzou(Azazga)
Le rendement en Polyphénol totaux	18.92	31.34	4.22

**Tableau 04 :** Rendement d'extraction des composés phénoliques des deux plantes étudiées.

Méthode d'extraction	Type de solvant	Rendement d'extraction (%)
<b>Macération</b>	Ethanol 70%	33.66
	Méthanol 80%	33.01
	Eau distillée	25.42

Concernant les feuilles de *Pistacia lentiscus*, le rendement d'extraction varie entre 25.42% et 33.66%, rendements les plus élevés correspondent aux méthodes d'extraction par macération (Ethanol 70%).

La variation des rendements d'extraction entre les plantes peut être expliquée par les méthodes d'extraction et de conservation, la granulométrie de la poudre, le temps de macération, ainsi que les solvants employés et leur degré de pureté (Nacz et Shahidi, 2004 ; Hayat et al., 2009). Et les conditions biotiques (espèce, organe et l'étape physiologique), abiotiques (facteurs édaphiques) (Ksouri et al., 2008).

La variation des teneurs en polyphénols totaux entre les différentes méthodes d'extraction s'explique par la polarité de ces composants et leur solubilité qui est élevée avec les solvants méthanol et éthanol (Falleh et al., 2008).

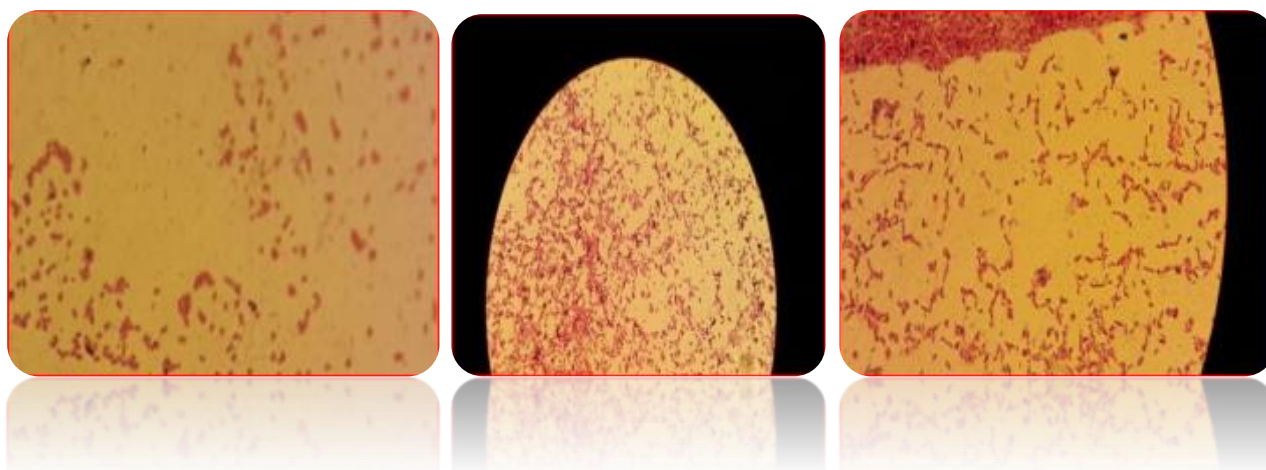
### 3. Activité antibactérienne

#### 3.1. Caractérisation microscopique des souches étudiées

Les bactéries colorées en violet sont des bactéries à Gram positif et celle colorées en rose sont des bactéries à Gram négatif (figure 09). Le tableau 05 présente les observations microscopiques des souches étudiées (Benrokia et al., 2015).

**Tableau 05 :** Les observations microscopique.

Bactérie	Gram	Forme
<b>E. coli</b>	Négatif	Coccobacille
<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	Négatif	Bacille
<b>Staphylococcus aureus</b>	positif	Coccus en grappe de raisin



*Staphylococcus aureus*

*Pseudomonas aeruginosa*

*Escherichia coli*

**Figure 09** : Observation microscopique des souches utilisées (G : x 100).

**Tableau 06** : Caractères biochimiques des souches étudiés.

Test	<b>E. coli</b>	<b>S.aureus</b>	<b>P.aeruginosa</b>
<b>Catalase</b>	+	+	
<b>Oxydase</b>	-		
<b>Coagulas</b>		+	
<b>TSI</b>	+	Sac (-), glucose (+) lactose (-).	
<b>Citrate</b>	-		
<b>Nitrate</b>	+	+	
<b>Urée indole</b>	+	-	-



### 3.2. Antibiogramme

L'activité antibactérienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brut étudié. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des extraits explique les variations de leurs compositions chimiques. Comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait a une activité antibactérienne si son diamètre d'inhibition est supérieur à 10mm. (Ponce et al., 2003) (Annexe 06).

### 3.3. L'effet des extraits bruts sur la croissance des souches bactérienne

Dans ce point nous avons présenté les travaux des auteurs Benhammou et al., 2008 ; Naili et al., 2010 ; Derwich et al., 2010 et qui sont Présentés dans le Tableau 07.

**Tableau 07 :** Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactériennes des extraits bruts étudié en mm.

Les auteurs des études réalisées	Les extraits	Diamètre des zones d'inhibition de différentes bactéries Exprimé en mm				
		<i>E. coli</i>		<i>s. aureus</i>		
Naili et al., 2010	Méthanolique	30		20		
	Aqueux	15		12		
Benhammou et al., 2008	Ethanoliques	<i>E. coli</i>	<i>s. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	5µl et 10µl	N'est sensible	11.5	21.5	10.5	14.5
Derwich et al., 2010	Huiles essentielles	<i>E. coli</i>	<i>s. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		de 7 à 38mm				

D'après les résultats obtenus par Naili et al., (2010), concernant les deux souches testées sont sensibles à l'extrait méthanolique des feuilles (*pistacia lentiscus*) avec un diamètre d'inhibition de 30 mm pour *Escherichia coli* et de 20 mm pour *staphylococcus aureus*, Ils ont utilisé plusieurs souches

## Chapitre II : Résultats et Discussion

dont *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, les résultats obtenus dans cette étude ont montré que cet extrait possède un effet antibactérien inhibiteur sur toutes les bactéries étudiées.

- Il a été rapporté que l'activité antibactérienne d'huile essentielle des feuilles de *Pistacia lentiscus* est testé contre les bactéries à gram négatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et gram positif : *Staphylococcus aureus*, Les résultats montrant que toute les souches sont sensible aux huiles essentielles étudiées avec des zones d'inhibition de 7 à 38mm (**Derwich et al., 2010**).
- Les activités les plus élevées de l'extrait aqueux des feuilles ont été remarquées avec *P. aeruginosa* (figure 09) dont les valeurs moyennes des auréoles d'inhibition est de 29 mm.
- L'activité antibactérienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brut étudié. Le diamètre d'inhibition diffère d'un extrait à un autre.
- D'après **Benhammou et al (2008)**, les résultats obtenus dans la présent étude d'*E.coli* résistante aux extrait et *staphylococcus aureus* a montré un effet sensible aux niveaux 5µl et un effet très significative aux niveaux 10 µl.

**Tableau 08** : Résultats d'antibiotique des travaux de **Bammou et al., (1997)** ; **Arif et al.,(2018)**.

Antibiotiques	Souches bactériennes		Auteurs
	<i>S. aureus</i>	<i>E.coli</i>	
Ampicilline	6mm	6 mm	( <b>Arif et al., 2018</b> )
Gentamicine.	19 mm	Non testé	( <b>Bammou et al., 1997</b> )
Pénicilline	36 mm	36 mm	(Arif et al., 2018)
Cephalixine	6 mm	14 mm	

La bactérie *staphylococcus. aureus* est résistant à Gentamicine avec un diamètre d'inhibition de 19 mm.

- D'après **Arif et al., 2018**, Les deux bactéries sont très sensibles aux Pénicilline avec un diamètre d'inhibition de 36mm, *Staphylococcus aureus* est résistant à l'Ampicilline et Cephalexine avec un

## **Chapitre II : Résultats et Discussion**

diamètre de 6mm, cependant *Escherichia coli* présent une certaine sensibilité à la Cephalexine avec un diamètre d'inhibition de 14mm et ainsi cette dernière est résistante à l'Ampicilline avec un diamètre de 6mm.

# Conclusion

### Conclusion

La plante, *Pistacia lentiscus* a été choisie pour cette présente étude pour ses propriétés antibactérienne et son utilisation large en médecine traditionnelle. Dans le présent travail, notre objectif est de voir l'effet antibactériens de l'extrait aqueux, l'extrait méthanolique et éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*.

D'après les travaux présentés par **Naili et al., (2010)** ; **Benhammou et al., (2008)**, qui ont réalisé un test antibactérien en utilisant les extraits aqueux et méthanoliques vis-à-vis trois souches bactériennes à Gram – et Gram +, selon la méthode de diffusion utilisant des disques .

Les résultats trouvés par ces auteurs montrent que l'évaluation de l'effet antibactérien des polyphénols ont permis de confirmer que tous les extraits ont manifesté une activité antibactérienne sur les souches testées (*staphylococcus aureus*, *Pseudo aeruginosa*, *Escherichia.coli*) ont une activité importante a été notée pour l'extrait éthanolique de valeur 10 et 15 mm contre les bactéries *staphylococcus aureus* et *Pseudo aeruginosa m*, et pour les deux extraits aqueux et extraits méthanoliques par épuisement sur *E.coli* et *staphylococcus aureus* dont les zones d'inhibition dépassent les 30 mm pour l'extrait méthanolique et 15 mm pour extrait aqueux .

Les bactéries étudiés sont sensibles aux extraits méthanolique et aqueux dont les zones d'inhibition 10 à30 mm.

Les concentrations minimales inhibitrices pour *E. coli* est de valeur 0 mm et n'est pas sensible pour extrait éthanolique, donc *E.coli* a été résistante.

L'utilisation des extraits des feuilles pourrait constituer une source naturelle contre le problème de résistance des bactéries aux antibiotiques. Au bout de cette étude, nous retiendrons que les extraits biologiques de *Pistacia lentiscus*. exercent un fort effet antibactérien sur les souches étudiées et pourrait par conséquent être utilisé dans le traitement dans le domaine médicinale.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

1. Anton R., Lobstein A., Teuscher F., (2005). Plante aromatiques : épices, aromates, condiment et huile essentielle. Ed : Tec et doc. Paris : 521.
2. Aminetou, B-M ; Sidi Bacha, A-M, 2008. Manuel de travaux pratiques de microbiologie. université de nouakchott (mauritanie). 60pp.
3. Arab, K. ; Bouchenak, O. ; Yahiaoui, K., 2014. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle et des composés phénoliques du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.). *JFundmentApplSci*. Vol 6(1). 79-93.
4. Arif, T. et Tahir, H., 2018. Etude de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles de lentisque pistachier (*Pistacia lentiscus*). Mémoire de Master. Unvde Akli Mohand Oulhadj-Bouira. 35pp .
5. Bourgeois, C-M ; Leveau, J-Y, 1980. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries Agro-alimentaires. *J TEC doc* .Vol : 3. 331.
6. Bammou, M. ; Daoudi, A. ; Slimani, I. ; Najem, M. ; Bouiamrine, E-L ; Ibijbijen, J. ; Nassiri, L., 1997. Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.»: Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *J. Appl. Biosci*. Vol : 86. 7966– 7975.
7. Benhammou, N. ; AtikBekkara, F. ; KadifkovaPanovska, T., 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *Afr. J.PharmPharmacol*. Vol : 2 (2). 022-028.
8. Boukeloua, A., 2009. Caractérisation botanique et chimique et evaluation pharmacotoxicologique d'une préparation topique à base d'huile de *Pistacia lentiscus* L. (anacardiaceae). Mémoire Magister. Université mentouri Constantine. 75pp.
9. Berlencourt, A., 2008-2013. Huiles essentielles – Aromathérapie Historical. *review of medicinal plants*' 10.4103/0973-7847.95849
10. Bouterfas, K. ; Mehdadi, Z. ; Latreche, A. ; Hazem, Z. ; Bouredja, N., 2013. Quantification de quelques polyphénols de *Marrubiumvulgare* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale) pendant les deux périodes de végétation et de floraison Quantification of some polyphenols of *Marrubiumvulgare* L. of Tessalamount (western Algeria) at the vegetative and the flowering periods. *J les technologies de laboratoire*. Vol : 8. 8.
11. Bozorgi, M. ; Memariani, Z. ; Mobli, M. ; Surmaghi, M-H-S ; Shams-Ardekani, M-R. ; Rahimi, R., 2013. Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjukand P. lentiscus*) : A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology ; *Scientific World Journal*. Vol 2013. p 33.

12. Benrokia et Aouar, 2015. Extraction des polyphénols de trois plantes médicinales (Inulaviscosa, Pistacialentiscus et Olea europeasylvestris).
13. Benrokia, H. et AouarKh., 2015. Etude de l'activité Antibactérienne des extraits dePistacialentiscus. Master en Biologie. Université Djilali BounaamaKhemis Miliana. 83pp.
14. Bensaci, M. et Hadj Mokhnache, M., 2015. Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile fixe de *Pistacia lentiscus*. Mémoire Sciences Biologiques. Université des Frères Mentouri Constantine. 74pp.
15. Berrichi, M. ; Chikh, M. ; Haddad, A. ; Allam, A. ; Gueffar, M. ; Belkhodja Y., 2017. Quelques aspects histo-morphologiques du pistachier de l'atlas (*pistacia atlantica desf.*) Dans le nord occidental de l'atlas tellien (tlemcen - algerie). *Algerian journal of aridenvironment "ajae"*. Vol 7. 111-121.
16. Bouyoucef, et Felkaoui., 2018. Activité antibactérienne de quelques extraits d'origine végétale vis-à-vis de S. aureus et de quelques Entérobactéries. Mémoire en microbiologie. Université A. MIRA – Béjaia. 61pp.
17. Chaabani, E. ; Abert Vian, M. ; Bott, R. ; Ginies, C. ; Defoort, C. ; Ksouri, R. ; Chemat, F., 2019. Extraction of aromasfrom*Pistacialentiscus* L. leavesusing alternative solvents : *COSMO-RS-assistedsolvent screening and GC-MS metabolitesprofiling.jSeparation Science and Technology*. Vol 55. p14.
18. Dugo G., Mondello L., Prevlti., begum j., yusuf m. Et chowdhury j.u., (1998). Studies on the essential oil bearing plants of Bangladesh. Composition of the leaf oils of three cymbopogon species. *Essent. Oil Res* .10.301.306.
19. Dorman H.J.D., (2000). Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oil. *Journal of Applied Microbiology*. 88-308-316
20. Derwich, Z. ; Benziane† ; Boukir, A., 2010. Chemical Composition and *In Vitro*Antibacterial Activity of theEssentialOil of *Cedrus atlantica*. *j OF AGRICULTURE & BIOLOGY*. Vol : 12.
21. Djerrou., 2011. Etude des effets pharmaco toxicologiques de plantes médicinales d'Algérie : Activité cicatrisante et innocuité de l'huile végétale de *PistaciaLentiscus* L. Thèse Doctorat. université des Frères Mentouri Constantine .130pp.
22. Falleh, H. ; Ksouri, R. ; Chaieb, K. ; Karray-Bouraoui, N. ; Trabelsi, N. ; Boulaaba, M. ; Abdelly, C., 2008. Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and theirbiologicalactivities. *j C. R. Biologies*. Vol : 331. 372-379.



23. Ferradji, A., 2011. Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcoolique et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*. Mémoire en Magister en biochimie. Université Ferhat Abbas. Setif. 90pp.
24. Guinoiseau, E., 2010. Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. thèse de doctorat en Biochimie - Biologie moléculaire. Université Corse Pasquale Paoli. France. 149pp.
25. Guerziz, S. et Noun, N., 2017. Essai de l'activité anti-infectieuse de plantes : *Fumaria officinalis* L et *Paronychia argentea* Lam .mémoire en science de la nature et de la Vie. Université 8 Mai 1945 Guelma. 106pp.
26. Hammer, K., 1999. PAST : PalaeontologicalStatistic software package for education and data analysis. *j Palaeontologica Electronica*. Vol : 4. 9.
27. Heimler, D., 2006. antiradicalactivity and polyphenol composition of local brassicaceaeediblevarieties. *j foodchemistry* .vol : 99(3). 464-469.
28. Harley J-P et Prescott L-M, 2002. LaboratoryExercises in Microbiology. *Fifth Edition*. P449.
29. Hayat, K. ; Hussain, S. ; Abbas, S. ; Farooq, U. ; Ding, B. ; Xia, S. ; Jia, C. ; Zhang, X. ; Xia, W., 2009. "Optimizedmicrowave-assisted extraction of phenolicacidsfrom citrus mandarin peels and evaluation of antioxidantactivity in vitro.j" *Separation and Purification Technology* .vol : 70(1).63-70.
30. IESV. 2016. Les plantes médicinales. Gingembre *Zingiber officinale* Roscoe Fleur. 50P
31. Julkunen, R., 1985. phenolicconstituents in the leaves of northernwillows : methods for the analysis of certain phenolic. *j.agric.foodchem*. Vol : 33(2). 213-217.
32. Joffin, J-N ; Leyral, G., 2006. Microbiologie technique. *4ième édition*. centre régional de documentations pédagogique d'Aquitaine (la France). 368p.
33. Kudjued-Bunneton, J-F ; Sauvain, M., 1989. possibilites de valorisation économique de plantes médicinales et aromatiques en guyane. Institut Français de Recherche pour le Développement en Coopération. Centre ORSTOM de Cayenne. 164pp.
34. Ksouri, R. ; Megdiche, W. ; Falleh, H. ; Trabelsi, N. ; Boulaaba, M. ; Smaoui, A. ; Abdelly, C., 2008. Influence of biological, environmental and technicalfactors on phenolic content and antioxidantactivities of Tunisian halophytes. *J C. R. Biol*. vol : 331. 865- 873.
35. Michel, M. ; Restellini, J-P, 2001. encyclopédie des plantes médicinales. *2nd Edition DorlingKindersiey Limited*. Londres(Angleterre). p335.

36. Mohammedi, Z., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles Essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de Magistère, Université Tlemcen. 105pp.
37. Mahmoudi, S. ; Khali, M. ; Mahmoudi, N., 2013. Etude de l'extraction des composés phenoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut : *Cynarascolymus L.* *J Nature & Technologie*. Vol 9. 35- 40.
38. Maameri, Z., 2014. *Pistacia lentiscus L.* : Evaluation pharmaco- toxicologique .Thèse de Doctorat en Sciences. Université Constantine. 138pp.
39. Maameri-Habibatni, Z., 2014. *Pistacia lentiscus L.* : Evaluation pharmaco toxicologique. Thèse de Doctorat en Sciences. Université Constantine. 102pp.
40. Mehenni, ch. ; Kilani-Atmani, D. ; Dumarcay, S. ; Perrin, D. ; Gerardin Ph. ; Atman, Dj., 2016. Hepatoprotective and antidiabetic effects of *Pistacia lentiscus* leaf and fruit extracts. *J of food and drug analysis*. p17.
41. Midani, M., 2017. Caractérisation biochimique des feuilles de *Pistacia Lentiscus*. Mémoire de Master en Chimie. Université ABDELHAMID IBN BADIS – MOSTAGANEM. 81pp.
42. Messaoudi A. et Kessbia A., 2017. Etudes ethnobotanique, screening phytochimique et évaluation du pouvoir antimicrobien des polyphénols des grains de lentisque « *Pistacia lentiscus L.* ». Master II en Biologie. UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA DE BOUMERDES .73pp.
43. Midani, M., 2018. Caractérisation biochimique des feuilles de *Pistacia Lentiscus*. Master en Chimie. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. 81pp.
44. Naczki, M. et Shahidi, F., 2004. "Extraction and analysis of phenolics in food." *J of Chromatography A* .vol : 1054(1-2). 95-111.
45. Naili, M-B ; Alghazeer, R-O ; Saleh, N-A ; Al-Najjar, A-Y, 2010. Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisiacampestris*(Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arabian Journal of Chemistry*. Vol : 3. 79–84.
46. Okombe, E. et Nzuzi, M., 1997. Etude de l'activité antibactérienne (in vitro) des extraits aqueux et méthanoliques de l'ail (*Allium sativum L.*). *J of Applied Biosciences*. Vol 14. 14419 – 14425.
47. Ponce, A-G ; Fritz, R. ; del Valle, C-E ; Roura, S-I, 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. Vol : 36. 679-684.
48. Polesse, J-M., 2010. *Arbre & Arbuste de Méditerranée*. Ed : Edisud. 135p.

## Références bibliographiques

49. Perillaud, M., 2018. Propriétés thérapeutiques des huiles essentielles de plantes aromatiques du maquis corse. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Pharmacie de Lille. France. 103pp.
50. Seigue, A., 1985. La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes. Edition G.P. Maisonneuve & Larose .Paris. 502p. Singleton, V. ; Rossi, J-A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphot un gstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*. Vol : 16(3). 144-58.
51. Valter, H., 2014. Quelles méthodes pour la gestion durable de la ressource des plantes aromatiques et médicinales ? Analyse des inventaires historiques en Albanie et modélisation des habitats à partir des traces GPS des cueilleurs en vue de la construction d'un observatoire. thèse de doctorat. Université Paul Valéry- Montpellier III. la France. 351pp.

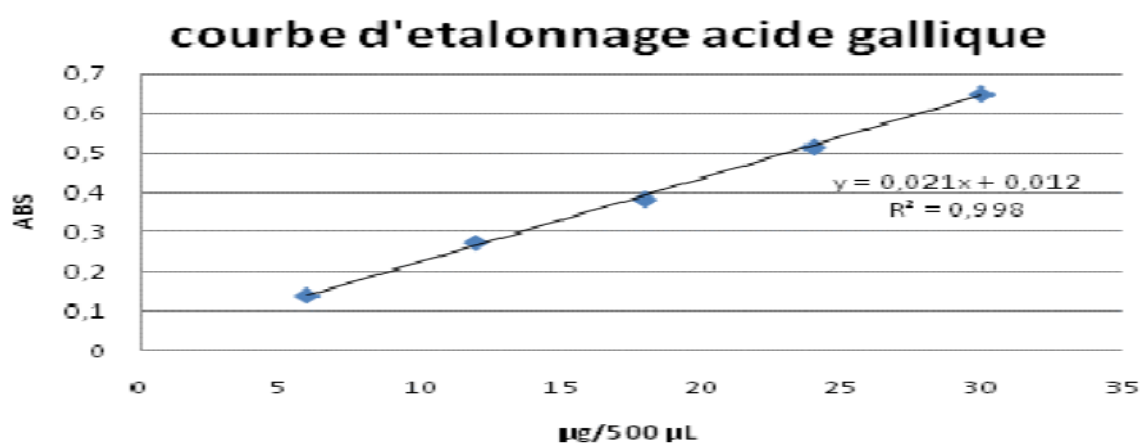
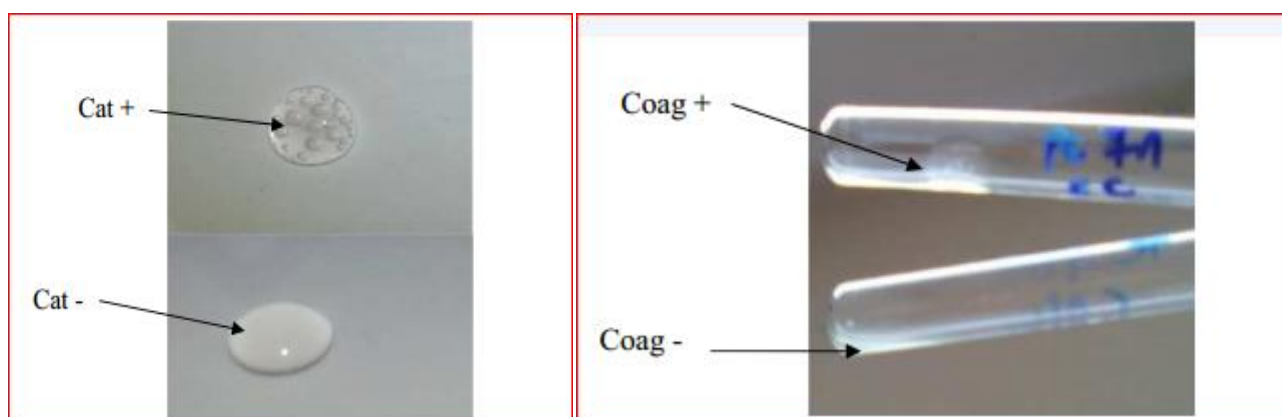
# **Annexe**

Annexe 1 : Matériel

			
Etuve	Bain marie	Etuve	Autoclave
			
Rotavapeur	Lyophilisateur à plateaux	Agitateur mécanique	Agitateur magnétique avec plaque chauffante
			
Hotte	Vortex	Pied à coulisse	Micropipette

Annexe 2 : les étapes de broyage de la matière végétale.

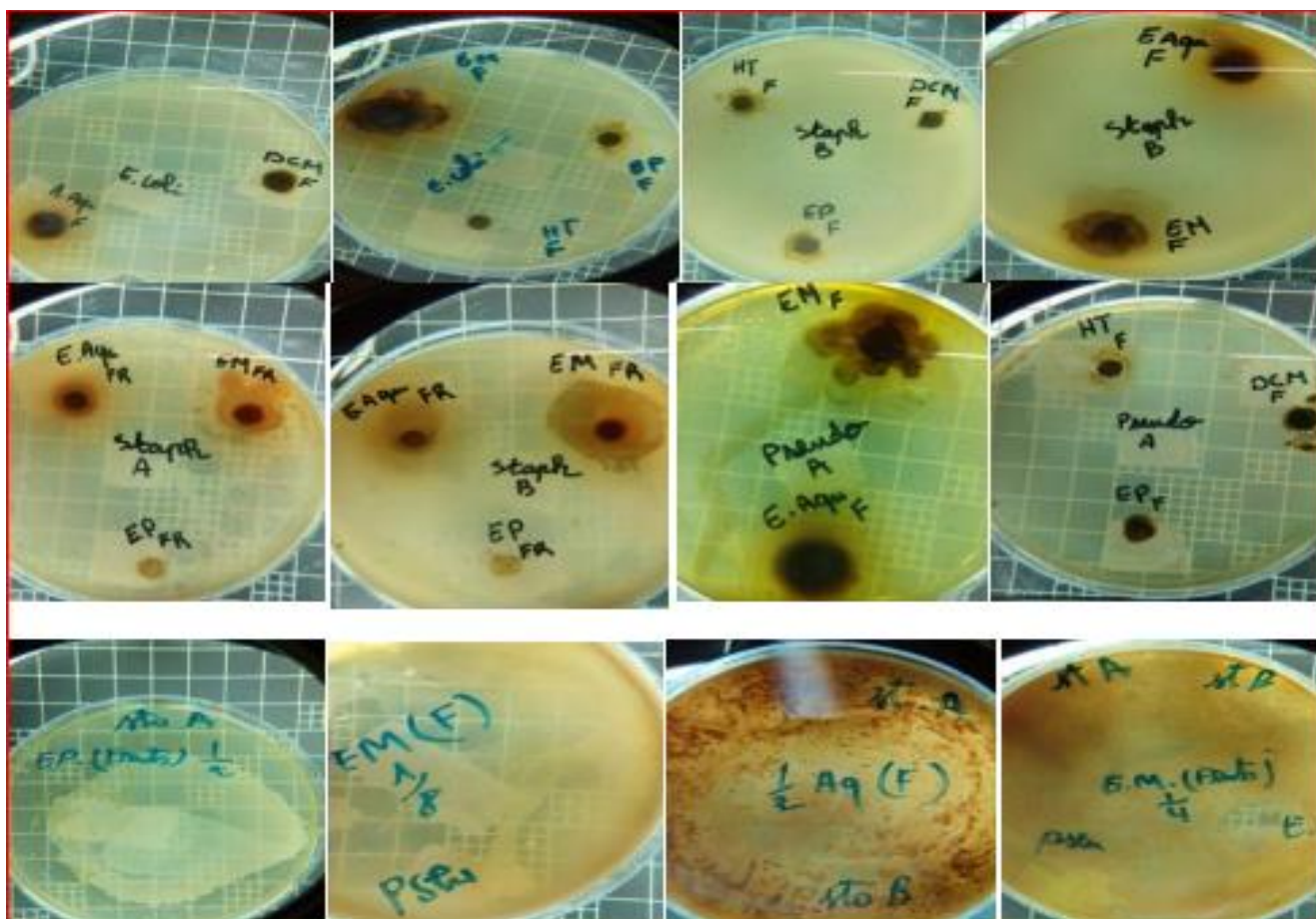
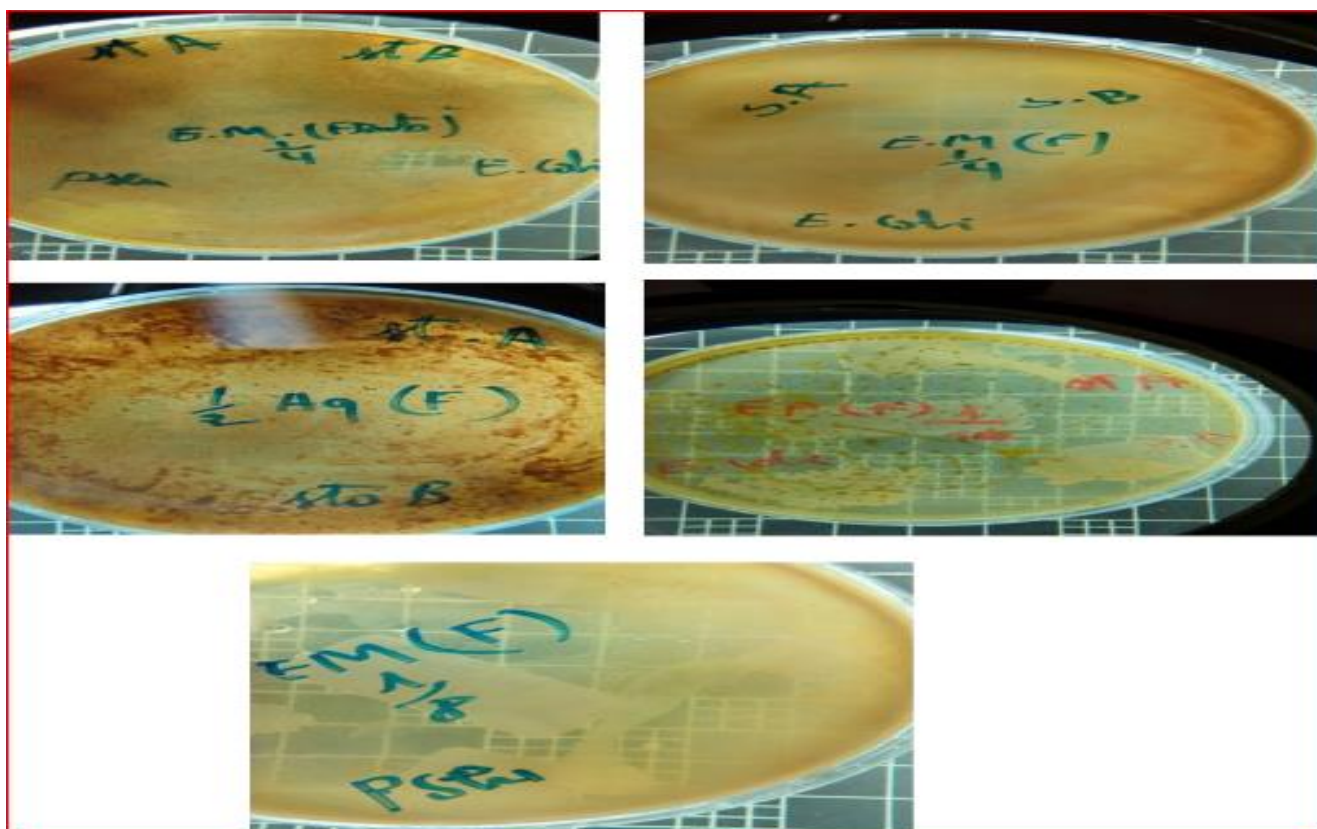


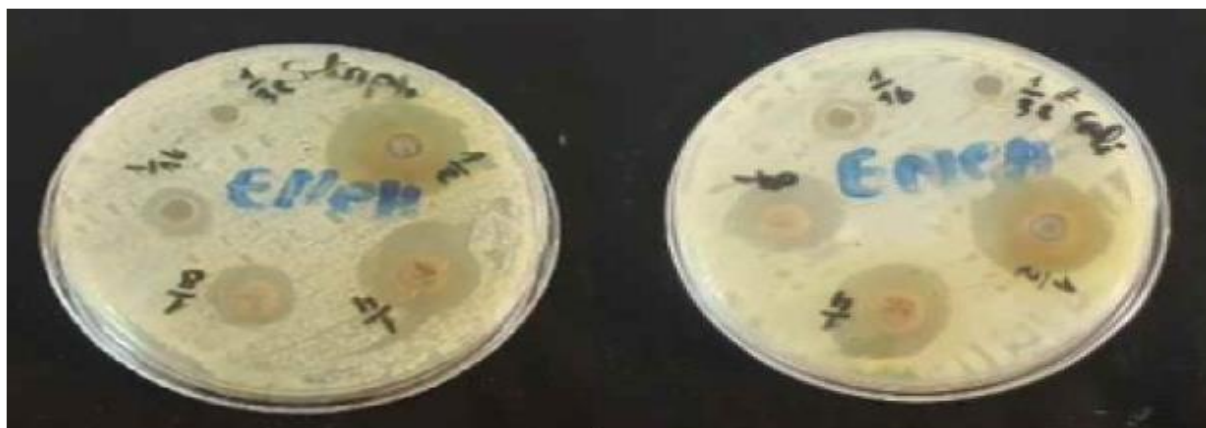
**Annexe 03 :** Le tamisage des poudres de *pistacia lentiscus*.**Annexe 04 :** La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.**Annexe 05 :** Les tests biochimiques classiques

Test de catalas

Test de coagulas

Annexe 06 : Résultats.





Zones d'inhibition des dilution des extraits méthanoliques brut sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.





Le pistachier lentisque (*pistacia lentiscus L*) est une plante méditerranéenne utilisée depuis l'antiquité en médecine traditionnelle, elle est reconnue par ses vertus thérapeutiques. Dans ce contexte, le présent travail porte sur l'étude de l'effet antibactérien des extraits des composants phénoliques, par la macération à partir des feuilles de *pistacia lentiscus* effectués sur les souches pathogènes suivantes (*E.coli*, *staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) en utilisant la méthode de diffusion de disque (Antibiogramme).

D'après les travaux présentés dans notre mémoire sur l'activité antibactérienne du *pistacia lentiscus L*, ont montré que cette plante a une forte action antibactérienne vis-à-vis des souches étudiées.

**Mots clés :** *pistacia lentiscus L*, polyphénols, pouvoir antibactérien, vertus thérapeutique, *E.coli*, *staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

### Abstract

The lentisk pistachio (*pistacia lentiscus L*) is a Mediterranean plant used since antiquity in traditional medicine, it is recognized for its therapeutic virtues. In this context, the present work focuses on the study of the antibacterial effect of extracts of phenolic components, by maceration from the leaves of *pistacia lentiscus* carried out on the following pathogenic strains (*E.coli*, *staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) in using the disk diffusion method (Antibiogram).

According to the work presented in our brief on the antibacterial activity of *pistacia lentiscus L*, showed that this plant has a strong antibacterial action against the strains studied.

**Keywords :** *pistacia lentiscus L*, antibacterial +), phenolic, therapeutic virtues antibacterial power, *E.coli*, *staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

### ملخص :

الضرور (القضيم) هو نبات متوسطي يستخدم منذ العصور القديمة في الطب التقليدي ، وهو معروف بخصائصه العلاجية. في هذا السياق ، يركز هذا العمل على دراسة التأثير المضاد للبكتيريا لمستخلصات المكونات الفينولية ، عن طريق النقع من أوراق *pistacia lentiscus* التي أجريت على السلالات الممرضة التالية (*E.coli* ، *Staphylococcus aureus* ، *Pseudomonas aeruginosa*) في باستخدام طريقة انتشار القرص (المضاد الحيوي). وفقاً للعمل المقدم في موجزنا حول النشاط المضاد للبكتيريا من *pistacia lentiscus L* ، أظهر أن هذا النبات له تأثير مضاد للجراثيم قوي ضد السلالات المدروسة.

**الكلمات الدالة الضرور.** المضاد للبكتيريا. الفينولية قوة مضادة للجراثيم، فضائل علاجية