

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé :

**Activité antibactérienne des deux plantes de la famille
d'*Anacardiaceae* et de *Myrtaceae***

Présenté Par : Boudraa Aya, Bouraoui Wahida
Lakikza Hind, Makhlouf Aicha

Membre de Jury:

Dr. Laib Messaoud (MCA)	Président	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Dr. Aggoun Asma (MCB)	Promoteur	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Dr. Bouzebda Abdreezak (MCB)	Examineur	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2023/2024

Remerciement

*Avant tout nous remercions dieu le tout puissant qui nous a
Procuré de la volonté, de la santé et du courage pour achever ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements et notre
profondeur gratitude à notre encadrante **Mme AGGOUN ASMA**
qui nous a accompagné tout au long de la
réalisation de ce mémoire, puis sa disponibilité, ses remarques
et ses conseils.*

*Un remerciement particulier va à **Mme MACHIA L.**
pour sa bienveillance et ses conseils.*

*Nos sincères remerciements vont également à tous les
membres de jurys pour l'honneur qu'ils nous ont fait afin
d'évaluer ce travail : **Mr LAIB .M et Mr BOUZEBDA .A**
Nous tenons à remercier, tous les enseignants qui nous ont
suivis durant notre formation et pour leurs valeureux
conseils.*

Nous remercions tous ceux qui nous ont toujours encouragé

*Nos derniers remerciements, de loin les plus intenses,
s'adressent à nos plus proches amis.*

Dédicace

Je dédie ce mémoire à mes chers parents AHMED et ZOHRA qui ont été toujours à mes côtés et m'ont toujours soutenu tout au long de ces longues années d'études.

En signe de reconnaissance, qu'ils trouvent ici, l'expression de ma profonde gratitude pour tout ce qu'ils ont consenti d'efforts et de moyens pour me voir réussir dans mes études.

*À mes sœurs : ASMA , FATIMA , KHAWLA , IMANE, et sont mariées, et HANANE
et toute ma famille*

A toutes mes amies , et tous les gens qui me connaissent et que je connais .

*Je tiens également à remercier mon encadrante, **Mme Aggoun Asma**, pour ses précieux conseils et son accompagnement tout au long de ce travail.*

*En fin, nous remercions toute personne ayant participé de près ou de loin à
l'élaboration et
l'évaluation de ce travail.*

HIND

Dédicace

Tout d'abord, je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Allah, notre créateur, pour m'avoir accordé la santé, la patience, la force et la volonté nécessaires à la réalisation de ce travail.

Je voudrais adresser mes plus sincères remerciements à ma très chère mère, Zalani Taitouma. Maman, tu as été mon mentor et mon modèle. Ton soutien inconditionnel est inestimable et je ne pourrai jamais te rendre tout ce que tu m'as apporté.

Ainsi qu'à mon cher père, Aziz, qui a toujours été là pour moi, m'apportant son soutien et veillant à ma réussite.

Votre présence depuis ma naissance a été ma plus grande motivation, me poussant à progresser à chaque étape de ma vie. Merci pour tous vos sacrifices, et je prie Dieu de vous accorder une longue vie.

À mes chers frères et sœurs, Ayoub, Ines et Amdjed, qui n'ont jamais hésité à me tendre la main quand j'en avais besoin, merci infiniment.

Je tiens également à remercier mon encadrante, Mme Aggoun Asma, pour ses précieux conseils et son accompagnement tout au long de ce travail.

Merci également à Mme Machia, qui n'a jamais hésité à partager ses connaissances avec nous.

Un grand merci aux membres du jury pour leur temps, leurs commentaires et leurs questions constructives. Votre expertise et vos retours m'ont été d'une grande aide.

Enfin, merci à toutes les personnes présentes aujourd'hui pour votre soutien et votre encouragement.

« Ce travail n'est pas la fin d'un cycle, mais le début d'un long parcours, Insh'Allah. La confiance en Dieu est la clé du succès. »

Aya

Dédicace

Louanges à Allah, louanges abondantes et bénies, telles qu'Il les aime et les agrée. Il m'a comblé de Ses bienfaits et de Sa générosité, et m'a enveloppé de Sa sollicitude et de Sa bonté. Je ne peux ni dénombrer Ses faveurs, ni mesurer l'immensité de Sa grâce. Que la paix et les bénédictions d'Allah soient sur les âmes pures de mes parents. Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mon immense reconnaissance à mon cher époux "Azzeddine", qui a été mon pilier et mon soutien indéfectible tout au long cette année universitaire. Mon amour pour le savoir ne l'a pas empêché de me soutenir et de m'encourager, il a enduré mon absence et mes préoccupations. Je ne saurais oublier la bienveillance de mes chers enfants "Takieddine", "Charafeddine", "Fakhereddine" et "Rayhane" qui ont supporté mon absence et mes préoccupations avec un cœur ouvert, et ont compris mon désir d'achever mes études.

Je remercie de tout mon cœur ma chère sœur "Zaina" et son mari "Youcef" et ses enfants "Islam", "Anfel", "Bouchra", "Ikkal", "Chemseddoha" qui se sont tenus à mes côtés depuis mon inscription jusqu'à l'obtention de mon diplôme. Ils ont été pour moi une seconde famille, Je n'oublie pas de remercier monsieur le vice-doyen de la faculté "Chikh Ramdane" d'avoir facilité le début de ce parcours et je ne peux passer sous silence la précieuse contribution qui m'aider pour l'étudiante distinguée "Maysoune Bouguedeh", une amie et une mère spirituelle. Je demande à Dieu de la bénir dans sa vie et de la guider dans son parcours. J'adresse mes sincères remerciements et ma profonde gratitude à tous mes chers professeurs qui m'ont enseigné cette année. Je les remercie tous individuellement : Mme "Maachia", Mme Boucetta", Monsieur Bouhayene", Mme "Boulahsa" Mme "Sakhraoui" et Mme "Aggoun"

Je remercie également tous mes collègues de promotion qui ne m'ont pas ménagé leur aide et leur soutien, en particulier mes camarades de recherche : Aicha", Hind", Aya" et tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à surmonter les difficultés que j'ai rencontrées au cours de cette année universitaire. Je tiens à exprimer ma gratitude particulière et mon amour à la précieuse et bienveillante professeure "MAACHIA L.", qui a été pour moi une mère spirituelle, et à l'ambitieuse professeure encadrante "AGGOUN A". Que Dieu les récompense abondamment pour moi et pour tous leurs étudiants. Enfin, j'élève mes mains vers Allah Tout-Puissant pour qu'Il me guide et me dirige sur le droit chemin, et qu'Il fasse de moi un serviteur utile à Ses serviteurs et une source d'amélioration pour mon pays, et qu'Il accorde à mes parents Sa miséricorde et Son pardon, et les accueille dans Son vaste Paradis.

WAHIDA

Dédicace

Avant tout, je remercie «الله» tout puissant de m'avoir donné la force, la volonté et le courage pendant toutes ces années d'études pour concrétiser ce travail.

Je dédie ce mémoire à mes chers parents Makhlouf messaoud et Bennaga fella qui ont été toujours à mes cotés et m'ont toujours soutenu tout au long de ces longues années d'études . EN signe de reconnaissance, qu'ils trouvent ici , l'expression de ma profonde gratitude pour tout ce qu'ils ont consenti d'efforts et de moyens pour me voir réussir dans mes études .

Mon frère Amine et mes sœurs Meriem et Bassma merci d'être toujours mon épaule sur laquelle m'appuyer et mon confident

A tout ma famille Makhlouf et Bennaga et tout mes amies

Et à tous ceux qui aiment le bon travaille

Je voudrais remercier ; la plus belle encadrante de mémoire Dr : Aggoun asma pour sa patience , sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils , qui ont contribuie à alimenter ma réflexion.

Aicha

Sommaire

Liste des figures	I
Liste des tableaux	III
Liste des abréviations	V
Résumé	VI
Sammry	VII
الملخص	VIII
Introduction	1
Partie théorique	3
I-Les huiles essentielles	3
I-1-Définition des huiles essentielles	3
I-2- La composition chimique des huiles essentielles	3
I-3- Méthode d'extraction des huiles essentielles	3
I-3-1- Hydrodistillation	3
I-3-2-Distillation par entrainement de la vapeur d'eau	4
I-3-3-Extraction au CO ₂ supecritique	4
I-3-4- Extraction sans solvant assistée par micro-onde	5
I-4- Rôle des huiles essentielles	5
I-5- Activité antibactérienne	5
II- Les espèces végétales	6
II-1- <i>Pistacia lentiscus</i>	7
II-1-1- Classification taxonomique	7
II-1-2- Description botanique	7
II-1-3- Répartition géographique en Algérie	8
II-2- <i>Myrtus Communis</i>	8
II-2-1- Classification taxonomique	8
II-2-2- Desinscription botanique	9
II-2-3- Répartition géographique	10
III- Généralités sur les bactéries étudiées et antibiorésistance	11
III-1- Les souches bactériennes de référence	10

III-2- <i>Escherichia coli</i>	10
III-2-1- Taxonomie	11
III-2-2-Pouvoir pathogène	12
III-3- <i>Staphylococcus aureus</i>	12
III-3-1- Taxonomie	12
IV -Antibiotiques et résistance aux antibiotiques	13
IV-1- Antibiotiques	13
IV-2- Résistance aux antibiotiques	13
Partie expérimentale	14
Matériel et méthodes	15
I- Cadre de l'étude	15
II- Matériels utilisés	15
II-1- Matériels non biologique	15
II-2- Matériels biologique	16
II-2-1- Matériel végétal	16
II-2-3- Les bactéries testées	17
III- Méthodes	18
III-1- Préparation de l'extrait éthanolique des deux plantes	19
III-2 -Protocole d'extraction des huiles essentielles	20
III-3-Calcul du rendement des huiles essentielles	20
III-4-Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de l'aromatogramme	21
III-4-1-Revivification des souches bactériennes	21
III-4-2- Repiquage des souches bactériennes	21
III-4-3-Identification des souches bactériennes	22
a- Observation macroscopique	22
b- Observation microscopique	23
III-5- Méthode de l'aromatogramme	24
III-5-1-Mode opératoire pour <i>Pistacia lentiscus</i>	24
III-5-2- Mode opératoire pour <i>Myrtus communis</i>	25
III-5-3- Mode opératoire pour le mélange de deux huiles essentielles	25
III-5-4- Mode opératoire pour les extraits éthanoliques	25
III-6-Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)	26
III-6-1 CMI de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i>	26
III-6-2- CMI de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i>	26

III-6-3- CMI pour le mélange des deux huiles essentielles	27
III-6-4- CMI des extraits éthanoliques	28
III-7-Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)	29
IV-Résultats et discussion	30
IV-1- Caractéristiques organoleptiques	30
IV-2- Extraits éthanoliques de <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Myrtus communis</i>	30
IV -3- Huiles essentielles de <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Myrtus communis</i>	32
IV -4- Identifications des souches bactériennes	33
IV -5- L'activité antibactérienne	34
IV -5-1- L'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i>	34
IV-5-2- L'huile essentielle de <i>M. communis</i>	36
IV-5-3- Le mélange des huiles essentielles pures de <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Myrtus communis</i>	38
IV-5-4- Le mélange d'HE dilué par l'huile végétale (huile de sésame)	39
IV-5-5- L'extrait éthanolique de <i>Myrtus communis</i>	40
IV-5-6- L'extrait éthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i>	41
IV-6- Résultats de la CMI	42
IV-6-1- Huile essentielle de <i>Myrtus communis</i>	42
IV-6-2- Huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i>	43
IV-6-3- Mélange des HE pures	44
IV-6-4- Mélange dilué avec l'huile de sésame	45
IV-6-5- Extrait éthanolique de <i>Myrtus communis</i>	47
IV-6-6- Extrait éthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i>	47
IV-7- Résultats de la CMB	48
IV-7-1- Huile essentielle de <i>Myrtus communis</i>	48
IV-7-2- Mélange des HE pures	49
IV-7-3- Mélange dilué avec l'huile de sésame	50
IV-7-4- Extrait éthanolique de <i>Myrtus communis</i> et Extrait éthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i>	50
Conclusion	53
Liste des références	54

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Montage Clevenger	4
02	Montage d'extraction des HEs par entrainement à la vapeur d'eau	4
03	Schéma du principe d'extraction par CO ₂ supercritique	5
04	Montage d'extraction assistée par micro-onde	5
05	Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne	6
06	<i>Pistacia lentiscus</i> : Feuilles, Fleurs et Fruits	8
07	Aire de répartition du <i>Pistacia lentiscus</i> en Algérie	8
08	<i>Myrtus communis</i> : Feuilles, Fleurs et Fruits	9
09	Distribution du genre myrte dans le monde et en Algérie	10
10	Séchage des feuilles : <i>Pistacia lentiscus</i> , <i>Myrtus communis</i>	16
11	Schéma général des méthodes expérimentales	17
12	Protocole de l'extrait éthanolique	18
13	Extraction d'huile essentielle	19
14	Protocole de revivification des souches bactériennes	20
15	Protocole de repiquage des souches bactériennes	21
16	Coloration de Gram	23
17	L'aromatogramme de <i>M. communis</i>	24
18	Protocole de concentration minimale inhibitrice des extraits éthanoliques	27
19	Protocole de concentration minimale bactéricide	28
20	Aromatogramme de l'huile essentielle <i>Pistacia lentiscus</i>	25
21	Aromatogramme de l'huile essentielle <i>Myrtus communis</i>	36
22	Aromatogramme du mélange des huiles essentielles pures de <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Myrtus communis</i>	37
23	Aromatogramme du mélange des huiles essentielles de <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Myrtus communis</i> dilué par l'huile de sésame	39
24	Aromatogramme de l'extrait éthanolique de <i>Myrtus communis</i>	40
25	Aromatogramme de l'extrait éthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i>	41

26	CMI de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i>	43
27	CMI de l'extrait éthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Myrtus communis</i> .	47
28	Les résultats de CMB des extraits éthanoliques de <i>Myrtus communis</i> et <i>Pistacia lentiscus</i>	52

Liste des tableaux

Tableau	Titre des tableaux	Pages
01	Positon taxonomique de <i>Pistacia lentiscus</i> .	7
02	Positon taxonomique de <i>Myrtus communis</i> .	9
03	Matériel non biologique.	14
04	Les paramètres géographiques des régions de récolte.	15
05	Origine des différentes souches microbienne testées.	16
06	Volumes et concentrations de différentes dilutions de l'huile essentielle.	25
07	Les caractéristiques des extraits éthanoliques <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Myrtus communis</i>	29
08	Rendement des extraits éthanoliques de <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Myrtus communis</i>	29
09	Les caractéristiques des huiles essentielles <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Myrtus communis</i>	31
10	Rendement de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> et <i>Pistacia lentiscus</i>	31
11	Résultats des observations macroscopique et microscopique des souches bactériennes.	32
12	Les diamètres des zones d'inhibitions de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i>	33
13	Les diamètres des zones d'inhibitions de l'huile de <i>Pistacia lentiscus</i>	35
14	Les diamètres des zones d'inhibitions du mélange des huiles essentielles pures de <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Myrtus communis</i>	37
15	Les diamètres des zones d'inhibitions du mélange des huiles essentielles de <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Myrtus communis</i> dilué par l'huile végétale (huile de sésame en mm).	38
16	Les diamètres des zones d'inhibitions de l'extrait éthanolique de <i>Myrtus communis</i>	39
17	Les diamètres des zones d'inhibitions de l'extrait éthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i>	40
18	Les résultats des CMI d'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i>	42
19	Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i> vis-à-vis des quatre bactéries testées.	43
20	Les résultats des CMI d'huile essentielle du mélanged'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Myrtus communis</i>	44
21	Les résultats des CMI du mélange des huiles essentielles de <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Myrtus communis</i> dilué avec l'huile de sésame.	45

22	Les résultats des CMI des extraits éthanoliques de <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Myrtus communis</i>	46
23	Les résultats de CMB de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i>	47
24	Les résultats de CMB du mélange des huiles essentielles pures de <i>Myrtus communis</i> et <i>Pistacia lentiscus</i>	48
25	Les résultats de CMB du mélange des huiles essentielles de <i>Myrtus communis</i> et <i>Pistacia lentiscus</i> dilué avec l'huile de sesame.	50
26	Les résultats des CMB des extraits éthanoliques de <i>Pistacia lentiscus</i> et <i>Myrtus communis</i>	51

Liste des abreviations

ATCC	American Type Culture Collection
BMH	Bouillon Mueller Hinton
BN	Bouillon nutritif
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
CPG-SM	Chromatographie en phase gazeuse -spectrométrie de masse
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EO	Essential oil
EXS	Extrêmement sensible
GN	Gélose nutritive
HE	Huile essentielle
<i>M.communis</i>	<i>Myrtus communis</i>
MH	Mueller Hinton
NCTC	National Collection of Type Cultures
<i>P. lentiscus</i>	<i>Pistacia lentiscus</i>
R	Résistante
RMN	Résonance magnétique nucléaire
S	Sensible
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
TS	Très sensible

Résumé

Ce travail s'est axé sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de deux huiles essentielles, mélanges pures et dilués ainsi que les extraits éthanoliques de *Myrtus communis* et *Pistacia lentiscus*, des plantes connues depuis l'antiquité pour leurs vertus médicinales.

L'activité antibactérienne a été évaluée sur quatre souches bactériennes, deux souches cliniques : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, et deux souches de référence : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922, et cela par la méthode de diffusion sur milieu gélosé ou aromatoگرامme, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition ainsi que par la méthode de macro dilution et micro dilution en milieu liquide en déterminant les concentrations minimales inhibitrices et les concentrations minimales bactéricides.

Les résultats des tests révèlent une action inhibitrice importante vis-à-vis des quatre souches bactériennes. Il s'avère que le mélange des HE pure a eu une activité inhibitrice forte contre les quatre souches, tandis que *E. coli* clinique a montré une sensibilité légère vis-à-vis du mélange d'HE dilué ainsi que l'HE de *M. communis* et son extrait éthanolique.

En conclusion, ce sont les souches Gram positif qui ont montré une plus grande sensibilité par rapport aux souches Gram négatif et ceci est probablement due à la structure différente de leur paroi.

Les mots clés : *Myrtus communis*, *Pistacia lentiscus*, huiles essentielles, Activités antibactériennes, CMI, CMB.

Summary

This work focused on the evaluation of the antibacterial activity of two essential oils, pure and diluted mixtures as well as the ethanolic extracts of *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus*, plants known since antiquity for their medicinal virtues.

The antibacterial activity was evaluated on four bacterial strains, two clinical strains: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and two reference strains: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922, by the diffusion method on agar medium or aromatogram. , by measuring the diameters of the inhibition zones as well as by the method of macro dilution and micro dilution in a liquid medium by determining the minimum inhibitory concentrations and the minimum bactericidal concentrations.

The test results reveal a significant inhibitory action against the four bacterial strains. It turns out that the pure EO mixture had strong inhibitory activity against all four strains, while clinical *E. coli* showed slight sensitivity towards the diluted EO mixture as well as the EO of *M. communis* and its ethanolic extract.

In conclusion, Gram-positif strains showed greater sensitivity compared to Gram-negat strains and this is probably due to the different structure of their wall.

Key words: *Myrtus communis*, *Pistacia lentiscus*, essential oils, Antibacterial activities, CMI, CMB.

ملخص

ركز هذا العمل على تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لاثنين من الزيوت الأساسية زيت الضرو وزيت الريحان، وكذا تأثير الزيت الناتج عن مزجهما في حالة مزيج نقي ومزيج مخفف بزيت السمسم بالإضافة إلى المستخلصات الإيثانولية لنباتات الضرو والريحان وهما نباتان معروفان طبيا منذ العصور القديمة.

تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا على أربع سلالات بكتيرية، سلالتين سريريتين (*Staphylococcus aureus*) و *Escherichia coli* (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Escherichia coli* ATCC 25922) وذلك بطريقة الانتشار على وسط مغذي صلب أو الرسم العطري مناطق التثبيط وكذلك بطريقة التخفيف الكلي والتخفيف الجزئي في وسط سائل عن طريق تحديد الحد الأدنى من التركيزات المثبطة CMI والحد الأدنى من تركيزات مبيد الجراثيم CMB

تكشف نتائج الاختبار عن عامل مثبط كبير ضد السلالات البكتيرية الأربعة.

اتضح أن المزيج النقي كان له نشاط مثبط قوي ضد جميع السلالات الأربعة، في حين أظهرت *Escherichia coli* السريرية حساسية طفيفة تجاه المزيج المخفف وكذلك لمستخلصه الإيثانولي.

في الختام، أظهرت السلالات Gam^+ حساسية أكبر مقارنة بالسلالات Gam^- ، وربما يرجع ذلك إلى اختلاف بنية جدارها الخلوي

الكلمات المفتاحية: نبات الضرو، نبات الريحان، الزيوت الأساسية، الأنشطة المضادة للبكتيريا CMI, CMB

Introduction

La résistance croissante des bactéries aux antibiotiques constitue une menace majeure pour la santé publique. Les infections bactériennes résistantes aux antibiotiques sont devenues de plus en plus fréquentes et difficiles à traiter, entraînant une morbidité et une mortalité accrues (**World Health Organization, 2022**). Cette situation souligne la nécessité urgente de développer de nouvelles approches thérapeutiques pour combattre les infections bactériennes. Les huiles essentielles, extraites de diverses parties des plantes, ont longtemps été utilisées pour leurs propriétés médicinales. Des études scientifiques ont démontré que les huiles essentielles possèdent des activités antimicrobiennes contre un large éventail de bactéries, y compris *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ainsi que contre les souches de référence, deux agents pathogènes responsables d'infections bactériennes courantes et parfois graves (**Bakkali et al., 2008**).

Pistacia lentiscus et *Myrtus communis* sont deux plantes méditerranéennes connues pour leurs propriétés médicinales. Leurs huiles essentielles ont montré une activité antibactérienne prometteuse contre diverses souches bactériennes (**Miguel et al., 2010**). Cependant, l'effet des mélanges de leurs huiles essentielles ainsi que des extraits éthanoliques a été peu étudié.

L'effet synergique des huiles essentielles est un domaine de recherche prometteur. La combinaison de différentes huiles essentielles peut potentialiser leurs propriétés antimicrobiennes, offrant une alternative thérapeutique encore plus efficace (**Guimarães et al., 2017**).

Ce travail se compose de deux parties une partie théorique qui inclue :

Chapitre I : Les huiles essentielles

Chapitre II : Les espèces végétales

Chapitre III : Généralités sur les bactéries étudiées et antibiorésistance

Chapitre IV : Antibiotiques et résistance aux antibiotiques

Et une partie expérimentale qui comprend : Matériel et méthodes, Résultats et discussion.

Cette étude s'achève par une conclusion et les perspectives qui ont pu être dégagées

Cette recherche vise à évaluer l'effet des huiles essentielles et des extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis*, individuellement et en synergie, sur les bactéries *E. coli* et *S. aureus*.

Les huiles essentielles et les extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis* présenteront-elles une activité antibactérienne significative contre *E. coli* et *Staphylococcus aureus* ? Peut-on potentialiser cette activité en combinant les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis* ?

Partie théorique

I-1-Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des liquides aromatiques extraits de diverses parties de plantes riches en essences odorantes, telles que les fleurs, les feuilles, les écorces, les racines et les graines (**Festy, 2018**). Elles sont obtenues par extraction ou distillation des molécules volatiles de la plante source. La composition principale de ces huiles est constituée de terpénoïdes et de molécules aromatiques (**Site web 2**)

I-2-Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles a été largement étudiée et décrite dans la littérature scientifique. Cependant, cette composition varie en fonction de plusieurs facteurs, notamment : le stade de développement des plantes, les organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte (**Delaquis et al., 2002, Gonny et al., 2004 ; Burt, 2004**).

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles est généralement réalisée par : chromatographie en phase gazeuse (CPG), chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (**Salzer, 1977**) et la résonance magnétique nucléaire (RMN) peut également être utilisée pour identifier les constituants des huiles essentielles (**Tomi et al., 1995**).

La composition chimique de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* comprends plusieurs composés majoritaires : myrcène, limonène, terpinen-4-ol, α -pinène, β -pinène, α -phellandrène, sabinène, p-cymène et γ -terpinène (**Castola et al., 2000**).

Selon les recherches menées par (**Mohamedi et al., 2021**) sur la composition chimique de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.* en Algérie, les composés minoritaires identifiés sont le limonène, l'acétate de myrtényle, le méthyl eugénol et le linalol. Leurs teneurs varient en fonction de la zone géographique de récolte des échantillons.

I-3- Méthodes d'extractions des huiles essentielles

Il y a plusieurs méthodes d'extractions, parmi les plus utilisés sont les suivants

I-3-1- Hydrodistillation

Un dispositif similaire au Clevenger est utilisé, où la matière végétale est placée dans de l'eau portée à ébullition (**figure 01**). Les vapeurs résultantes sont ensuite condensées sur une surface froide, permettant ainsi la séparation des huiles essentielles par différence de densité (**Bruneton, 1993**).



Figure 01 : Montage clevenger

I-3-2-Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

Dans la distillation à vapeur saturée, le matériel végétal est placé sur une grille perforée au-dessus de la base de l'alambic sans contact avec l'eau. Les principes volatils sont entraînés par les vapeurs d'eau puis refroidis et enfin séparés de la phase par décantation (Moro - Buronzo, 2008) (figure 02).

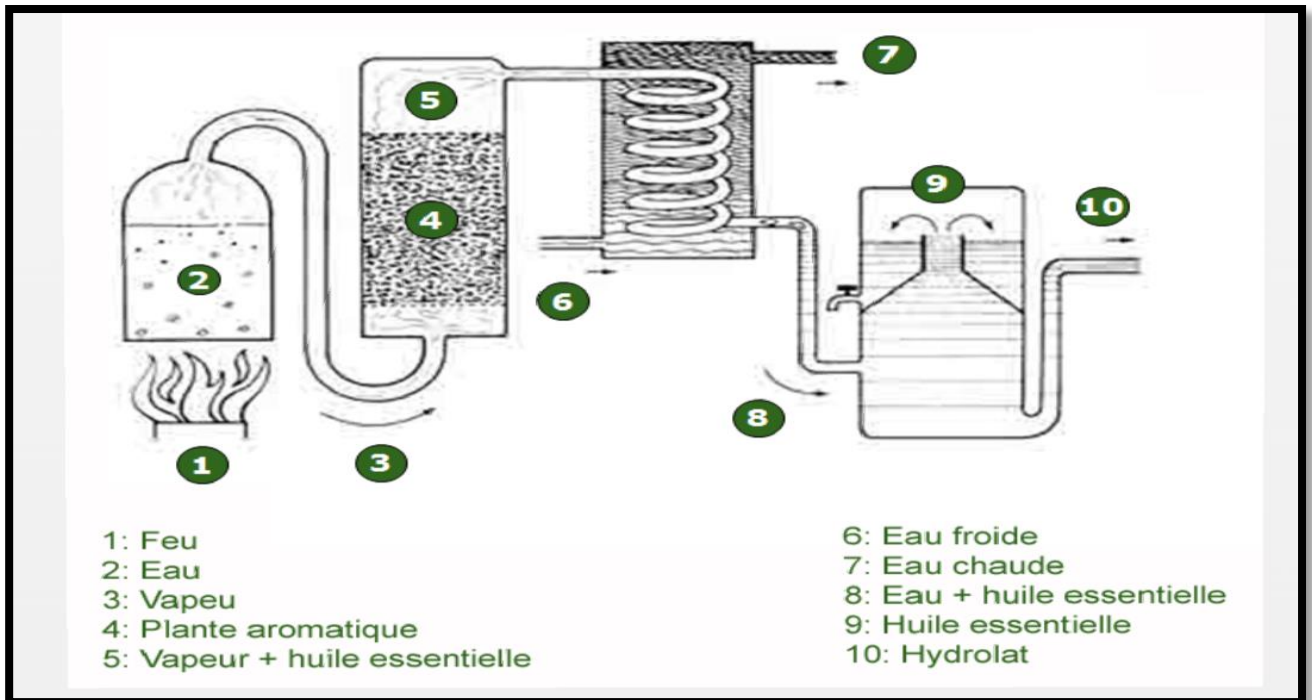


Figure 02 : Montage d'extraction des HEs par entrainement à la vapeur d'eau

I-3-3- Extraction au CO₂ supercritique

Le CO₂ permet l'extraction dans le domaine liquide et la séparation dans le domaine gazeux. (Scimeca, 2007). La matière végétale est placée dans un extracteur traversé par le flux de CO₂ supercritique. Le fluide se charge en composés extrait, puis il est détendu, passe en phase gazeuse et se sépare du composé extrait. Ce dernier est recueilli dans un séparateur (figure 03) (Reverchon, 1997)

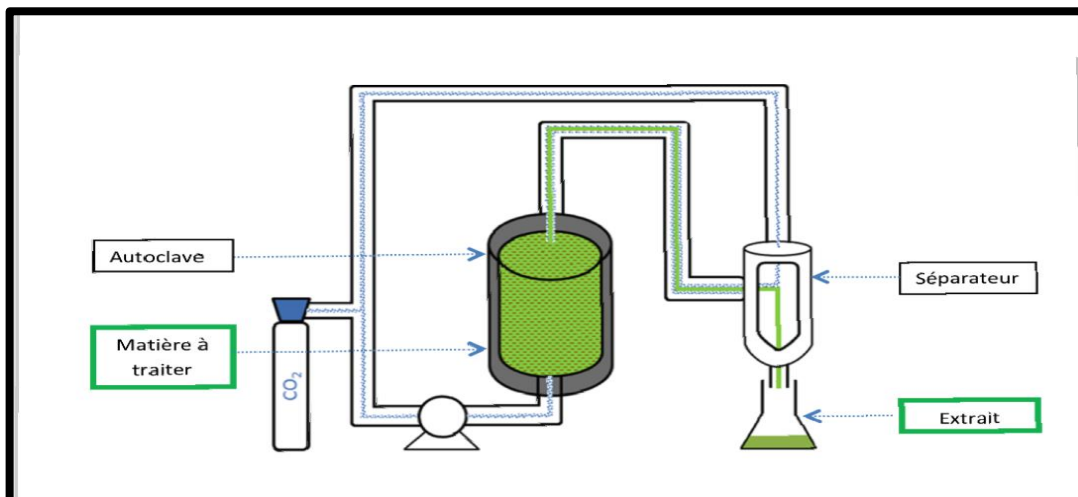


Figure 03 : Schéma du principe d'extraction par CO₂ supercritique

I-3-4- Extraction sans solvant assistée par micro-ondes

La plante est chauffée sélectivement par un rayonnement micro-onde dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle. L'HE est entraîné dans le mélange isotopique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée (figure 04) (Bruneton, 1999)

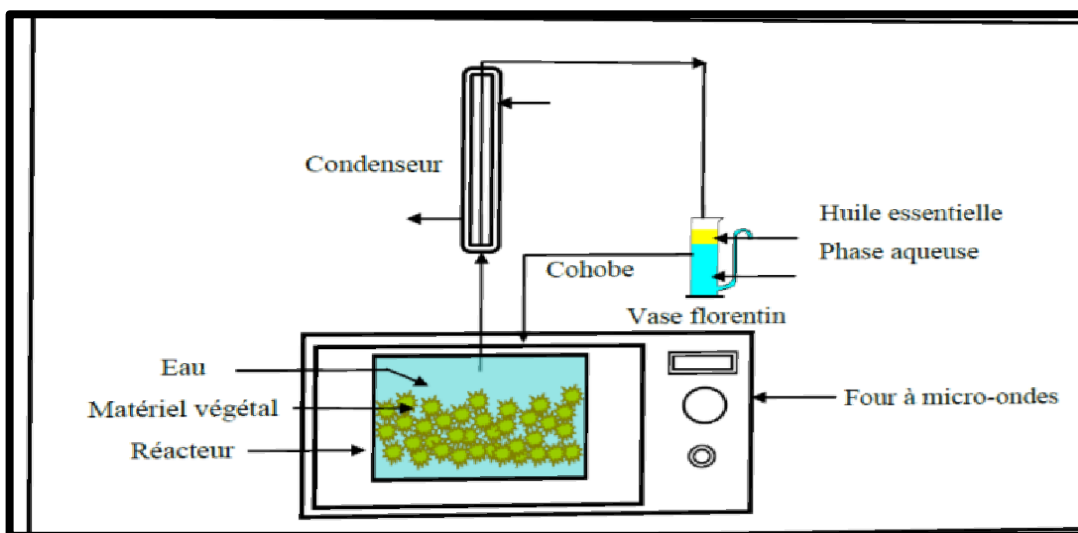


Figure 04 : Montage d'extraction assistée par micro-onde

I-4- Rôle des huiles essentielles

Les parfums émis par les huiles essentielles jouent un rôle attractif pour les insectes pollinisateurs. De plus, en règle générale, les huiles essentielles constituent un moyen de défense naturel contre les insectes prédateurs et les microorganismes (Bruneton, 1993).

I-5- Activité antibactérienne

Les HEs possèdent une double action contre les bactéries : elles peuvent les tuer (effet bactéricide) ou arrêter leur prolifération (effet bactériostatique). Diverses études indiquent que les HEs et leurs

principaux composés ont une activité antimicrobienne contre les bactéries à Gram négatif et à Gram positif. (Carson et Riley, 1995). Cette activité antimicrobienne des HEs est probablement due à la variabilité des composants, agissant sur plusieurs sites au niveau cellulaire (Carson *et al.*, 2002). En outre, les HEs exercent divers effets toxiques sur les bactéries, tels que la perturbation de la membrane cytoplasmique, la force proton motrice, la fuite d'électrons et la coagulation du contenu protéique des cellules (figure 05) (Davidson, 1997).

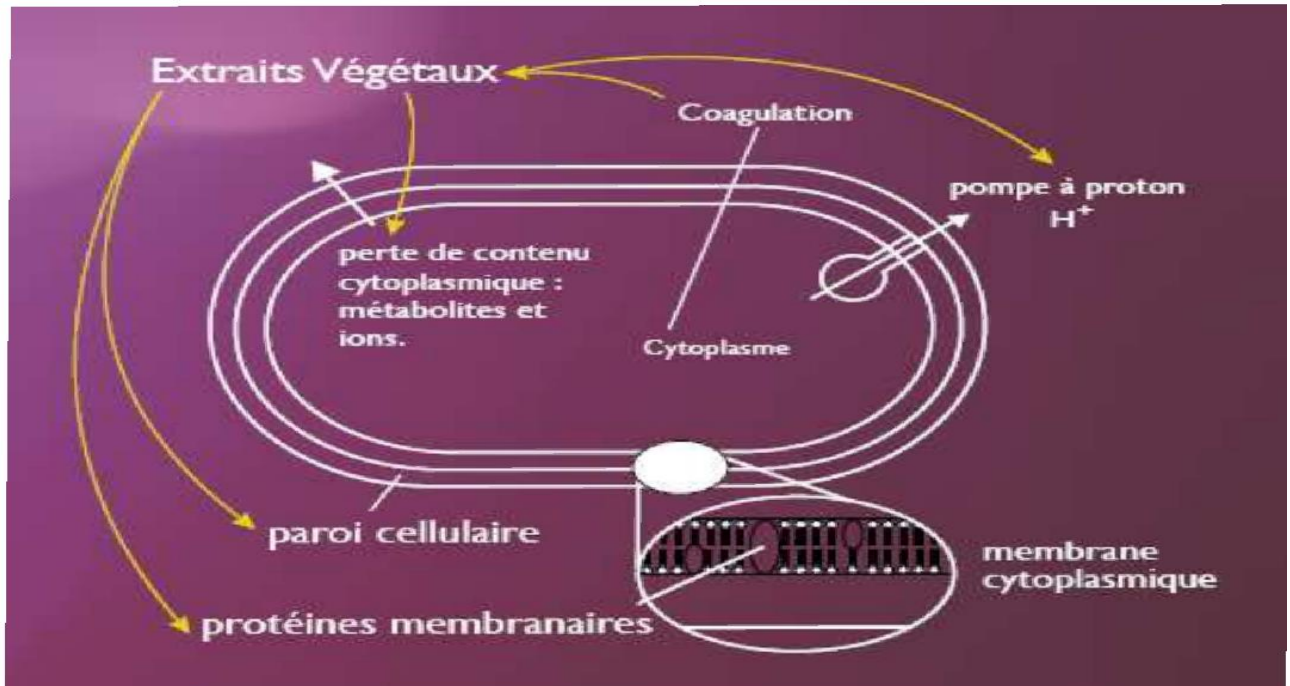


Figure 05 : Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne.

II-1- *Pistacia lentiscus*

II-1-1- Classification taxonomique

Le lentisque, originaire du bassin méditerranéen, est une plante de la famille des *Anacardiaceae*, qui pousse spontanément dans les garrigues et sur les sols en friche (Iserin, 2007). Cette plante est également connue sous les noms de Darou, dherou, drou en arabe, lentisque et arbre au mastic en français, et lentisk en anglais. Elle est présente sur tout le bassin méditerranéen.

-Nom scientifique : *Pistacia lentiscus*

-Noms communs : Tidikth (nom Berbère), Mastik (nom Latin), Chois Mastic Tree

(Nom Anglais), Mastic Baum (nom Allemand), Lentisco (Espagnol)

- Appellation local : Drou

La classification botanique de la plante est donnée par le **tableau 01** (Guignard et Dupont, 2004 ; Pell, 2004).

Tableau 01 : Positon taxonomique de *Pistacia lentiscus*.

Taxonomie	Description
Règne	<i>Plante</i>
Embranchement	<i>Spermatophytes</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones Vraies Supérieures</i>
Ordre	<i>Sapindales</i>
Famille	<i>Anacardiaceae</i>
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia lentiscus</i>

II-1-2- Description botanique

Pistacia lentiscus est un arbuste persistant à feuilles, caractérisé par des parties mâles et femelles, émettant une forte odeur de résine et mesurant généralement entre 2 et 5 mètres de haut (Iserin, 2007). Il atteint sa hauteur maximale à l'âge de 40-50 ans, mais peut atteindre jusqu'à 7 mètres dans les zones appropriées où il peut pousser librement. Les feuilles sont alternées, tannées et en forme de plume, avec des pétioles ailés et des paires de feuilles vert foncé (5-6 paires) (**figure 06**)

II- Les espèces végétales



Figure 06 : *Pistacia lentiscus*, a. feuilles, b. fleurs et c. fruits

II-1-3- Répartition géographique en Algérie

En Algérie, le *Pistacia lentiscus* occupe l'étage thermo-méditerranéen. Sa limite méridionale se situe aux environs de Saida, sa présence au sud de l'Atlas saharien n'est pas signalée. *P. lentiscus* est généralement dispersé sur tout le littoral. On le retrouve sur tout type de sol, subhumide et semi-aride (Smail, Saadoun, 2005), plus précisément dans le bassin du Soummam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège (figure 07) (Belhadj, 2000)

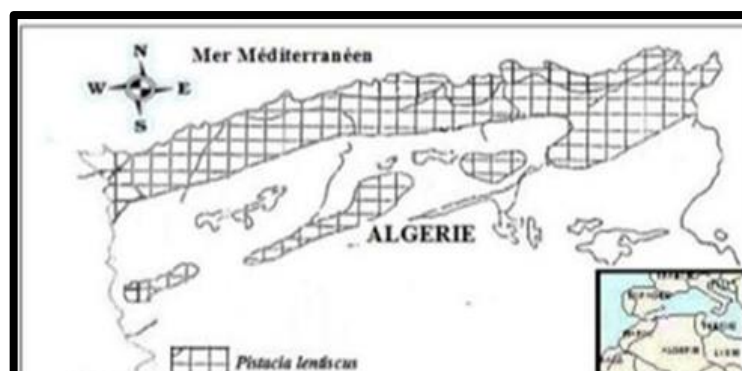


Figure 07 : Aire de répartition du *Pistacia lentiscus* en Algérie

II-2-Myrtus communis

II-2-1- Classification taxonomique

- Nom scientifique : *Myrtus communis*.

II- Les espèces végétales

- Arabe : Riḥane.
- Français : herbe du lagui, myrte commun.
 - Anglais: common myrtle, Greek myrtle, myrtle, sweet myrtle.

La classification taxonomique est présentée dans le **tableau 02** (Goetz *et al.*, 2012).

Tableau 02 : Positon taxonomique de *Myrtus communis*

Taxonomie	Description
Règne	<i>Plante</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Dicotyledones</i>
Ordre	<i>Myrtales</i>
Famille	<i>Myrtaceae</i>
Genre	<i>Myrtus</i>
Espèce	<i>Myrtus communis</i>

II-2-2- Description botanique

Le myrte commun (*Myrtus communis*) possède des feuilles persistantes, opposées et subsessiles (Mahmoud *et al.*, 2010 ; Franceschini, 2016). Ces feuilles sont coriaces, luisantes, de forme ovale et lancéolée, mesurant entre 3 et 5 mm de long et 4 à 11 mm de large (Aleksic et Knezevic, 2014). Les fleurs du myrte commun sont parfumées, solitaires et axillaires, avec des couleurs blanches ou roses (Mahmoud *et al.*, 2010 ; Aleksic et Knezevic, 2014 ; Gugliuzza *et al.*, 2015). Elles sont hermaphrodites, actinomorphes et atteignent un diamètre maximal de 3 cm (Franceschini, 2016), Le fruit est une baie sphérique bleu rougeâtre à violette (Aleksic et Knezevic, 2014 ; Karzan *et al.*, 2017) (figure 08).

II- Les espèces végétales

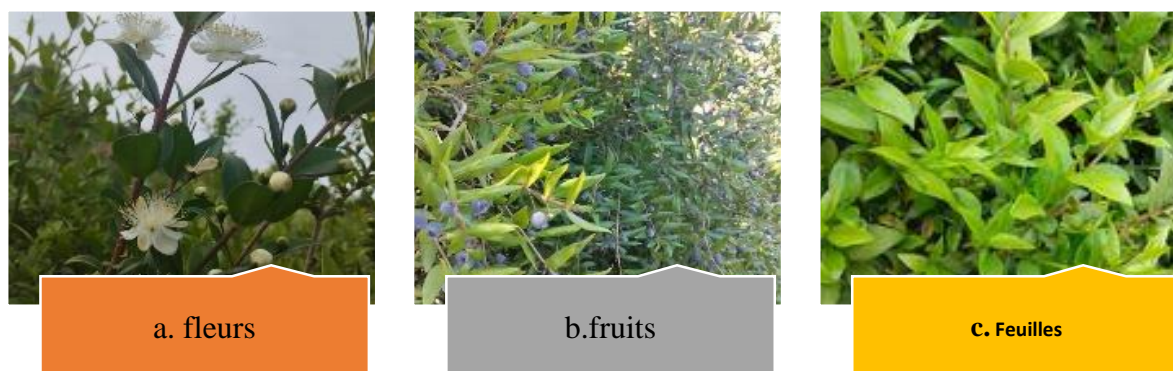


Figure 08 : *Myrtus communis* : a. fleurs, b. fruits, c. feuilles

II-2-3- Répartition géographique

Le myrte est une plante médicinale aromatique, endémique à la région méditerranéenne (Figure 09).

Le myrte commun pousse au niveau de la mer à 500-800 m d'altitude (Migliore, 2011).

En Algérie, il est commun dans les Tell et les forêts du Littoral Algéro-constantinois (Somon, 1987).



Figure 09 : Distribution du genre myrte dans le monde et en Algérie

Dans son environnement, l'homme est entouré de nombreux microorganismes qui colonisent sa peau, ses muqueuses, son tube digestif, son système respiratoire et son appareil urinaire. Parmi ces microorganismes, les bactéries peuvent être des saprophytes, comme la flore digestive, ou des pathogènes causant des infections chez l'hôte (**Ouis, 2015**). Dans cette étude, il s'agit de travailler sur les souches de bactéries fréquemment isolées en pathologie humaine : *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

III-1- Les souches bactériennes de référence

Les souches bactériennes de référence sont définies comme tout micro-organisme acquis à partir d'une collection de cultures reconnue. Elle constitue l'étalon qui permet de la comparer à d'autres souches. Différents noms sont attribués aux souches de référence, dans diverses publications du CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) et de l'USP (United States Pharmacopeial). Il existe plusieurs désignations en fonction de l'organisation telle que : ATCC (American Type Culture Collection), et NCTC (National Collection of Type Cultures) (**Microbiology Clinic Web Site 2**)

III-2- *Escherichia coli*

Cette bactérie fait partie de la famille des Entérobactériacées. La majorité de ces espèces sont des hôtes normaux du tube digestif. Elles sont retrouvées dans le sol et l'eau, mais le plus souvent dans les muqueuses intestinales, où elles se multiplient rapidement et montrent une résistance particulière aux antibiotiques à spectre large et aux antibiotiques actifs sur les bactéries Gram-positives (pénicillines, macrolides) (**Carbonnelle et al., 1987**). Cette résistance justifie largement leur implication en pathologie infectieuse.

E. coli ou colibacille est une bactérie asporulée mesurant 2 à 4 µm de long sur 0.4 à 0.6 µm de large. C'est une bactérie fine et allongée à extrémités arrondies, mobile grâce à une ciliature péritriche. Elle se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées. Sur les milieux lactosés, les colonies sont généralement lactose positif. Sur gélose au sang, elles peuvent être hémolytiques. (**Avril et al., 2000**)

III-2-1-Taxonomie :

Règne : *Bacteria*
Embranchement : *Proteobacteria*
Classe : *Gamma Proteobacteria*
Ordre : *Enterobacteriales*
Famille : *Enterobacteriaceae*
Genre : *Escherichia*
Espèce : *Escherichia (E. coli)* (**Bergey's manual 2012**)

III-2-2-Pouvoir pathogène

E.coli est responsables d'infections extra-intestinales :

- Infections urinaires
- Infections abdominales
- Infections méningées néonatales (*E. coli* k1)
- Septicémies avec choc septique due à l'endotoxine O

L'infection intestinale : L'existence des diarrhées à *E. coli* est connue depuis 1940. Ces diarrhées sont dues à des souches de sérotypes particuliers qui provoquent soit des cas

Sporadiques, soit des petites épidémies. (Avril *et al.*, 2000)

III-3- *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires, c'est-à-dire présentes partout dans l'environnement. Elles peuvent vivre comme des bactéries saprophytes dans la nature (sols, air, aliments, etc.) mais aussi en tant que bactéries commensales sur la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux, ainsi comme bactéries pathogènes, agents d'infections humaines qui peuvent être redoutables (Rafati *et al.*, 2014).

Catalase positives et aérobies facultatives qui ferment les glucides. Ils peuvent être divisés en souches pathogènes et relativement non pathogènes en fonction de leur capacité à produire de la coagulase. L'espèce coagulase-positif *Staphylococcus aureus* est considérée comme l'agent le plus pathogène pour l'homme (Willey *et al.*, 2008).

III-3-1-Taxonomie

Domaine : *Bacteria*

Phylum : *Bacillota*

Classe : *Bacilli*

Ordre : *Caryophanales*

Famille : *Staphylococcaceae*

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *Staphylococcus aureus* (Choch *et al.*, 2020)

IV - Antibiotiques et résistance aux antibiotiques

IV-1- Antibiotiques

Les antibiotiques sont définis comme toute substance antibactérienne d'origine biologique, synthétique ou semi-synthétique, capable d'inhiber la multiplication ou de détruire les micro-organismes (*Caron et al., 2014*).

IV-2-Résistance aux antibiotiques

La résistance bactérienne se définit par la capacité d'un micro-organisme à se développer en présence d'un agent antimicrobien, dont l'action empêche ou ralentit normalement sa croissance. Cette résistance peut être naturelle, liée aux caractères génétiques normaux de l'espèce bactérienne, ou acquise, lorsque des souches d'une espèce bactérienne normalement sensible deviennent résistantes (**Levinson, 2014 ; Paolozzi et Liébart, 2015**). Les bactéries ont démontré leur capacité à développer une résistance aux antibiotiques par divers mécanismes, dont la nature et l'efficacité varient suivant les espèces et les produits. Les principales stratégies connues sont :

1. La production d'enzymes inactivatrices des antibiotiques, comme les bêta-lactamases (**Levinson, 2014 ; Paolozzi et Liébart, 2015**).
2. La modification des cibles des antibiotiques, empêchant leur action (**Levinson, 2014; Paolozzi et Liébart, 2015**).
3. La diminution de la perméabilité bactérienne aux antibiotiques (**Levinson, 2014; Paolozzi et Liébart, 2015**).
4. La réduction des concentrations intracellulaires d'antibiotiques par un transport actif vers l'extérieur de la cellule via des pompes d'efflux (**Cattoir, 2004**).

Ces mécanismes permettent aux bactéries de résister aux antibiotiques, ce qui peut entraîner des difficultés de traitement pour des infections autrefois sans gravité et peut mener parfois à des situations d'impasse thérapeutique (**Levinson, 2014 ; Paolozzi et Liébart, 2015**).

Partie expérimentale

I-Cadre de l'étude

Ce projet de recherche a été réalisé au niveau des laboratoires suivants :

- ✚ Le laboratoire Abdelaziz Hanane Lab à EL Harouche où l'extraction des huiles essentielles (HE) des plantes *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis* a été effectuée le 10 mars.
- ✚ Le laboratoire de l'université 20 Août 1955 Skikda où l'extraction éthanolique a été préparée le 17 mars et les tests de Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et de Concentration Minimale Bactéricide (CMB) ont été réalisés le 05 mai
- ✚ Le laboratoire de l'hôpital Abderrezak Bouhara à Skikda où des échantillons de souches bactériennes cliniques d'urine et de pus ont été obtenus le 7 avril.
- ✚ Le laboratoire EL Kandi à EL Harouche où l'activité antibactérienne des huiles essentielles a été testée le 14 avril.

II-Matériels utilisés

II-1-Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé dans ce travail est répertorié dans le **tableau 03** ci-dessous.

Tableau 03 : Matériel non biologique

Appareillage	Verreries et autres	Réactifs et solutions
Bec bunsen	Boite de Pétri	Milieux de culture (Chapman,
Microscope	Tube à essai	Hektoen, Mueller Hinton
Bain marie	Tube à centrifuger	(MH))
Etuve	Pipette Pasteur	Bouillon Mueller Hinton
Autoclave	Anse de platine	Eau distillée
Rotavap	Micropipette	Eau physiologique
Appareil de filtration	Lame et lamelle	Tween 80
Centrifugeuse	Ecouvillons	DMSO
Réfrigérateur	Seringue	Fuschine
Hydro distillateur	Papier wattman (disques)	Lugol
	Microplaque	Violet de Gentiane
		Alcool
		Huile d'immersion

II-2- Matériel biologique

II-2-1- Matériel végétal

Dans ce travail on a utilisé les feuilles de deux plantes aux vertus médicinales, il s'agit de *Myrtus communis* et *Pistacia lentiscus*.

a- Critères de choix des deux plantes

Le myrte est une plante annuelle à feuilles persistantes originaire du bassin méditerranéen, est une espèce vénérée pour ses propriétés médicinales et aromatiques. Depuis l'Antiquité, elle occupe une place de choix dans la médecine traditionnelle, notamment chez les Grecs, les Romains et les Arabes. Ses huiles essentielles sont connues pour leurs activités antimicrobiennes, déjà étudiées dans des travaux précédents.

Le lentisque est une plante traditionnelle est utilisée depuis des siècles dans les régions méditerranéennes pour traiter des infections, ce qui la rend un choix basé sur l'usage traditionnel. Elle est également abondante dans ces régions, facile à traiter et à stocker, et des études antérieures ont suggéré qu'elle possède une activité antibactérienne.

b- Récolte

- La plante de *Myrtus communis* a été récoltée le 04 février au niveau de la région Es Sebt Azzaba de la wilaya de Skikda.
- La plante de *Pistacia lentiscus* a été récoltée le 24 février au niveau de la région Bouchegouf de la wilaya de Guelma.
- Les paramètres géographiques des régions de récolte sont représentés dans le **tableau 04**.

Tableau 04 : Les paramètres géographiques des régions de récolte

	<i>Pistacia lentiscus</i>	<i>Myrtus communis</i>
Station	Bouchagouf	Es Sebt Azzaba
Wilaya	Guelma	Skikda
Latitude	36.44 ° Nord	36° 44 ' 21.98" Nord
Longitude	7.11° Est	25 ° 7' 57.82 Est
Altitude	256 m	256 m
Zone climatique	Climat continental	Climat méditerranéen

C-Séchage

Les feuilles des deux plantes ont été bien lavées avec l'eau distillée, puis séchées à l'aire libre à l'ombre jusqu'à la dessiccation complète (14 jours) (**figure 10**).



Figure 10 : Séchage des feuilles de *Pistacia lentiscus* et de *Myrtus communis*

II-2-3- Les bactéries testées

Dans notre étude, 4 souches bactériennes souvent résistantes aux antibiotiques ont été testées. Deux souches d'origine clinique et deux souches de référence ATCC. Et ceci afin d'évaluer l'activité antibactérienne des HE et des extraits éthanoliques de deux plantes *Myrtus Communis* L *Pistacia Lentisque*.

Elles ont été pré-identifiées au niveau du Laboratoire d'analyses médicales privé "Al Kandi " (El Harrouch). Aussi, nous avons réalisé un ensemble d'analyses microbiologiques et biochimiques sur ces mêmes souches (**tableau 05**).

Tableau 05 : Origine des souches bactériennes testées

Nom des bactéries	Gram	Nature du prélèvement	Numéro ATCC
<i>Staphylococcus aureus</i> , clinique	Positif	Pus	
<i>Escherichia coli</i> , clinique	Négatif	Urine	
<i>Staphylococcus aureus</i> souche de référence	Positif	Institut pasteur	25923
<i>Escherichia coli</i> , souche de référence	Négatif	Institut pasteur	25922

Conservation des souches

Les souches ATCC ont été conservées à + 4°C dans le milieu de conservation LB dans des boîtes de Pétri.

III- Méthodes

La **figure 11** représente un résumé des méthodes et lieux de cette étude.

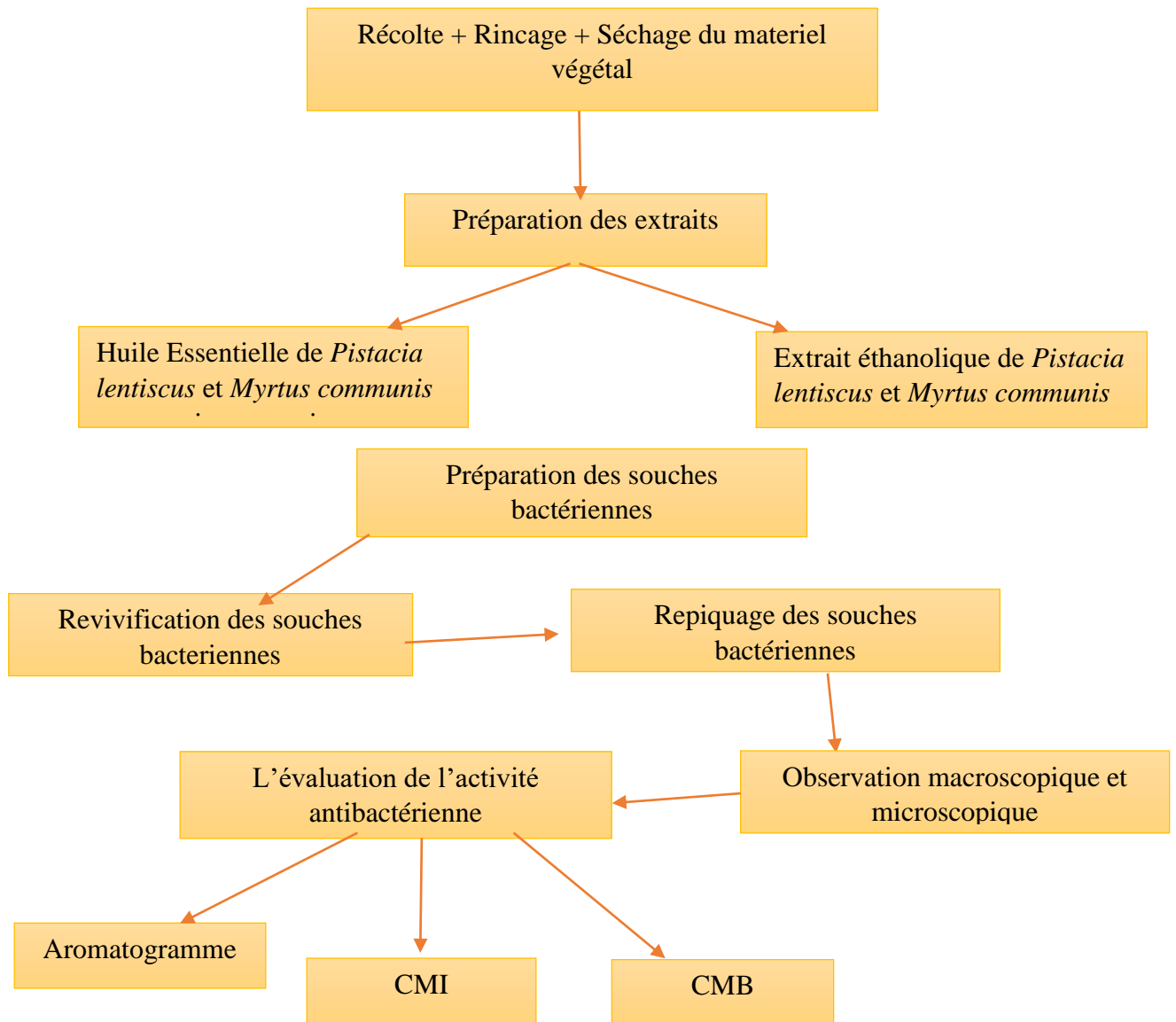


Figure 11 : Schéma général des méthodes expérimentales

III-1- Préparation de l'extrait éthanolique des deux plantes

- Mélangez 5 g de poudre de feuilles de *Pistacia lentiscus* avec 75 ml de solvant d'extraction (70 % d'éthanol) (Boudiaf *et al.*, 2023) (figure 12).
- Mélangez 10 g de poudre de feuilles de *Myrtus communis* avec 150 ml d'éthanol (Miaga, 2022)
- Agitez le mélange de *Pistacia* pendant 1h30 min et de *Myrtus* pendant 2h.
- Filtrer les mélanges séparément sur du papier filtre (papier Wathman).
- Eliminez le solvant de chaque filtrat à pression réduite à 75°C à l'aide de l'évaporateur rotatif.

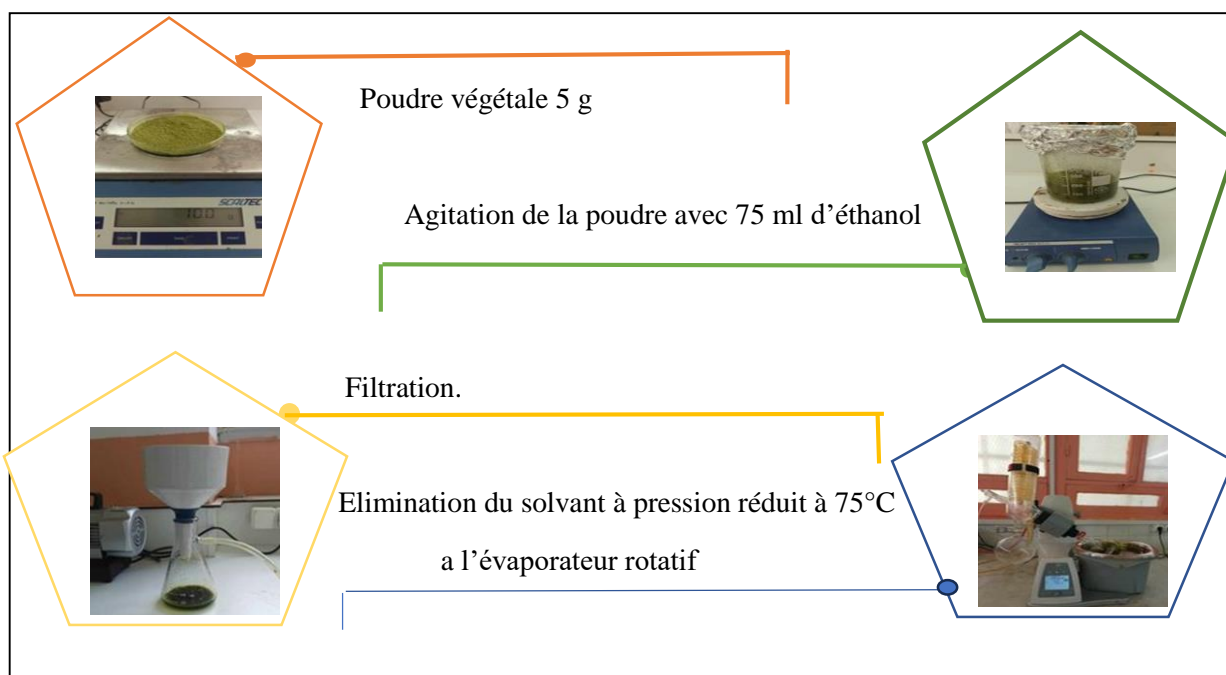


Figure 12 : Protocole de l'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus*

- Conservez l'extrait sec au réfrigérateur pour les tests ultérieurs.
- Cette préparation a été répétée deux fois pour que les extraits suffisent aux prochains tests.

Calcul du rendement de l'extrait éthanolique

Le rendement a été calculé à partir de l'équation suivante (Stanojevic *et al.*, 2009) :

$$\text{Rendement (\%)} = (P1/P2) \times 100$$

P1 : poids de l'extrait après évaporation

P2 : poids du matériel végétal sec

III-2- Protocole d'extraction des huiles essentielles

- ✚ Pour *Myrtus communis* 15 kg des feuilles ont été ajoutés dans l'alambic rempli avec 40 litres d'eau distillé
- ✚ Pour *Pistacia lentiscus* 20 kg des feuilles sèches ont été rempli avec 50 litres d'eau distillé
- ❖ L'alambic est chauffé directement avec le gaz pendant une heure et demie.
- ❖ L'eau bout et forme de la vapeur. La vapeur d'eau entraîne les composés volatiles des feuilles.
- ❖ La vapeur chargée en huile essentielle se condense ensuite dans le condenseur.
- ❖ Le mélange de l'hydrolat et d'huiles essentielles est obtenu à la sortie du refroidisseur et versé dans une bouteille en verre, (L'huile essentielle à la surface de l'hydrolat).
- ❖ Récupérée la couche d'huile essentielle pure par L'ampoule à décante. **(figure 13)**

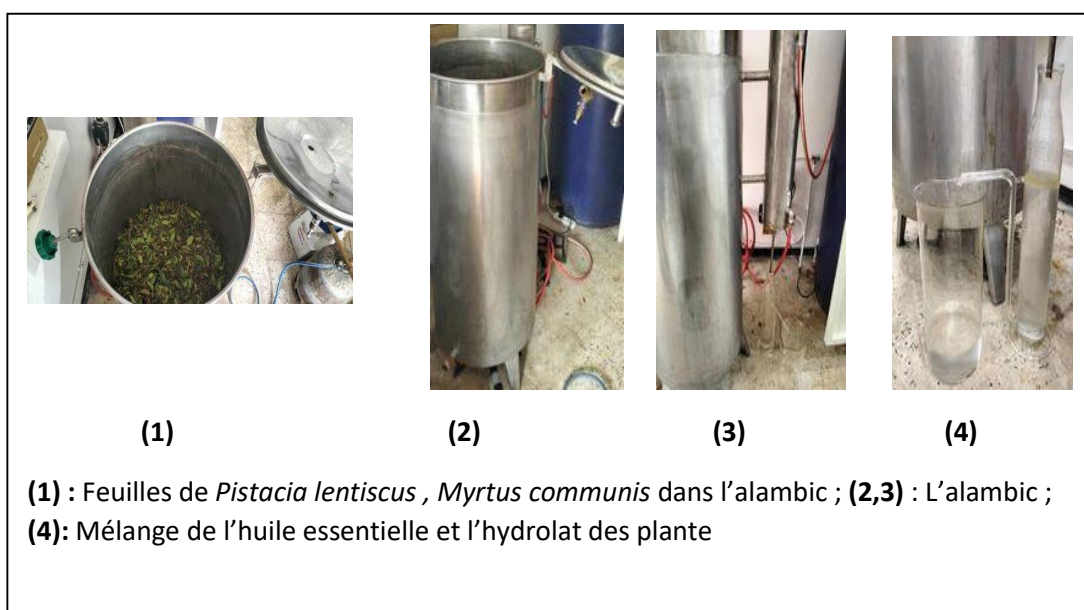


Figure 13 : Extraction d'huile essentielle

- **Conservation des HE**

L'huile essentielle pure est ensuite conservée au réfrigérateur + 4 °C dans un flacon sombre afin de la préserver de la lumière et de la chaleur (**Chebaibi et al., 2016**).

III-3- Calcul du rendement des huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle en gramme (g) obtenue et la masse de matière végétale sèche en gramme (g). Il est calculé par l'équation suivante : (**Chantal et al., 2015**)

$$\text{RHE} = (\text{MHe} / \text{MV}) \times 100$$

RHE : le rendement en huile essentielle en (%).

MHE : la masse d'huile essentielle en (g).

MV : matière végétale en (g).

III-4--Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de l'aromatogramme

III-4-1- Revivification des souches bactériennes

Les souches bactériennes conservées ont été cultivés dans des tubes à essai contenant 5 ml de bouillon nutritif, puis elles ont été incubées dans l'étuve pendant 24 h à 37°C (**figure 14**)

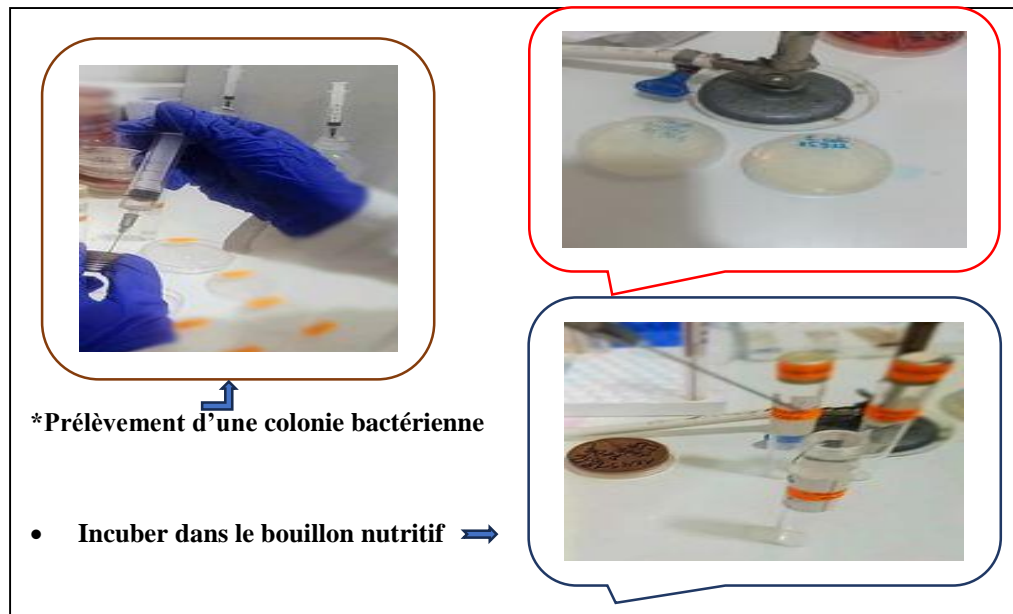


Figure 14 : Protocole de revivification des souches bactériennes

III-4-2- Repiquage des souches bactériennes

L'objectif du repiquage est l'obtention d'une culture jeune et pure. Pour ce faire, un processus spécifique est suivi. Tout d'abord, une goutte de bouillon de la souche enrichisse estensemencée en stries dans un milieu spécifique qui a été préalablement coulé et solidifié dans des boîtes de Pétri. Différents milieux sont utilisés selon le Gram des bactéries : la gélose de Chapman est utilisée pour les bactéries Gram positives (*S. aureus*), l'Hektoen pour les bactéries Gram négatives (*E. coli*).

Une fois que les boîtes de Pétri ont étéensemencées, elles sont placées dans une étuve à une température de 37°C pendant 24 heures pour les bactéries. Pendant cette période d'incubation, les bactéries se développent et forment des colonies distinctes sur la gélose (**Djadi et al.,2014**) (**figure15**).

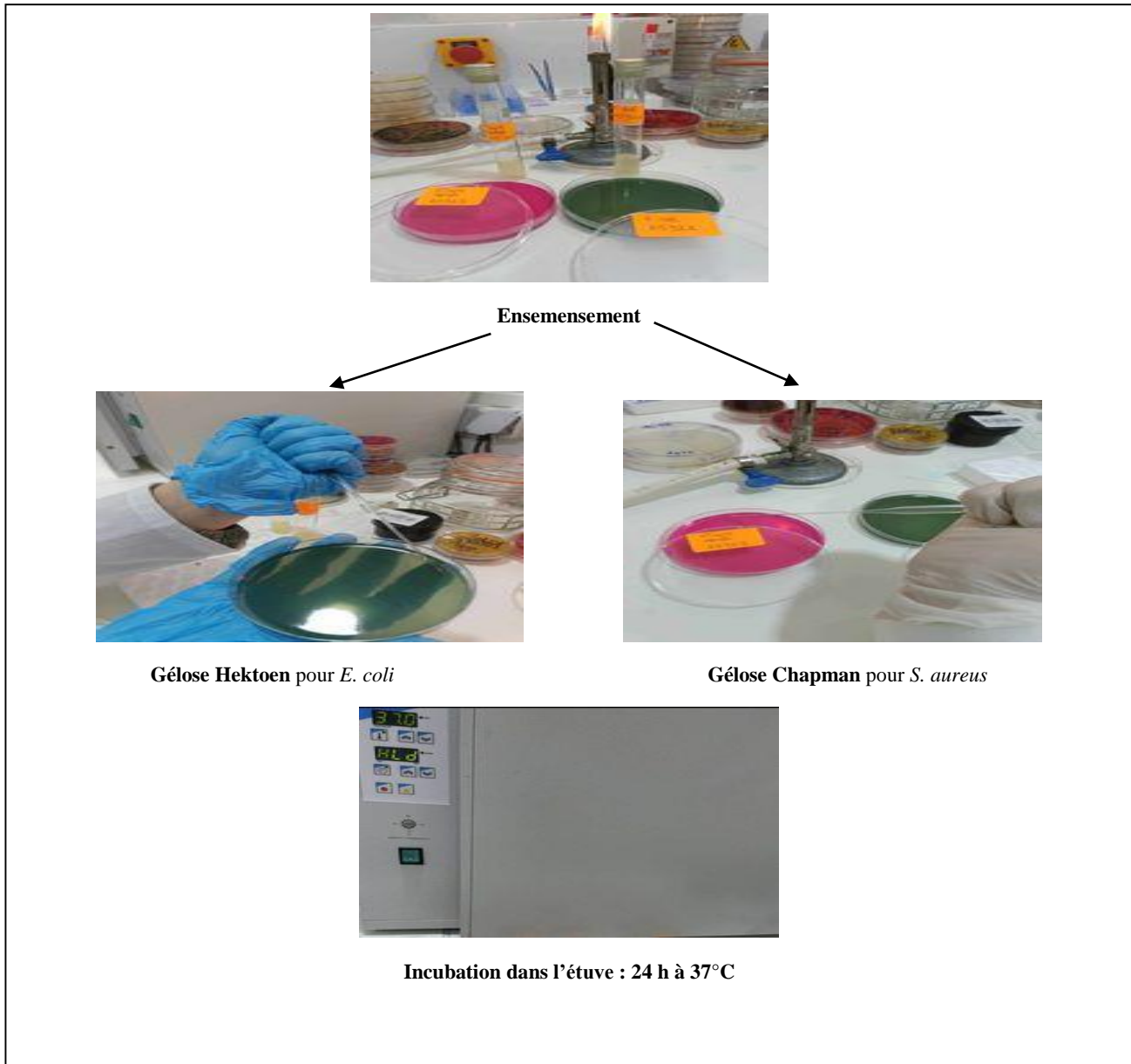


Figure 15 : Protocole de repiquage des souches bactériennes.

III-4-3- Identification des souches bactériennes

a- Observation macroscopique

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. Il s'agit d'un examen à l'œil nu et permet l'étude des caractéristiques des espèces (la taille, la forme, la couleur). L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé de la durée et de la température de l'incubation.

Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir de colonies bien isolées : les colonies sont d'autant plus petites qu'elles sont rapprochées.

b - Observation microscopique

- Etat frais

La méthode d'état frais consiste à préparer une suspension de micro-organismes vivants et à la déposer entre une lame et une lamelle pour observer : la forme des cellules, leur mode de groupement et leur mobilité sous microscope optique. Toutes ces informations définissent la morphologie bactérienne ce qui constituent les premiers critères d'identification (**Denis *et al.*, 2016**).

- Mode opératoire

La manipulation a été effectuée de manière aseptique près du bec Bunsen à partir d'une culture sur milieu solide.

- On dépose une gouttelette d'eau stérile sur une lame propre et exempte de toute contamination.
- On prélève une fraction de colonie à l'aide d'une pipette pasteur stérile et la déposé sur la lame à côté de la gouttelette d'eau.
- L'émulsion de l'échantillon dans la gouttelette d'eau a été effectuée délicatement jusqu'à l'obtention d'une suspension microbienne homogène.
- La suspension a été puis recouverte avec une lamelle en évitant la formation des bulles d'air car cela pourrait entraver l'observation au microscope.

L'observation a été effectuée à l'aide d'un microscope optique à un grossissement X40 à faible lumière.

- Coloration de Gram

La coloration de Gram est la méthode de coloration différentielle la plus utilisée en bactériologie médicale. Elle permet de différencier les bactéries selon leur affinité pour certains colorants, les classant en deux groupes : Gram-positif et Gram-négatif.

La méthode consiste :

- Appliquez le cristal violet sur la lamelle et maintenez la pendant 60 secondes. Lavez la lamelle avec l'eau
- Appliquez l'iode sur la lamelle et maintenez la pendant 60 secondes lavez lamelle avec l'eau
- Appliquer de l'alcool ethylique sur la lamelle et maintenez la pendant 30 secondes. Lavez la lamelle avec l'eau
- Enfin appliquer de la safranine sue lamelle et maintenez la pendant 60 secondes lavez lamelle avec l'eau (**figure 16**)

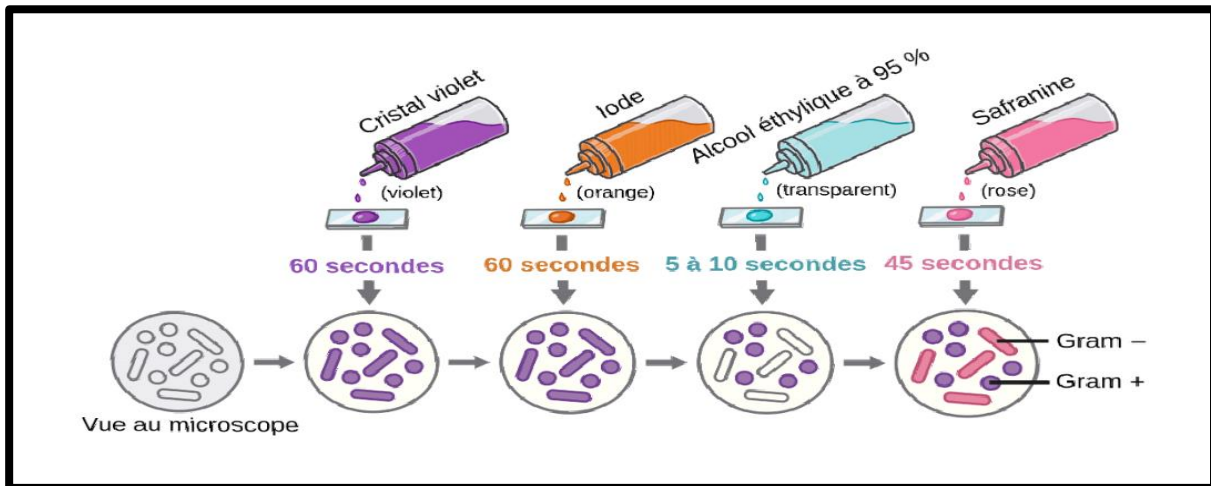


Figure 16 : Coloration de Gram

III-5-Méthode de l'aromatogramme

- Principe de la méthode

C'est une méthode de mesure *in vitro* de l'effet antimicrobien de ou des substances actives extraites (principes actifs) qui consiste à déterminer le spectre d'activité de ces composés sur des espèces microbiennes pour essayer de vérifier la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes vis-à-vis de ces principes naturels (Benkherara *et al.*, 2011).

III-5-1- Mode opératoire pour *Pistacia lentiscus*

Selon (Arabi, 2018) pour l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'He de *Pistacia lentiscus*.

-Préparation des solutions : On dissout un volume d'huile essentielle pure à une concentration de 10% (v/v) dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) pour préparer la solution mère.

Pour préparer les boîtes de Pétri, on verse 20 ml de gélose Mueller Hinton (MH) et on laisse solidifier et sécher pendant 30 minutes.

-Ensemencement : On trempe un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, on l'essor en le pressant fermement, puis on le tourne sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum. On frotte ensuite l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche, en réalisant des stries serrées de haut en bas. Cette opération est répétée deux fois en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, puis on a laissé sécher pendant 5 minutes.

-Application des disques :

- A l'aide d'une micropipette on dépose 5 µl de la solution mère sur les disques de papier filtre stériles (de 6 mm).
- A l'aide d'une pince, on dépose les disques sur les boîtes préalablement ensemencées.

Un contrôle négatif a été effectué en déposant 5 µl de DMSO sur des disques déposés dans chacune des boîtes de Pétri contenant 3 disques de la solution mère et ceci pour chaque souche bactérienne.

- **Incubation** : Les boîtes ont été laissées pendant 15 minutes à température ambiante pour permettre la diffusion de l'huile essentielle, puis elles ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures.

- **Lecture des résultats** : elle s'est faite par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition selon (**Ponce et al., 2003**).

Souche résistante ($D < 8$ mm).

Souche sensible ($9\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm}$).

Souche très sensible ($15\text{mm} \leq D \leq 19$ mm).

Souche extrêmement sensible ($D > 20$ mm).

III-5-2-Mode opératoire pour *Myrtus communis*

La même méthode pour *P. lentiscus* a été suivie avec des disques imprégnés de 20 µl d'huile essentielle de *M. communis* L. (**Djenane et al., 2011**). Le contrôle négatif est un disque imprégné de 5 µl de Tween 80 (**figure 17**).

III-5-3- Mode opératoire pour le mélange des deux huiles

On imprègne chaque disque de 50 µl en HE de *P. lentiscus* plus 50 µl en HE du myrthe.

On ajoute aussi une huile végétale qui est l'huile de sésame acheté du commerce local avec une quantité de 50 µl pour les trois He.

III-5-4- Mode opératoire pour les extraits éthanoliques

Des disques ont été imprégnés de 20 µl en extrait éthanolique des deux plantes pour tester leur activité vis-à-vis des quatre souches bactériennes

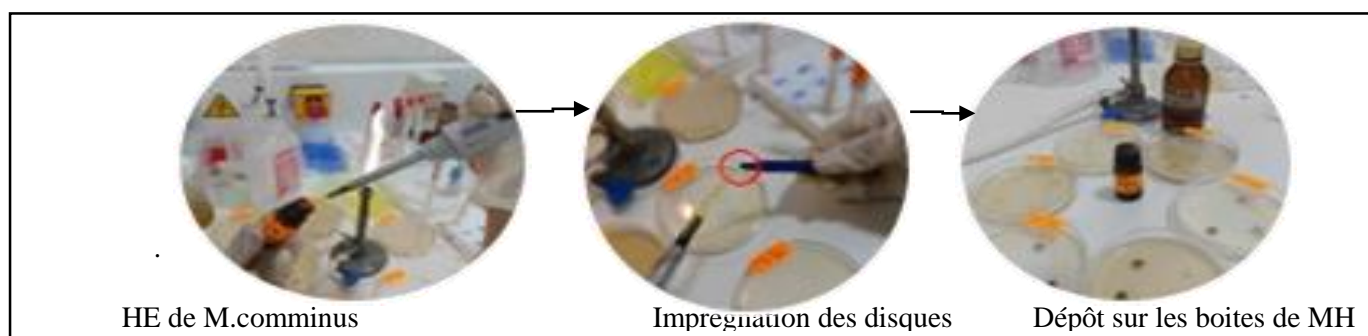


Figure 17 : L'aromatogramme de *M. communis*

III-6- Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

III-6-1- CMI de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus*

- **Préparation des dilutions de l'huile essentielle** : Pour étudier la concentration minimale inhibitrice pour chaque souche, on a commencé par la préparation des dilutions de l'HE avec le DMSO selon le protocole créé par (Abed, 2018). La concentration de chaque dilution est exprimée dans le **tableau 06**.

Tableau 06 : Volumes et concentration des différentes dilutions de l'HE

N°	Dilution 1	Dilution 2	Dilution 3
Huile essentielle (ml)	0,15	0,06	0,03
DMSO (ml)	1,35	1,44	1,47
Concentration (V/V)	0,1	0,05	0,025
MH (ml)	13,5		
Concentration Finale (V/V)	1/100	1/250	1/500

On a versé un volume de 1,5 ml de chaque dilution dans une boîte de Pétri vide, puis on a ajouté 13,5 ml du milieu MH préalablement stérilisé. On a fait ensuite tourner les boîtes avec mouvement circulaire jusqu'à ce que le milieu soit homogène.

-**Ensemencement** : Les boîtes préparées ont étéensemencées avec les bactéries testées à l'aide d'écouvillons stériles imbibés des suspensions bactériennes.

- **Incubation** : Après incubation à 37°C pendant 24-48 heures, la CMI est représentée dans les boîtes qui ne contenaient pas de culture (Alilouche *et al.*, 2021).

III-6-2- CMI de l'huile essentielle de *Myrtus communis*

La technique utilisée est celle décrite par (Guinoiseau, 2010). Elle permet la détermination de la CMI à partir d'une gamme de concentration décroissante en HE, comprise entre 80 mg/ml et 0,15 mg/ml. La gamme est obtenue par la méthode de dilution de demi en demi (1/2 - 1/4 - 1/8 - 1/16 - 1/32 - 1/64 - 1/128 - 1/156 - 1/212) à partir d'une solution mère.

- Préparation de la solution mère

Le volume final du tube de la solution mère a été de 4,6 ml. Il contient le bouillon MH supplémenté en Tween 80 (0,01% v/v), plus 400 µl d'HE.

-Préparation des dilutions

Chaque tube de la série a été préalablement numéroté et rempli avec du BMH, auquel a été ajouté du Tween 80 (0,01 % v/v). En utilisant la méthode de dilution en série, 2,5 ml du contenu de chaque tube ont été transférés au tube suivant, et ce processus a été répété de manière itérative jusqu'à atteindre la dernière dilution. À chaque transfert, il était important de bien agiter le contenu du tube.

En outre, un tube de contrôle négatif a été préparé contenant du BMH supplémenté en Tween 80 (0,01% v/v). En plus de cela, un tube de contrôle positif a été préparé en ajoutant 13 µl d'inoculum microbien à 2,5 ml de bouillon supplémenté en Tween 80 (0,01 % v/v).

L'incubation a été effectuée à 37 °C pendant 24 h. La CMI de l'HE a été déduite à partir du premier tube de la gamme dépourvu de croissance microbienne visible à l'œil nu.

Après incubation, les tubes sont centrifugés à 5000 g, pendant 5 minutes, à 20°C. Chaque expérience est répétée trois fois.

III-6-3- CMI pour le mélange des deux huiles essentielles

La méthode utilisée pour la détermination des CMI (**Bassole *et al.*, 2003**) est la suivante :

- Dissoudre les HE à tester dans des micro-tubes stériles contenant du DMSO afin d'obtenir la dilution 1/2.
- Remplir les puits des microplaques de 96 puits par 150 µl de Bouillon nutritif inoculé avec 10⁸ UFC/ml de cultures jeunes de bactéries.
- Transférer 50 µl de la dilution 1/2 dans les puits de la troisième ligne verticale de la microplaque.
- À partir de ces puits, prélever 50 µl et l'introduire dans les puits de la quatrième ligne verticale et compléter les autres puits de la même manière.
- Afin de valider ces résultats, les puits de la première ligne verticale de la microplaque sont utilisés comme témoins.
- Après 24h d'incubation à 37 °C, la CMI de chaque HE est déterminée.

III-6-4- CMI des extraits éthanoliques

La détermination de la CMI est réalisée par la technique de micro dilution en milieu liquide pour les deux extraits séparément. A l'aide d'une microplaque stérile de 96 puits (8 × 12 puits), une gamme de concentration allant de 1 mg/ml à 10⁻¹⁰ mg/ml a été préparée.

- Déposer 5 µl de l'extrait et 95 µl du BMH stérile dans le puits 1.
- Ensuite déposer 50 µl de (BMH) stérile dans les puits 2 jusqu'à 10.
- Une série de dilution au facteur 1/2a été réalisée dans le BMH à partir de la solution mère du puits1, par le transfert de 50 µl de puits en puits jusqu'au puits 10 (le 50 µl du dernier puits à jeter). Il faut bien mélanger le contenu du puits.
- Enfin, déposer 50 µl de l'inoculum préalablement dilué au 1/100 dans chaque puits.
- La 11^{ème} colonne qui contient 92 µl de l'inoculum et 8 µl DMSO sert de témoin positif.
- La 12^{ème} colonne de la plaque qui contient uniquement le milieu BMH (100 µl) sert de témoin négatif.
- La micro plaque est incubée à 37 °C pendant 24 h. La lecture est effectuée à l'œil nu et la CMI est la plus faible concentration de l'extrait à laquelle aucune trouble n'est observé (Eloff, 1998).

Chaque deux souches bactériennes ont été espacés par deux lignes de puits vides (figure 18)

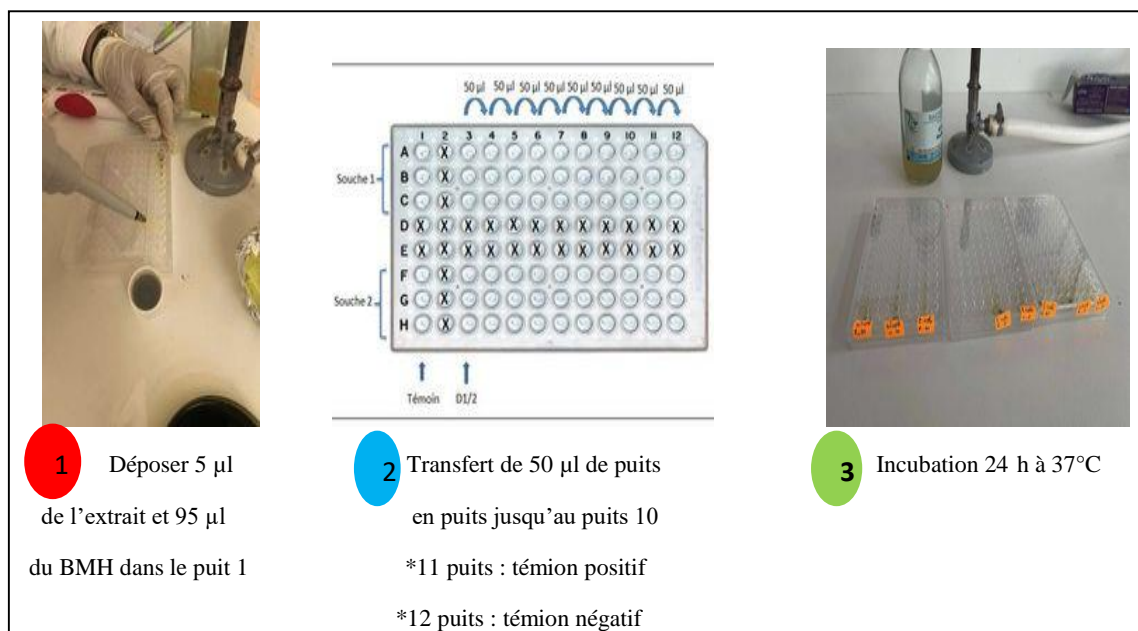


Figure18 : Protocole de concentration minimale inhibitrice des extraits éthanoliques

III-7- Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable de tuer plus de 99,9 % de l'inoculum bactérien initial (soit moins de 0,01 % de survivants). Elle définit l'effet bactéricide d'une huile essentielle.

La même gamme de concentration, réalisée par la technique de macro dilution en milieu liquide, est utilisée pour déterminer la CMB de l'HE à tester.

Des prélèvements sont effectués dans le tube témoin et dans chacun des tubes dépourvus de culot bactérien puis déposés « en strie » sur gélose MH. Les boîtes ensemencées sont incubées 24 heures à 37°C. (Eloff, 1998) (figure 19).





Figure 19 : Protocole de la concentration minimale bactéricide

IV-1- Caractéristiques organoleptiques

IV-2- Extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis*

L'aspect, l'odeur et la couleur des extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis* sont présentés dans le **tableau 07**.

Tableau 07 : Les caractéristiques des extraits éthanoliques *P. lentiscus* et *M. communis*

Les plantes	Les extraits éthanoliques	Caractéristique	Figure
<i>Pistacia lentiscus</i>	Aspect	Liquide	
	Couleur	Vert	
	Odeur	Caractéristique de la plante	
<i>Myrtus communis</i>	Aspect	Liquide	
	Couleur	Vert	
	Odeur	Caractéristique de la plante	

- Rendement

✚ Le tableau ci-dessous **tableau 8** représente le calcul du rendement des extraits éthanoliques.

Tableau 08 : Rendement des extraits éthanoliques de *P. lentiscus* et *M communis*

Plante	La masse de l'extrait (g)	Poudre végétale (g)	Le rendement de l'extrait %
<i>Pistacia lentiscus</i>	8 ,24	5	16.48
<i>Myrtus communis</i>	11 ,51	10	11.51

Le rendement de la matière végétale dépend également de sa structure chimique, de la taille des particules constituant l'échantillon, du temps, des conditions de stockage ainsi que de la présence d'interférences (Nacz et Shahidi, 2004).

✚ Le rendement d'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus* de cette étude est 16.48 % .

✚ Le rendement d'extrait éthanolique de *Myrtus communis L* de notre étude est 11.51%.

La différence entre ces résultats du rendement en HE de la même espèce, peut s'expliquer par :

- l'origine et les variations génétiques de la plante.
- La saison de la récolte.
- Le climat et les changements environnementaux, le type du sol.
- De plus, la méthode de séchage, de conservation et d'extraction, jouent également un rôle



important dans la détermination de la quantité d'huile (**Saied *et al.*, 2022 ; Rahimi *et al.*, 2015 ;**

Giuliani *et al.*, 2022).

IV-3- Huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis*

L'aspect, la couleur et l'odeur des HE de *Pistacia lentiscus* et *Myrtus Communis* sont présentés dans le **tableau 09**.

Tableau 09 : Les caractéristiques des huiles essentielles *P. lentiscus* et *M. communis*.

	Huile essentielle	Caractéristique	Figure
<i>Pistacia lentiscus</i>	Aspect	Visqueux	
	Couleur	Jaunâtre	
	Odeur	Caractéristique de la plante	
<i>Myrtus communis</i>	Aspect	Liquide	
	Couleur	Jaunâtre clair	
	Odeur	Caractéristique de la plante	

- Rendement des huiles essentielles

Le tableau ci-dessous représente le calcul du rendement de nos HEs.

Tableau 10 : Rendement des huiles essentielles de *Myrtus communis* et *Pistacia lentiscus*

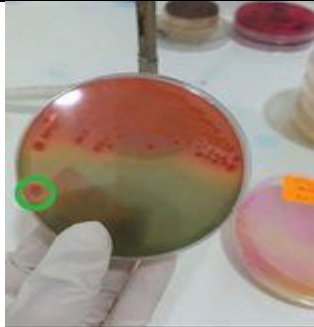




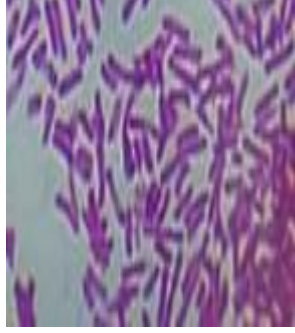
Plante	La masse d'huile essentielle (g)	Matière végétale (g)	Le rendement d'huile essentielle %
<i>Pistacia lentiscus</i>	5.1	20000	0.25%
<i>Myrtus communis</i>	3.4	15000	0.22%

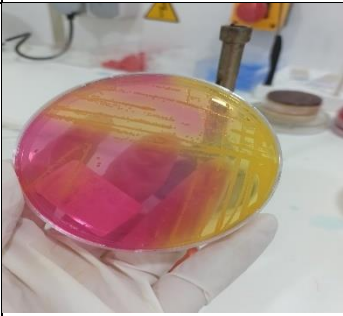
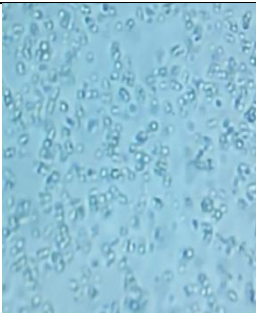
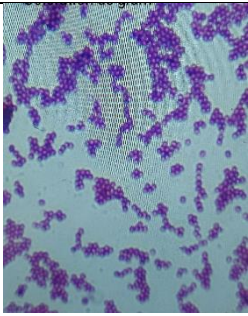

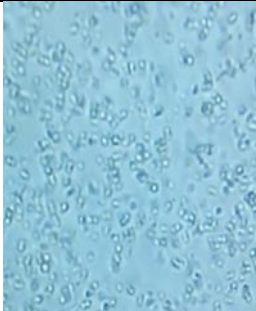
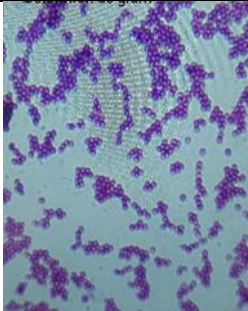
Le rendement d'HE de *Pistacia lentiscus* est de 0.25%, légèrement supérieur à celui de *M. communis* qui est de 0.22%. Nos résultats de *P.lentiscus* concordent avec les résultats obtenus par (**Benhamou et al., 2006**) et (**Halou et al., 2005**) : 0.16 % et 0.5%. (**Bouzabata et al., 2010**) de la région Seraïdi à Annaba ont obtenu un rendement de 0.2% à 0.7% pour *M. communis*, ce qui est similaire à nos résultats.

IV-4 - Identifications des souches bactériennes

Le **tableau 11** représente les résultats des repiquages sur leurs milieux spécifiques, l'observation macroscopique et l'observation microscopique des souches bactériennes (l'état frais des souches, la coloration de Gram)

Tableau 11 : Résultats des observations macroscopique et microscopique des souches bactériennes

Les bactéries	Observation macroscopique	Observation microscopique	
		Etat frais X 40	Coloration de Gram X 100
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922			
Description	Rouge aspect visqueux Contour régulier Surface lisse	Des bacilles mobiles.	Bacilles Gram négatif.
<i>Escherichia coli</i> <i>clinique</i>			

Description	Jaune forme circulaire Relief semi-bombe Contour régulier Surface lisse.	Coccobacilles immobiles.	Bacilles Gram négatif
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923			
Description	Jaune aspect visqueux Contour régulier Surface lisse.	Des cocci immobiles.	Cocci Gram positif.
<i>Staphylococcus aureus</i> clinique			
Description	Jaune doré Relief semi-bombe Contour régulier bien arrondie Surface lisse.	Des cocci immobiles.	Cocci Gram positif.

IV-5- L'activité antibactérienne

IV-5-1- L'huile essentielle de *Pistacia lentiscus*

Les résultats de l'aromatogramme *in vitro* de l'HE des feuilles séchées de *Pistacia lentiscus* sont représentés dans le **tableau 12**.

Tableau 12 : Les diamètres des zones d'inhibitions de HE de *Pistacia lentiscus*

Les souches bacterienne	Moyenne \pm écart type	Le contrôle négatif (DMSO)	Sensibilité
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	11 \pm 1	00 (-)	S
<i>Escherichia coli</i> clinique	15 \pm 1	00 (-)	TS
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10 \pm 1	00 (-)	S
<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	08 \pm 3	00 (-)	R

Non sensible ou résistante (-) : le diamètre < 8 mm, **Sensible (+) :** 9 mm < diamètre < 14 mm, **Très sensible (++) :** 14 mm < diamètre < 19 mm, **Extrêmement sensible (+++) :** 20 mm < diamètre

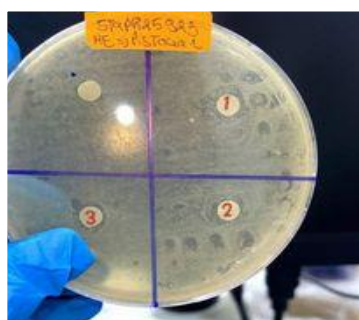
Le diamètre des zones d'inhibition varie entre 08 et 15 mm. Les diamètres des zones d'inhibition nous ont permis de classer les espèces bactériennes en fonction de leur sensibilité à l'huile essentielle testée selon le spectre indiqué dans les travaux de **(Ponce et al., 2003)**.

Pour les bactéries à coloration de Gram-négative, les zones d'inhibition moyennes ont été obtenues chez *Escherichia coli* ATCC 25922 (11 mm) et *Escherichia coli* (15 mm). On a donc considéré que ces bactéries étaient très sensibles **(figure 22)**.

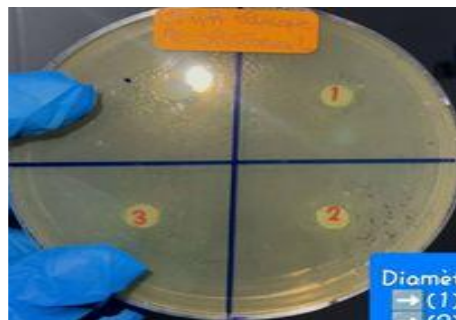
Dans le cas des bactéries à coloration de Gram positif, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 elles ont présenté une sensibilité vis-à-vis de HE *P. lentiscus*

Ces résultats concordent avec ceux de **(Boumaiza et al., 2023)** qui ont trouvé une résistance à cette huile essentielle. Concernant *S aureus*, il a présenté une sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus*, avec un diamètre d'inhibition de 11mm, tandis que *E. coli a* un diamètre d'inhibition 08 mm **(figure 20)**.

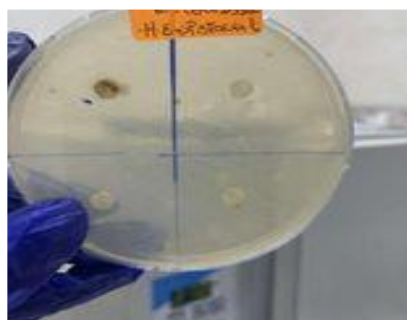
Les résultats de l'aromatogramme de l'huile essentielle des feuilles de *Pistacia lentiscus*, montrent que les HE sont légèrement plus actifs contre les bactéries Gram négatif que celles à Gram positif.



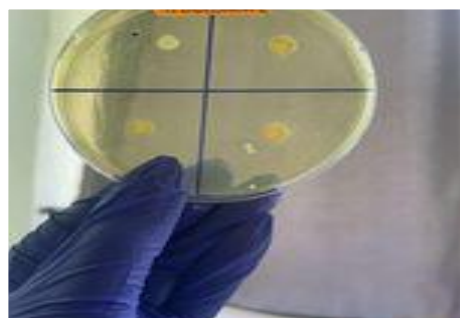
Staphylococcus aureus ATCC 25923



Staphylococcus aureus



E.coli ATCC 25922



E.coli

Figure 20 : Aromatogramme de l'HE de *Pistacia lentiscus*

IV-5-2- L'huile essentielle de *M. communis*

Les résultats de l'aromatogramme de HE des feuilles séchées de *Myrtus communis* sont représentées dans le **tableau 13**.

Tableau 13 : Les diamètres des zones d'inhibitions de l'HE de *Myrtus communis*

Les souches bactériennes	Moyenne \pm écart type	Le contrôle négatif (Tween80)	Sensibilité
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	7 \pm 1	00 (-)	R
<i>Escherichia coli</i> clinique	7 \pm 1	00 (-)	R
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	15 \pm 1	00 (-)	TS
<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	11 \pm 3	00 (-)	S

Non sensible ou résistante (-) : le diamètre < 8 mm, **Sensible (+)** : 9 mm < diamètre < 14 mm, **Très sensible (++)** : 14 mm < diamètre < 19 mm, **Extrêmement sensible (+++)** : 20 mm < diamètre

Les diamètres des zones d'inhibition varient entre 07 et 15 mm. Les deux souches de *E.coli* clinique et de référence ont présenté une résistance à l'huile essentielle de *Myrtus communis*. Ces résultats sont différents de ceux de (Kerbouaa *et al.*, 2023) qui ont trouvé une résistance à cette huile

Résultats et discussion

essentielle. En effet, *S. aureus* et *S. aureus* ATCC ont présenté une sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle de *Myrtus communis*, avec un diamètre d'inhibition de 17 mm et 22 mm respectivement. Par contre *E. coli* ATCC a présenté une résistance avec un diamètre d'inhibition de 6 mm. (Figure 21).

Les résultats de cette étude et d'autres précédentes, montrent que les huiles essentielles sont légèrement plus actives contre les bactéries Gram Positif que celles à Gram négatif. (Zaika, 1988)

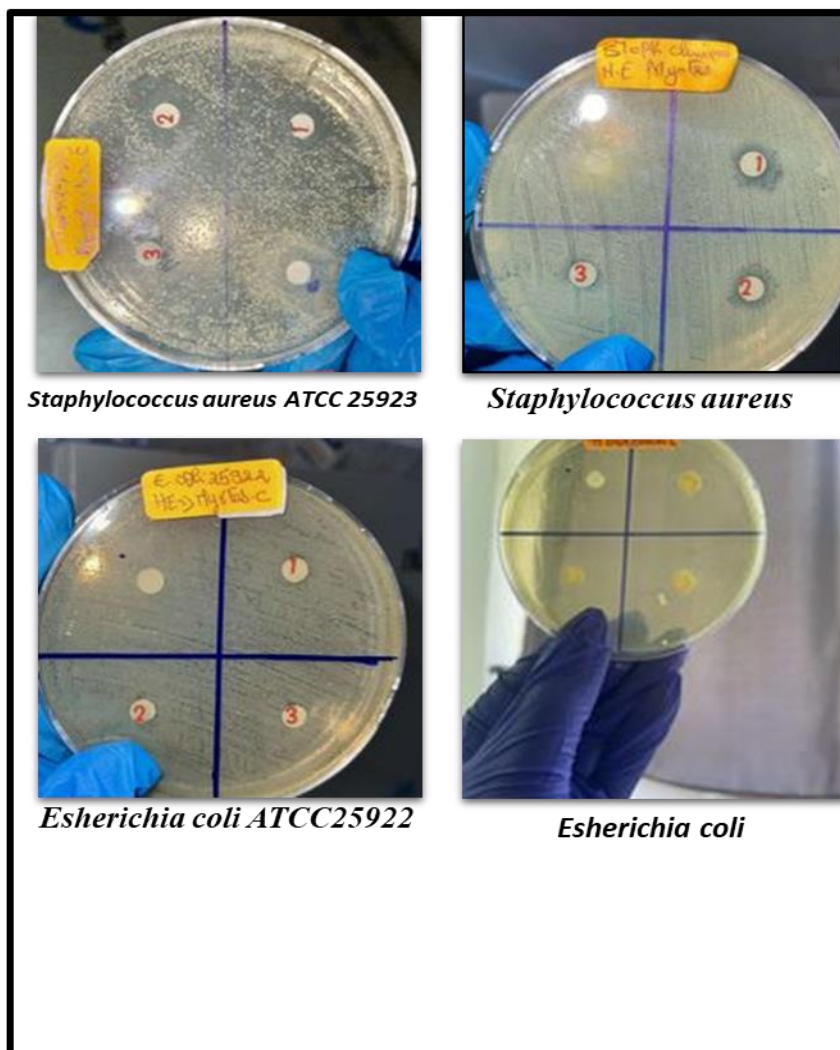


Figure 21 : Aromatogramme de HE de *Myrtus communis*

IV-5-3- Le mélange des huiles essentielles pures de *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis*

Les résultats de l'activité antibactérienne des mélanges d'huiles sont présentés dans le **tableau 14**

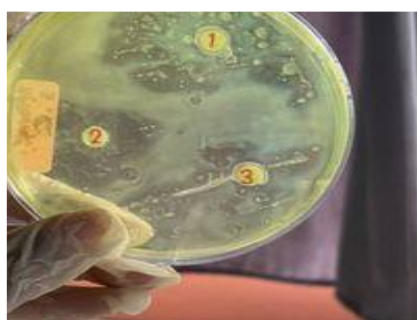
Tableau 14 : Les diamètres des zones d'inhibitions du mélange des huiles essentielles pures de *P. lentiscus* et *M communis*

Les souches microbiennes	Moyenne ± écart type	Le contrôle négatif (Tween80)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	36 ± 1	00 (-)
<i>Escherichia coli</i> clinique	08 ± 1	00 (-)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	47 ± 1	00 (-)
<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	43 ± 3	00 (-)

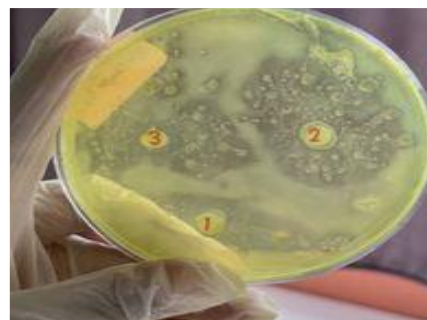
Non sensible ou résistante (-) : le diamètre < 8 mm, **Sensible (+)** : 9 mm < diamètre < 14 mm, **Très sensible (++)** : 14 mm < diamètre < 19 mm, **Extrêmement sensible (+++)** : 20 mm < diamètre

Le diamètre des zones d'inhibition varie entre 08 et 47 mm.

La souche de *E. coli* présente une résistance à l'huile essentielle de *M. communis* (08 mm) tandis que les souches : *S. aureus* clinique 43 mm et *S. aureus* ATCC 25923 47mm, *E. coli* ATCC 25922 36 mm ont présenté une grande sensibilité (**figure 22**).



Staphylococcus aureus ATCC



Staphylococcus aureus



E. coli ATCC



E. coli

Figure 22 : Aromatogramme des mélanges des HE de *P. lentiscus* et *M. communis*

IV-5-4- Le mélange d'HE dilué par l'huile végétale (huile de sésame)

Les résultats de l'activité antibactérienne du mélange d'HE dilué par l'huile végétale de sésame sont présentés dans le **tableau15**.

Tableau 15 : Les diamètres des zones d'inhibitions du mélange des huiles essentielles de *P. lentiscus* et *M. communis* dilué par huile végétale (huile de sésame)

Les souches bactériennes	Moyenne \pm écart type	Le contrôle négatif (DMSO)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10 \pm 1	00 (-)
<i>Escherichia coli</i> clinique	09 \pm 1	00 (-)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	11 \pm 1	00 (-)
<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	36 \pm 3	00 (-)

Non sensible ou résistante (-) : le diamètre < 8 mm, **Sensible (+)** : 9 mm < diamètre < 14 mm, **Très sensible (++)** : 14 mm < diamètre < 19 mm, **Extrêmement sensible (+++)** : 20 mm < diamètre

D'après les résultats précédents, le diamètre des zones d'inhibition varie entre 09 et 36 mm.

Les souches de référence et *E. coli* clinique présentent une sensibilité vis-à-vis du mélange dilué tandis que *S. aureus* clinique présente une sensibilité extrême (36 mm). (**Figure 23**).

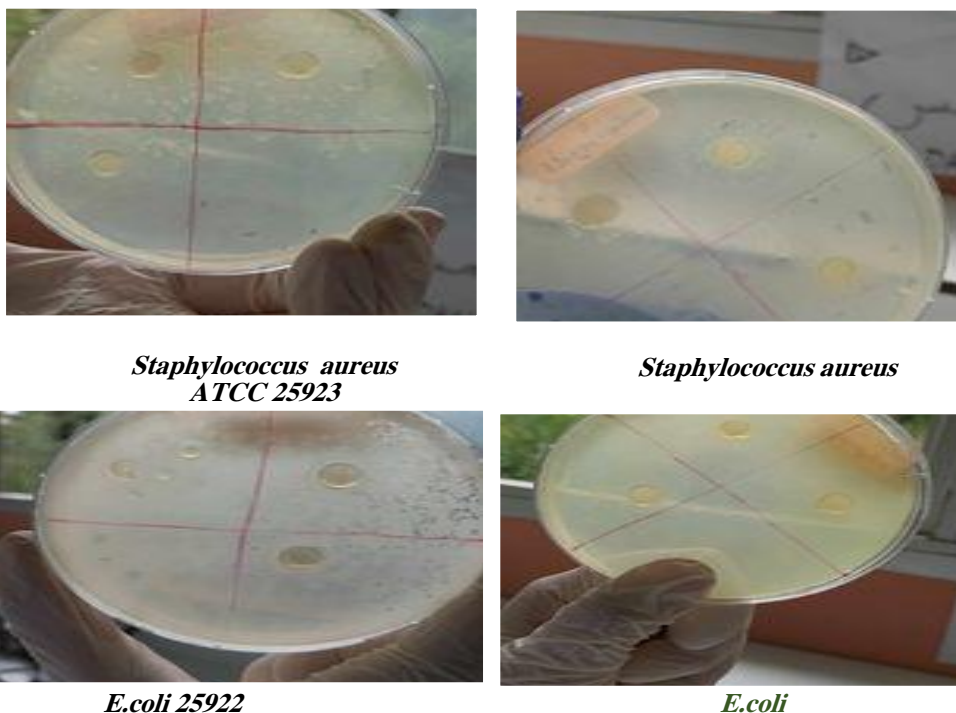


Figure 23 : Aromatogramme du mélange des HE dilués par l’huile de sésame

IV-5-5- L’extrait éthanolique de *Myrtus communis*

Les résultats de l’aromatogramme de l’extrait éthanolique des feuilles séchées de *Myrtus communis* sont présentés dans le tableau

Tableau 16 : Les diamètres des zones d’inhibitions de l’extrait éthanolique de *M. communis*

Les souches bactériennes	Moyenne ± écart type	Le contrôle négatif (Tween 80)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	09 ± 1	00 (-)
<i>Escherichia coli</i> clinique	10± 1	00 (-)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	24± 1	00 (-)
<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	18 ± 3	00 (-)

Non sensible ou résistante (-) : le diamètre < 8 mm, Sensible (+) :9 mm < diamètre < 14 mm, Très sensible (++) :14 mm < diamètre < 19 mm, Extrêmement sensible (+++) :20 mm < diamètre

On observe que les diamètres des zones d’inhibition varient entre (9 et 24 mm).

Les deux souches de bactéries Gram-négative ont présenté une sensibilité vis-à-vis de l’extrait éthanolique de *Myrtus communis*. Par contre il y a un fort effet inhibiteur contre les bactéries Gram-positives (figure 24)

Ces résultats concordent avec ceux de (Mir *et al.*, 2020) qui ont étudié l'effet de l'extrait éthanolique des feuilles de *Myrtus communis* obtenu par la méthode de Soxhlet qui a montré un fort effet inhibiteur contre les bactéries Gram-positives avec une taille de zone d'inhibition significative (9-25 mm), mais aucun effet n'a été observé sur la croissance des bactéries Gram-négatif.

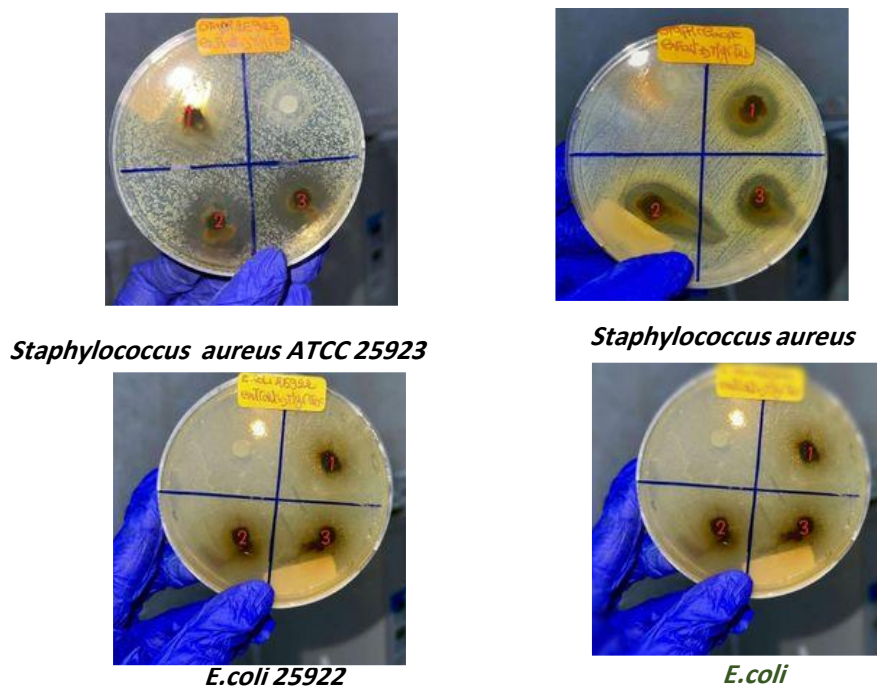


Figure 24 : Aromatogramme de l'extrait éthanolique de *M. communis*

IV-5- 6- L'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus*

Les résultats de l'aromatogramme de l'extrait éthanolique des feuilles séchées de *P. lentiscus* sont présentées dans le tableau

Tableau 17 : Les diamètres des zones d'inhibitions de l'extrait éthanolique de *P. lentiscus*

Les souches bactériennes	Moyenne ± écart type	Le contrôle négatif (DMSO)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	09 ± 1	00 (-)
<i>Escherichia coli</i> clinique	10 ± 1	00 (-)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	24 ± 1	00 (-)
<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	18 ± 3	00 (-)

Non sensible ou résistante (-) : le diamètre < 8 mm, Sensible (+) : 9 mm < diamètre < 14 mm, Très sensible (++) : 14 mm < diamètre < 19 mm, Extrêmement sensible (+++) : 20 mm < diamètre

Le diamètre des zones d'inhibition varie entre 09 et 24. On observe un fort effet inhibiteur de l'extrait éthanolique de *P. lentiscus* vis-à-vis des bactéries Gram-positives *S. aureus* ATCC 25923 (24 mm), *S. aureus* (18 mm). Par contre, il y a un faible effet inhibiteur vis-à-vis des bactéries Gram négatives : *E. coli* ATCC 25922 (09 mm) et *E.coli* (10 mm)

Les résultats des tableaux sont dessinés dans la **figure 25**.

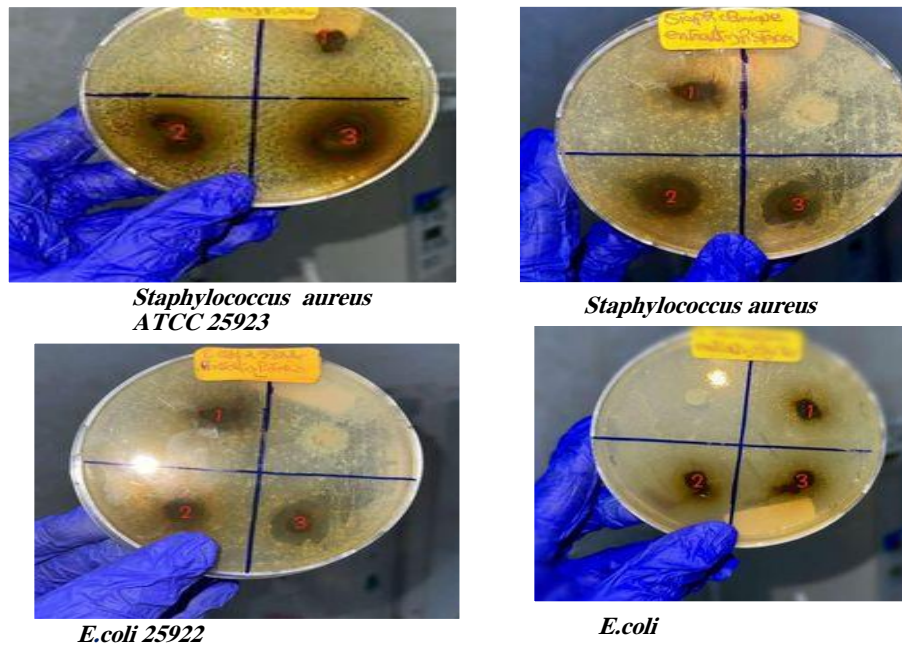


Figure 25 : Aromatogramme de l'extrait éthanolique de *P. lentiscus*

IV-6- Résultats de la CMI

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été définie comme la plus faible concentration des échantillons testés où l'absence de croissance a été enregistrée (**Ponce *et al.*, 2003**).

IV-6-1-Huile essentielle de *Myrtus communis*

La CMI de l'huile essentielle de *Myrtus communis* a été testé à des concentrations allant de 40 à 0.15 (mg /ml).

Tableau 18 : Les résultats des CMI de l'HE de *Myrtus communis*

Les souches bactériennes	Les concentrations (mg /ml)								
	40	20	10	5	2.5	1.25	0.6	0.3	0.15
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	- CMI	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> clinique	-	CMI -	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	CMI	-		+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	-	-	CMI -	+	+	+	+	+	+

(-) : absence de croissance.

(+) : présence de croissance.

Les valeurs de CMI indiquées dans le **tableau 18**, montrent qu'elle a révélé une forte activité inhibitrice contre tous les germes testés. Bien que les microorganismes étudiés n'expriment pas la même sensibilité. Les données indiquent que *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* sont inhibés à une même concentration de 10 mg/ml, tandis que *Escherichia coli* ATCC 25922 est inhibé à une concentration de 20 mg/ml.

En règle générale, plus la zone d'inhibition est large, plus la concentration d'antimicrobien requise pour inhiber la croissance des microorganismes est faible.

Les valeurs de CMI obtenues dans ce travail pour *E. coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 par rapportées (**Kerboua et al., 2023**), et supérieure pour *Escherichia coli* ATCC 25922, inférieure pour *Staphylococcus aureus* clinique

IV-6-2- Huile essentielle de *Pistacia lentiscus*

La CMI de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* a été testée à trois concentrations : 1/100, 1/250 et 1/500 (v/v).

Les valeurs de CMI indiquées dans le **tableau 19**, montrent que l'HE de *P. lentiscus* a révélé une forte activité inhibitrice contre les bactéries Gram positive et acceptable contre les Gram négatives.

Bien que les microorganismes étudiés n'expriment pas la même sensibilité. Les données indiquent que *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* sont inhibés à une

concentration de 1/500 (v/v) tandis que *Escherichia coli* a été inhibé à une concentration de 1/250. Cependant, une plus grande valeur de CMI de *Escherichia coli* ATCC 25922 : 1/100 (v/v) (**figure26**).

Tableau 19 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l’huile essentielle de *Pistacia lentiscus*

Les souches bactériennes	Concentrations de l’huile essentielle		
	1/100	1/250	1/500
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	(-)	(+)	(+)
<i>Escherichia coli</i> clinique	(-)	(-)	(+)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	(-)	(-)	(-)
<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	(-)	(-)	(-)

(-) : absence de croissance.

(+) : présence de croissance.

Les valeurs de CMI obtenues dans ce travail du (**Arabi, 2017**), la concentration minimale inhibitrice pour *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* était de 1/500 (v/v).

L'efficacité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* est due à un certain nombre de ses composants fonctionnant : myrcène, limonène, terpinen-4-ol, α -pinène, β -pinène, α -phellandrène, sabinène, p-cymène et γ -terpinène de manière synergique (**Castola et al., 2000**)



Figure 26 : CMI de l’huile essentielle de *Pistacia lentiscus*

IV-6-3- Mélange des HE pures

Les résultats de la CMI des mélanges d’HE sont présentés dans le **tableau 20**.

Tableau 20 : Les résultats des CMI du mélange des huiles essentielles pures de *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis*

Mélange pure	Les souches bactériennes	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.19	0.09	Témoin (-)	Témoin (+)
Souches bactériennes	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	<i>Escherichia coli</i> Clinique	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+

(-) : absence de croissance, (+) : présence de croissance.

La CMI de mélange des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis* a été testé à des concentrations allant de 50 à 0.09 mg/ml

Les valeurs de CMI indiquées dans le **tableau 20**, montrent qu'elle a révélé une faible activité inhibitrice contre tous les germes testés. Les souches bactériennes qu'elles soient Gram-négatives ou Gram-positives expriment la même sensibilité. Les données indiquent que *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Escherichia coli* ATCC 25922 sont inhibés à une concentration constante de 20 (mg/ml).

IV-6-4- Mélange dilué avec l'huile de sésame

La CMI du mélange dilué avec l'huile de sésame a été testé à des concentrations allant de 40 à 0.15 mg/ml.

Tableau 21 : Les résultats des CMI du mélange dilué des HE de *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis*

Les souches bactériennes	Les concentrations (mg /ml)										
	40	20	10	5	2.5	1.25	0.6	0.3	0.15	T(-)	T(+)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	-	- CMI	+	+	+	+	+	-	+
<i>Escherichia coli</i> Clinique	-	-	- CMI	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	- CMI	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	+	+	+	+	- CMI	-	-	-	-	-	+

(-) : absence de croissance, (+) : présence de croissance.

Les valeurs de CMI indiquées dans le **tableau 21**, montrent qu'elle a révélé une forte activité inhibitrice contre tous les germes testés. Bien que les microorganismes étudiés n'expriment pas la même sensibilité. Les données indiquent que *E. coli* et *S.aureus* ATCC 25923 sont inhibés à une concentration de 10 mg/ml alors que *E.coli* ATCC25922 est inhibée à une valeur de 5 mg/ml. Nos résultats enregistrent une CMI de 2.5 mg/ml contre la souche de *S.aureus*.

- Résultats de la CMI des extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis*

La CMI des extraits éthanoliques de *Pistacia Lentiscus* et *Myrtus communis* a été testé à des concentrations allant de 100 à 0.39 (v/v).

Tableau 22 : Les résultats des CMI des extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis*

Les extraits éthanoliques	Les souches bactériennes	100	50	25	12.5	6.5	3.12	1.5	0.70	0.39	Témoin (-)	Témoin (+)
Extrait de <i>Myrtus communis</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	-	CMI -	+	+	+	+	+	-	+
	<i>Escherichia coli</i> Clinique	-	-	CMI -	+	+	+	+	+	+	-	+
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	CMI -	+	+	+	+	+	+	-	+
	<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	-	-	- CMI	+	+	+	+	+	+	-	+
Extrait de <i>Pistacia lentiscus</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	CMI -	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	<i>Escherichia coli</i> Clinique	-	-	-	- CMI	+	+	+	+	+	-	+
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	- CMI	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	-	-	CMI	+	+	+	+	+	+	-	+

(-) : absence de croissance.

(+) : présence de croissance.

IV-6-5- Extrait éthanolique de *Myrtus communis*

On constate que l'extrait éthanolique a démontré une CMI pareille (25 mg/ml) contre les souches *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Staphylococcus aureus* et différente contre *Escherichia coli* ATCC 25922 avec une CMI de 12.5 mg/ml.

IV-6-6-Extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus*.

L'extrait éthanolique de *P.lentiscus* a la même CMI contre les deux souches de référence (50 mg/ml) et la moitié de cette valeur a été enregistré contre *S.aureus* (25 mg/ml) et une valeur inférieur contre *Escherichia coli* (12.5 mg/ml).

Récemment, (Mir et al., 2020) ont étudié l'effet de l'extrait éthanolique des feuilles de *Myrtus communis* obtenu par la méthode de Soxhlet, sur des souches Gram positives et Gram négatives. Cet extrait a montré que les bactéries Gram positives tel que *S. aureus* a une CMI de 4.87 à 78 µg/ml.

Résultats et discussion

Cependant aucun effet n'a été observé sur les Gram négatives, contrairement aux résultats de notre étude.

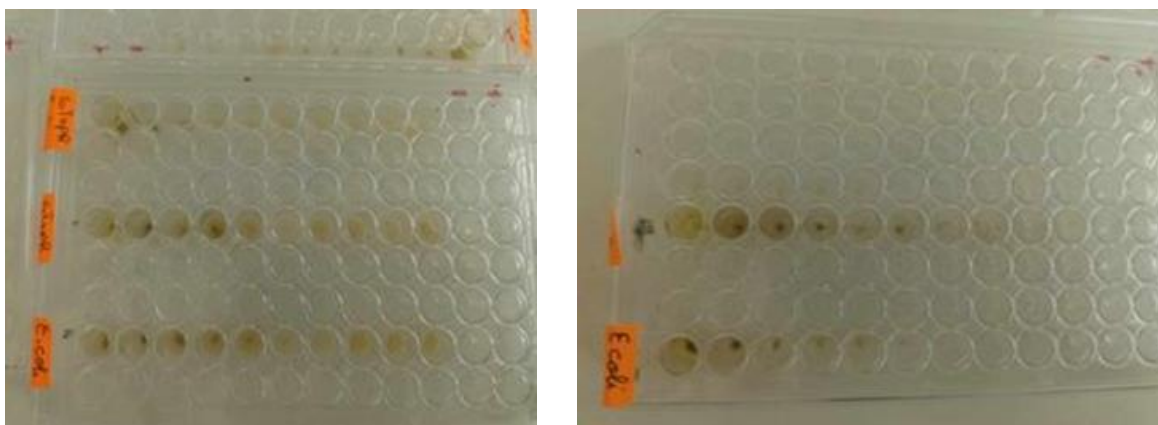


Figure 27 : CMI des extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis*

IV-7-Resultats de la CMB

IV-7-1-Huile essentielle de *Myrtus communis*

Le tableau 23 représente les résultats de la CMB de HE de *M. communis*.

Tableau 23 : Les résultats de CMB de l'huile essentielle de *Myrtus communis*

Les souches bactériennes	Les concentrations (mg /ml)								
	40	20	10	5	2.5	1.25	0.6	0.3	0.15
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	+							
<i>Escherichia coli</i> Clinique	-								
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-					
<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	-	-							

(-) : aucune croissance : absence de colonies dans les boites de Pétri

(+) : une croissance : présence de colonies dans les boites de Pétri

D'après le tableau 23 la concentration minimale bactéricide la plus petite est observée chez *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (5 mg/ml) suivis par *S.aureus* (20 mg/ml) et enfin les deux souches de *E.coli* qui enregistrent une même valeur (40 mg/ml).

Dans une étude récente, (Kerboua *et al.*, 2023) signalent des valeurs de CMB pour *S. aureus* et *S. aureus* sont identiques, alors que *E. coli* est supérieure (20 mg/ml ; respectivement). Ces résultats ont une tendance similaire aux notres, l'activité bactéricide de l'HE de *M. communis* est exercée contre toutes les souches testées.

IV-7-2- Mélange des HE pures

Les résultats de la CMB du mélange des HE pure de *Myrtus communis* et *Pistacia lentiscus* sont représentés dans le **tableau 24**.

Tableau 24 : Les résultats de CMB du mélange des HE pures de *Myrtus communis* et *Pistacia lentiscus*

Mélange pure	Les souches bactériennes	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.19	0.09
Mélange pure	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	+								
	<i>Escherichia coli</i> Clinique	+	+								
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-								
	<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	+	+								

(-) : aucune croissance : absence de colonies dans les boites de Pétri

(+) : une croissance : présence de colonies dans les boites de Pétri

D'après le **tableau 24**, le mélange des HE pures de *M. communis* et de *P. lentiscus* exercent une activité bactéricide contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 seulement.

On note que le mélange n'a pas inhibé la croissance des souches bactériennes *S. aureus*, *E. coli*, *Escherichia coli* ATCC 25922.

IV-7-3- Mélange dilué avec l'huile de sésame

Les résultats de la CMB du mélange d'HE de *Myrtus communis* et *Pistacia lentiscus* dilué dans l'huile de sésame sont représentés dans le **tableau 25**

Tableau 25 : Les résultats de CMB du mélange des HE dilué dans l'huile de sésame

Les souches bactériennes	Les concentrations (mg /ml)								
	40	20	10	5	2.5	1.25	0.6	0.3	0.15
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	+	+	+					
<i>Escherichia coli</i> clinique	+	+	+						
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	+	+	+						
<i>Staphylococcus aureus</i> clinique						-	-	-	-

(-) : aucune croissance : absence de colonies dans les boites de Pétri

(+) : une croissance : présence de colonies dans les boites de Pétri

On note que le mélange des HE dilué n'a pas inhibé la croissance des souches bactériennes *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* ATCC 25922.

Par contre les valeurs de la CMB de *S.aureus* varient de 0.15 mg/ml à 1.25 mg/ml.

IV-7-4- Extraits éthanoliques de *P. lentiscus* et *M. communis*

Les résultats de la CMB des extraits éthanoliques de *P. lentiscus* et *M. communis* sont représentés dans le **tableau 26**.

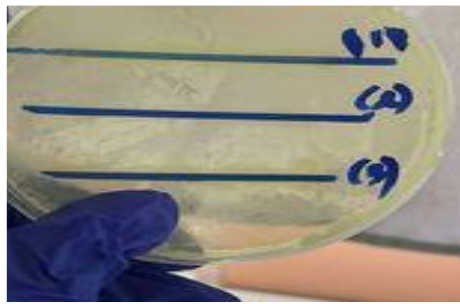
Tableau 26 : Les résultats de la CMB des extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis*

Les extraits éthanoliques	Les souches bactériennes	100	50	25	12.5	6.5	3.12	1.5	0.70	0.39
Extrait <i>Pistacia lentiscus</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	+	+	+					
	<i>Escherichia coli</i> Clinique	+	+	+	+					
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	+	+	+	+					
	<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	+	+	+						
Extrait <i>Myrtus Comminus</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	+							
	<i>Escherichia coli</i> Clinique	+	+	+	+					
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	+	+							
	<i>Staphylococcus aureus</i> clinique	+	+	+						

(-) : aucune croissance absence de colonies dans les boîtes pitres.

(+) : une croissance présence de colonies dans les boites pitres.

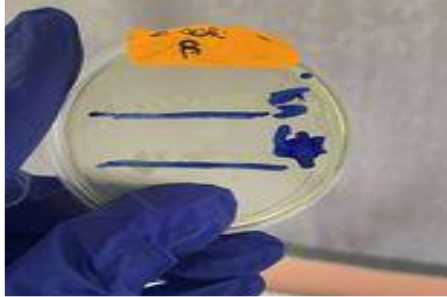
Il n ya pas de CMB des extraits éthanoliques contre toutes les souches testées.



Staphylococcus aureus 25923



Staphylococcus aureus



E.coli 25922



E.coli

Figure 28 : Les résultats de la CMB des extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis*

Les huiles essentielles et les extraits éthanoliques des plantes sont des sources riches en manières pour éliminer les bactéries, notamment :

1. Destruction de la paroi cellulaire bactérienne
2. Perturbation des fonctions enzymatiques
3. Perturbation de la membrane cellulaire bactérienne
4. Inhibition de la synthèse des protéines bactériennes
5. Perturbation du métabolisme bactérien (Helander *et al.*, 1998 ; Ultee *et al.*, 1999; Lambert *et al.*, 2001 ;Rhayour *et al.*, 2003 ; Souza *et al.*, 2010,2013 ; Szabó *et al.*, 2010 ; Hyldgaard *et al.*, 2012)

Ce travail avait pour objectif d'évaluer l'activité antibactérienne de certains composés de *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis*. Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation des feuilles de ces deux plantes. L'activité antibactérienne des huiles essentielles, extraits éthanoliques, mélanges d'huiles essentielles pures et diluées dans l'huile de sésame a été évaluée par des tests de diffusion sur disque, macrodilution en tubes et microdilution en microplaques.

Les résultats montrent que l'huile essentielle et l'extrait éthanolique de *Myrtus communis* ont une forte activité contre les bactéries Gram positif, tandis que l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* est plus active contre les Gram négatif. L'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus* inhibe mieux les Gram positives. Les mélanges d'huiles essentielles, purs ou dilués, ont un effet synergique et sont plus actifs que chaque huile seule.

Les bactéries Gram négatif nécessitent généralement des concentrations plus élevées pour être inhibées ou tuées que les Gram positif, quel que soit le composé testé. Cependant, le mélange d'huiles essentielles dilué dans l'huile de sésame ce qui logée car huile de sésame a aussi une activité antibactérienne agit à des concentrations plus faibles, de l'ordre de 2,5 à 5 mg/ml.

En perspectives, il serait intéressant de caractériser les composés présents dans ces extraits et d'approfondir les recherches phytochimiques et biologiques pour identifier les molécules responsables des activités observées.

Abed A. (2018). Effet antimicrobien des huiles essentielles de *Pistacia Lentiscus L.* sur quelques espèces bactériennes multirésistantes de la microflore digestive humaine. . Thèse de doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis.

Alilouche Y ; et Ait Hatrit M. (2021). Activites antibacterienne et antifongueque de certaine heuil essentielles.

Avril J.L ; Denis F ; Dabernat H ; Monteil H. (2000). Bacteriologie clinique.2ème édition Marketing, paris. Pages 148-280.

Aleksic V; Knezevic P (2014). Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis L.* Microbiological Research.169: 240–254.

Boudiaf K ; Latamna N ; et H.et Ouarem S. (2023). Étude photochimique et activités biologiques des extraits éthanolique de feuilles de *pistacia lentiscus* récolée de trois régions.

Bergey's manual (2012).

Bruneton J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2 ème édition. Paris, France : Editions médicales internationales, éditions Technique et documents Lavoisier

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition médicales internationales, éditions Techniques et documents Lavoisier, p : 585, p : 1120.

Belhadj S. (2000). Les pistacherais algériennes : Etat actuel et dégradation, Centre Universitaire de Djelfa, Algérie. 108 p.

Chebaibi A ;Marouf Z F ; Rhazi-Filali F ; Fahim M. et Ed-Dra A. (2016). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. Lavoisier SAS. *Phytotherapie.* 2-9

Castola V; Bighelli A ; Casanova J.(2000). Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus L.* from Corsica. *Biochemical Systematics and Ecology* 28: 79-88

Choch CL; Ciufu S, Domrachev M; Hotton CL; Kannan S; Khovanskaya R;Leipe D; Mcveigh R;O'Neill K ; Robbertse B ; Sharma S; Soussov V; Sullivan JP; Sun L;Turner S ; Karsch-Mizrachi I.(2020) « NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools »

Carson C.F ; Riley T.V. (1995). « Antimicrobialactivity of the major components of The essential oil of *Melaleuca alternifolia* » *J. Appl Bacterial*, 78(3): 264-269.

Carson C.F; Mee B.J et Riley T.V. (2002) Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time kill, lysis ; leakage and salt tolerance assays and electronmicroscopy .*Antimicrobial Agent Chemotherapy.*46 : 1914-1920

- Castola V; Bighelli A; Casanova J. (2000).** Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus L.* from Corsica. *Biochemical Systematics and Ecology* 28: 79-88.
- Carbannelle B; Denis F; Marmonier A. (1987).** Bactériologie Médicale : Techniques usuelles. SIMEP SA. Paris.
- Caron F ; Galperine T ; Etienne M ; Merens A ; Flateau C. (2014).** Thèse de doctorat : Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte.
- Djadi A. et Ait-Amar H. (2014).** Étude de la réactivité microbiologique et de l'effet toxique sur *Carassius auratus* du Glutaraldehyde. *European Scientific Journal*, vol.10, No.21 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431
- Djenane D; Yangüela J; Montañés L; Djerbal M; Roncalés P. (2011).** Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef. *Food Control* 22 ,1046-1053
- Delaquis P.J; Stanich K; Girard B; Mazza G . (2002)** Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int. J. Food Microbiol.* 74: 101-109
- Davidson P.M. (1997).** Methods for testing the efficacy of food antimicrobial, *Food Technology*, p:148-155
- Denis F ; Cécile M ; Martin C ; Bengen E ; Quentin R. (2007).** Bactériologie médicale Technique usuelles. Edition Masson. Paris. P 251. 295.
- Eloff J 1998 .** une method sensible et rapide sur microplaque poue determinier la concentration minimale inibitrice d'extrait de plantes pour les bacteries . *planta medica* , 64,711, 713
- Franceschini P. (2016).** *Myrtus communis L.* en Corse et en Méditerranée : de sa composition chimique jusqu'à ses utilisations thérapeutiques. Sciences pharmaceutiques.
- Festy D. (2018).** Ma bible des huiles essentielles. Éditions Leduc.
- Farhat A. (2010).** Vapo-diffusion assistée par Microondes. Conception, application et optimisation. Thèse de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & L'Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès, France.
- Guinoiseau E. (2010).** Molécules antibactériennes issus d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse : Université De Corse-Pasquale paouli
- Gardeli C ; Papageorgiou V ; Mallouchos A ; Theodosis K ; Komaitis M. (2008).** Essential oil composition of *Pistacia lentiscus L.* and *Myrtus communis L.*: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry* 107, 1120-1130.

- Guignard J.L ; Dupont F. (2004).** Botanique : Systématique moléculaire, 13^{ème} édition. Paris : Masson.
- Goetz P ; Ghedira K. (2012).** Phytothérapie anti-infectieuse. France, Paris: Springer-Verlag. pp. 313-318.-**Salzer UJ (1977).** The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings a critical review. C.R.C Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 9: 345-373
- Helander, I. M., Alakomi, H.-L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E. J., et al. (1998).** Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. J. Agric. Food Chem. 46, 3590–3595. doi: 10.1021/jf980154m
- Hubert R. (1992).** Epices et aromates, Tec et Doc – Lavoisier, APRIA., Paris.
- Hyldgaard, M., Mygind, T., and Meyer, R. L. (2012).** Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. Front. Microbiol. 3:12. doi: 10.3389/fmicb.2012.00012
- Iserin P. (2007).** Larousse des plantes médicinales. Ed: Larousse, p. 250.
- Karboua I; Djemai E ; Kerboua I ; Didji A. (2023).** Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master : Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Myrtus communis*
- Kim N.S ; Lee D.S.(2002).** Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from Lavandula species by gas chromatography mass spectrometry. Journal of Chromatography A. 982: 31-47.
- Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., and Nychas, G. J. E. (2001).** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. J. Appl. Microbiol. 91, 453–462. doi: 10.1046/j.1365-2672.2001.01428.x
- Levinson W. (2014).** Medical Bacteriology and Immunology. Thirteenth Edition Mc graw-Hill Education. P245.246.258.259
- Mohamadi Y; Lograd T; Ramdani M ; Figuered G; Chalard.P. (2021).** Chemical Composition And Antimicrobial Activity Of *Myrtus communis* Essential Oils From Algeria. Biodiversitas 22(2) : 933- 946.
- Mahboubi M; GhazianBidgoli F .(2010).** In vitro synergistic efficacy of combination of amphotericin B with *Myrtus communis* essential oil against clinical isolates of *Candida albicans*. Phytomedicine 17 : 771
- Miaga H. (2022).** Extraction et application d'huile essentielle de myrte sauvage : étude de l'activité antifongique
- Mir M. A; Bashir N; Alfaify A.; Oteef M. D. (2020).** GC-MS analysis of *Myrtus communis* extract and its antibacterial activity against Gram-positive bacteria. BMC complementary medicine and therapies, 20(1), 1-9

- Ouis N. (2015).** Étude chimique et biologique des huiles essentielles de Coriandre, de Fenouil et de Persil. Thèse de doctorat. Université d'Oran 1.P1.7.9
- Ponce AG; Fritz R; Del Valle C; Roura SI. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Food Science and Technology* 36, 679-684
- Paolozzi L et Liébart L. (2015).** Microbiologie. Biologie Des Procaryotes Et De Leurs Virus. Chapitre 18. Edition Dunoud. Paris. P 450 -452, 458 -460.
- Rafati S ; Niakan M ; Naseri M. (2014).** Anti-microbial effect of *Nigella sativa* seed extract against staphylococcal skin Infection. *Med J Islam Repub Iran* 2014. Vol. 28:42
- Revenchon E.(2008).** « Supercritical fluid extraction and fabrication of essential oils and related products », the journal of supercritical fluids. *Les Huiles Essentielles*.l. Confédération Suisse, 1997 ,10 ,1-37
- Rhayour, K., Bouchikhi, T., Tantaoui-Elaraki, A., Sendide, K., and Remmal, A. (2003).** The mechanism of bactericidal action of oregano and clove essential oils and of their phenolic major components on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *J. Essent. Oil Res.* 15, 286–292. doi: 10.1080/10412905.2003.9712144
- Scimeca D. (2007).** Les plantes du bonheur, Ed. Alpen, p.12-17
- Smail-Saadoun N. (2005).** Types stomatiques du genre *Pistacia* : *Pistacia atlantica* desf. ssp. *Atlantica* et *Pistacia lentiscus* L. *Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens*, (63), PP. 369-371–774.
- Souza, E. L., Barros, J. C., Oliveira, C. E. V., and Conceição, M. L. (2010).** Influence of *Origanum vulgare* L. essential oil on enterotoxin production, membrane permeability and surface characteristics of *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Food Microbiol.* 137, 308–311. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.025
- Souza, E. L., Oliveira, C. E. V., Stamford, T. L. M., Conceição, M. L., and Gomes Neto, N. J. (2013).** Influence of carvacrol and thymol on the physiological attributes, enterotoxin production and surface characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. *Braz. J. Microbiol.* 44, 29–35. doi: 10.1590/S1517-83822013005000001
- Szabó, M. Á., Varga, G. Z., Hohmann, J., Schelz, Z., Szegedi, E., Amaral, L., et al. (2010).** Inhibition of quorum-sensing signals by essential oils. *Phytother. Res.* 24, 782–786. doi: 10.1002/ptr.3010
- Tomi F; Bradesi P; Bighelli A; Casanova J. (1995)** Computer-aided identification of individual components of essential oils using Carbon-13 NMR spectroscopy. *J. Magn. Reson. Anal.* 1:25-34
- Ultee, A., Kets, E. P. W., and Smid, E. J. (1999).** Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 4606–4610.
- Willey J M; Sherwood L M ; Woolverton CJ. (2008).** Prescott, Harley, and Klein's Microbiology. Seventh Edition. Published by McGraw-Hi.