

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIC ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRE 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 :

Contribution à l'étude de l'effet de l'activité
antimicrobienne de *Pistacia lentiscus*

Présenté Par :

Boumaiza Rim , Bounab Sana , Brahimi Ikram , Chekired Boutheyna

Membre de Jury:

Pr. Chekroud Zohra (Professeur)	Présidente	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Dr. Aggoun Asma (Maître de Conférences B)	Promotrice	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Dr. Boucetta Sabrina (Maître de Conférences A)	Examinatrice	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023

Remerciement

*Nous tiens tout d'abord à remercier **Dieu** tout puissant qui a permis que nous soyons ce que nous sommes aujourd'hui. Car l'homme propose mais **Dieu** dispose, seigneur, veuille toujours diriger nos pas.*

*Au terme de ce travail nous adressons tout d'abord nos sincères remerciements à : **Mme Aggoun Asma** , Docteur à l'université du 20 Août 1955 SKIKDA, pour avoir acceptée d'encadrer ce travail et pour ses conseils et ses précieuses orientations, ses encouragements, sa patience qu'il n'a cessé de nous apporter tout au long de ce travail.*

*Notre remerciements vont également aux membres de jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail : **Dr. Boucetta Sabine et Pr. Chekroud Zohra***

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué à notre projet de fin d'études.

*Tout d'abord, nous souhaitons remercier l'équipe du laboratoire ONED, en particulier Monsieur **Bilel Boughaiout** , pour leur soutien précieux. Leur expertise et leurs conseils ont été essentiels pour la réussite de notre projet.*

*Nous aimerions également exprimer notre gratitude envers Monsieur **Bouzakri Ahmed** qui nous a introduits à Monsieur **Bilel Souillah**. qui nous a accueillis chaleureusement dans son laboratoire Bioverma. Sa gentillesse et son aide ont été d'une grande valeur pour notre projet.*

*Un immense merci également à l'équipe du laboratoire de la wilaya de Skikda, spécialement à Monsieur **Zaid Nacer et Madame Kabouia Samira**, pour leur collaboration et leur assistance précieuse. Leur implication a été inestimable et a grandement contribué à nos réalisations.*

*Nous souhaitons adresser un sincère remerciement au Docteur **Machia** pour ses informations précieuses et sa disponibilité constante pour répondre à nos questions.*

Enfin, nous remercions gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Louange à Allah,

qui m'a accordé la réussite dans mes études et m'a permis de me diplômer. Je suis reconnaissant envers Allah pour les dons et les opportunités qu'Il m'a accordés, ainsi que pour la force et la volonté qu'Il m'a données pour réaliser mes aspirations. Je suis reconnaissant envers Allah pour toutes les bénédictions qu'Il a versées sur moi, et je Le prie de me bénir et de me guider dans toutes mes entreprises futures.

A mon cher père,

il ne me suffit pas de quelques mots pour exprimer ma profonde gratitude envers toi et tout ce que tu as fait pour moi. Je te remercie du fond du cœur pour tes efforts considérables dans mon éducation, ainsi que pour ton soutien financier et moral. Tu m'as élevé avec tendresse et sagesse, contribuant à construire ma personnalité et développer mes capacités. Je suis infiniment reconnaissant envers toi et ton amour inconditionnel.

A ma chère maman,

Tous les mots ne suffisent pas à exprimer ma gratitude envers toi pour m'avoir élevé, veillé sur moi pendant ma maladie, et m'avoir offert tout ton amour, soutien émotionnel et efforts dans mon éducation. Tu es le symbole de l'affection et du dévouement. Je te remercie du fond du cœur pour tout ce que tu as fait pour moi. Je t'aime profondément et je prie pour que Dieu te protège et te comble de bonheur en toutes circonstances.

A mes chers frères et sœurs,

*DONIA ,NAWEL,MERJEM ,IMED ,FARES ,RABEH , vous êtes bien plus que des amis pour moi. Vous avez été un soutien fort dans ma réussite, toujours prêts à aider et à encourager. Tous
l'amour pour vous*

Mon cher mari,

je tiens à te remercier du fond du cœur pour ton soutien inconditionnel. Tu as été là pour moi malgré les difficultés que j'ai rencontrées en élevant notre fille et en gérant mes responsabilités de mère. Les défis ont été nombreux, mais grâce à Dieu et à toi, j'ai réussi à les surmonter. Je suis infiniment reconnaissante pour ton amour et tes sacrifices.

A chères amies

Amira, Khawla et Gamra, ainsi que mes partenaires dans le mémoire de fin d'études, Rim, Bouthayna et Ikram, je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude. Merci d'avoir été à mes côtés et de m'avoir soutenue moralement. Votre présence et votre encouragement ont été d'une grande valeur pour moi. Je suis reconnaissante pour votre véritable amitié et votre collaboration. Je vous souhaite à toutes le succès et le bonheur continu dans vos vies. Merci pour tout.

À Tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire. À tous ceux qui me connaissent de près ou de loin.

Dédicace

*Je remercie tout d'abord **DIEU** «الله», qui m'a tracé le chemin de ma vie, Je dédie humblement ce travail avec une grande fierté et comme geste de gratitude :*

A mon très cher père

Qui a sacrifié sa vie pour moi mon cher papa , qui s'est toujours donné du mal pour assurer mon bien être. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le respect que j'ai toujours eus pour vous.

A ma très chère mère

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes cotés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mes chers frères et sœurs

Ahmed, Hacem et Bilal et mes sœurs Donia et kaouthar ,vous êtes mes fidèles compagnons dans les moments les plus délicats , je porte beaucoup d'amour pour vous.

Je tiens à remercier aussi ma meilleure amie Hadjer pour avoir toujours été à mes côtés. Je souhaite également exprimer ma gratitude envers mes collègues Rim, Sana et Ikram pour leur travail acharné dans la réalisation de ce projet de fin d'études. Votre soutien et votre dévouement ont été précieux et je vous en suis reconnaissante.

Merci à tous.

Boutheyna

Dédicace

Aujourd'hui, je voudrais prendre un moment pour exprimer ma gratitude et rendre hommage à toutes les personnes qui ont été à mes côtés tout au long de cette année de travail acharné pour réaliser mon projet de fin d'études. Je suis fier de vous présenter ce mémoire qui représente des mois de dévouement, de recherches et de persévérance.

Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU De m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE : Hayet

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes cotés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et mon profond estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A MON TRES CHER PERE : Kamel

Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es.

Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

Un merci spécial à mon frère Anis qui, avec son soutien indéfectible, a été là à chaque étape de ce voyage. Tes paroles d'encouragement et ton soutien constant ont été d'une importance inestimable pour moi.

Je voudrais également adresser mes remerciements à toute ma famille spécialement mes tantes Nadia , Sana , Ilhem, Hanene qui m'a soutenu tout au long de cette aventure académique.

Votre amour, vos encouragements et vos prières ont été un pilier essentiel de ma réussite. Votre présence m'a donné la force de continuer et de ne jamais abandonner.

À vous tous, mes chers amis Kenza et Safa , je dédie ce succès. Votre amour et votre soutien m'ont donné la force nécessaire pour surmonter tous les défis et atteindre cet objectif important de ma vie.

Je vous remercie du fond du cœur et je suis fier de partager ce moment avec vous.

À mon collègues dévoué, Sana , Bouthayna , ikram je souhaite exprimer ma profonde gratitude. Notre collaboration a été essentielle dans la réalisation de ce mémoire. Ta contribution précieuse et ton soutien constant ont été une source d'inspiration et de motivation. Merci d'avoir partagé cette expérience fructueuse avec moi.

Rim

Dédicace

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات ، هذا بفضل ربي أولا و بفضل والديا ثانيا

À toutes les personnes qui ont enrichi ma vie de couleurs d'amour et de soutien, et qui sont devenues une partie indissociable de mon parcours éducatif, je présente mon mémoire de fin d'études avec joie et gratitude.

À ma chère mère, qui a été la bougie éclairant mon chemin, et une compagne bienveillante dans la vie, tu es l'abri incomparable. À ton cœur qui déborde d'un amour infini et d'une tendresse inégalée, je m'adresse avec les plus sincères remerciements et gratitude. C'est grâce à la chaleur de ton affection et à ton encouragement que j'ai puisé la force de réaliser mes rêves. Tu es mon inspiration et la mère idéale, et je ne cesserai jamais d'essayer d'être comme toi.

À mon cher père, l'homme sage qui a été un soutien constant dans ma vie, merci pour la sagesse et les conseils que j'ai reçus de toi. Tu as été un symbole de force, de patience et de courage qui m'a inspiré à chaque pas que j'ai franchi. J'ai une grande estime et un profond respect pour toi et pour l'exemple que tu donnes toujours. Mes parents, que Dieu vous accorde le Paradis supérieur du Firdaws.

*À mon mari, mon soutien et mon compagnon dans la vie, et à mon unique frère **Abd Erahim** qui est ma main droite, je vous remercie pour votre soutien. Que Dieu vous accorde la réussite, éclaire votre chemin et vous comble de bienfaits dans ce monde et dans l'au-delà . À mon cher oncle **Hakim** et **Moussa** qui m'ont soutenu depuis ma naissance, je vous remercie pour ces soutiens et ces efforts. Que Dieu vous récompense avec les fruits du paradis .*

*À chaque membre de ma famille et de la famille de mon mari merci à ma belle mère et mon deuxième père, merci à toutes mes amies **Meriem, Abir, Amani, Imen, Wafa, Donia, Asma** ,... etc., qui m'ont encouragée et soutenue tout au long de mon voyage d'étude , je ne serais pas là aujourd'hui sans votre amour et votre soutien. Je vous remercie pour votre confiance en moi.*

*À mes collègues dans ma memoire de fin d'étude **Rim , Bouthayna , Sana** et tous mes chères enseignants, du primaire à l'université, je vous remercie pour les connaissances précieuses, pour votre soutien et vos efforts*

Ikrām

Résumé

Le lentisque, *Pistacia lentiscus L*, est un arbuste à feuilles persistantes connu depuis l'Antiquité pour ses propriétés médicinales. Sa partie aérienne possède des activités anti-inflammatoires, antibactériennes, antioxydantes, antifongiques, antipyrétiques, expectorantes et stimulantes. Le travail présent se concentre principalement sur l'effet antimicrobien de l'huile essentielle et de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis quatre souches microbiennes cliniques.

L'extraction de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur a produit un rendement de **3,125 %**, et la préparation de l'extrait hydro-méthanolique par macération a montré un rendement de **58,08 %**. Par ailleurs, l'activité antimicrobienne a été testée par deux méthodes (la méthode de diffusion sur milieu solide Mueller-Hinton et la méthode de dilution en milieu solide).

Concernant la première méthode, les zones d'inhibition de l'huile essentielle diluée révèlent une action inhibitrice légère sur *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, et faible sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Par contre l'huile essentielle pure ne montre aucune activité vis-à-vis de toutes les souches testées. Pour l'extrait hydro-méthanolique, qu'il soit dilué ou pure, les zones d'inhibition révèlent une activité intermédiaire vis-à-vis *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Candida albicans*, et une forte activité vis-à-vis *Staphylococcus aureus*. Cela peut être attribué à la différence de structure de la paroi cellulaire entre les bactéries Gram positives et Gram négatives. Les résultats indiquent que *Pistacia lentiscus* s'est révélée efficace contre *Staphylococcus aureus*.

Mot clé : *Pistacia lentiscus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, activité antimicrobienne.

Abstract

Mastic, *Pistacia lentiscus L*, is an evergreen shrub known since antiquity for its medicinal properties. Its aerial part has anti-inflammatory, antibacterial, antioxidant, antifungal, antipyretic, expectorant, and stimulant activities. The present study mainly focuses on the antimicrobial effect of the essential oil and hydro-methanolic extract of *Pistacia lentiscus* leaves against four clinical microbial strains.

The essential oil extraction by steam distillation yielded **3.125%**, while the preparation of the hydro-methanolic extract by maceration showed a yield of **58.08%**. Furthermore, the antimicrobial activity was tested using two methods (the agar diffusion method on Mueller-Hinton medium and the solid medium dilution method).

Regarding the first method, the zones of inhibition of the diluted essential oil reveal a mild inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, and a weak effect on *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Conversely, the pure essential oil exhibits no activity against all tested strains. As for the hydro-methanolic extract, whether diluted or pure, the zones of inhibition indicate an intermediate activity against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Candida albicans*, and a strong activity against *Staphylococcus aureus*. This can be attributed to the differences in the cell wall structure between Gram-positive and Gram-negative bacteria. The findings suggest that *Pistacia lentiscus* has demonstrated efficacy against *Staphylococcus aureus*.

Keywords: *Pistacia lentiscus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, antimicrobial activity.

ملخص :

الضرو ، *Pistacia lentiscus L*، هو شجيرة دائمة الخضرة معروفة منذ العصور القديمة بخصائصها الطبية. تحتوي أجزاءها الهوائية على نشاطات مضادة للالتهابات والبكتيريا ومضادات الأكسدة ومضادات الفطريات ومضادات الحمى والمسهلات والمحفزات. تركز الدراسة الحالية بشكل رئيسي على التأثير المضاد للميكروبات للزيت الأساسي والمستخلص الميثانولي-المائي لأوراق الضرو الشائع في مواجهة أربع سلالات ميكروبية سريرية.

أظهر استخلاص الزيت الأساسي بواسطة التقطير البخار نسبة عائد تبلغ 3.125% ، في حين أظهر إعداد المستخلص المائي الميثانولي-المائي بواسطة الغمر نسبة عائد تبلغ 58.08%. علاوة على ذلك ، تم اختبار النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقتين (طريقة الانتشار على وسط مولر-هنتون الصلب وطريقة التخفيف في وسط صلب).

بالنسبة للطريقة الأولى، أظهرت مناطق التثبيط للزيت العطري المخفف تأثيرًا مثبتًا خفيفًا على *Staphylococcus aureus* و *Candida albicans*، وتأثيرًا ضعيفًا على *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae*. وعلى الجانب الآخر، لم يظهر الزيت العطري النقي أي نشاط ضد جميع السلالات المختبرة. أما بالنسبة للمستخلص المائي-الكحولي، سواء كان مخففًا أو نقيًا، فإن مناطق التثبيط تشير إلى نشاط متوسط ضد *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* و *Candida albicans*، ونشاط قوي ضد *Staphylococcus aureus*. يمكن أن يرجع ذلك إلى الاختلافات في هيكل الجدار الخلوي بين البكتيريا الإيجابية والبكتيريا السالبة لصبغة غرام.

الكلمات المفتاحية : *Pistacia lentiscus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* النشاط الميكروبي .

Liste des tableaux

Tableaux	Titre de tableau	Page
1.	Nomenclature de <i>Pistacia lentiscus</i> L	04
2.	Composition en acides gras de l'huile de fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> .	08
3.	Composition minérale de l'huile de fruit de <i>Pistacia lentiscus</i>	10
4.	Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle du <i>Pistacia lentiscus</i>	11
5.	Caractéristiques physicochimiques de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i>	11
6.	Pourcentage de la composition de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i> d'Oran Algérie	12
7.	Les Composants de <i>Pistacia lentiscus</i> et leur mode action sur les microorganismes	16
8.	Les microorganisme étudiée	19
9.	Les informations de récolte	25
10.	Les milieux de cultures utilisés dans l'activité antimicrobienne	29
11.	Les antibiotiques utilisés	32
12.	Volumes et concentration des différents dilutions de l'huile essentielle	34
13.	Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i>	38
14.	Les caractéristiques organoleptiques de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i>	38
15.	La caractérisation macroscopique des souches étudiées	39
16.	Observations macroscopiques des souches testés	40
17.	La caractérisation microscopique des souches étudiées	41
18.	Observations microscopiques (×100) des souches testés	41
19.	<i>Candida albicans</i> sous microscope après coloration simple	42
20.	Les résultats des test urée indole et catalase	42
21.	Photos représentatives des résultats d'antibiogramme	43
22.	L'aromatogramme des souches testés	43
23.	Les diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques en (mm)	44
24.	Les diamètres des zones d'inhibition de l'aromatogramme huile en (mm)	45
25.	Les résultats de la CMI huile	47
26.	Les résultats de la diffusion en disque des souches testés	49
27.	Les diamètres des zones d'inhibition de diffusion des disques de l'extrait en (mm)	50
28.	Les résultats de CMI de l'extrait hydro-méthanolique	51

Liste des Figures

Figure	Titre de figure	Page
1.	Feuilles et grains de <i>Pistacia lentiscus</i>	03
2.	Les feuilles et les fleurs de <i>Pistacia lentiscus</i>	03
3.	Aire de répartition de <i>Pistacia lentiscus</i> L. autour du bassin Méditerranéen	05
4.	Distillation par entraînement à la vapeur d'eau	13
5.	Schéma d'un hydro-distillateur	14
6.	La résine exsudée obtenue après avoir "blessé" le tronc et les branches de <i>Pistacia lentiscus</i> (L.) var. chia, dont la coagulation permet d'obtenir la gomme mastic.	14
7.	Mode action d'huile essentielle sur les bactéries	15
8.	Mode d'action des antibiotiques	22
9.	Schéma général de la partie expérimentale	25
10.	Site de récolte des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> utilisées pour l'extraction de l'huile essentielle	26
11.	Site de récolte des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> utilisées pour la préparation de l'extrait hydro-méthanolique	26
12.	Extractions d'huile essentielle	27
13.	Les étapes de la préparation d'extrait hydro-méthanolique	28
14.	Les étapes de la coloration de Gram	31
15.	Méthode de détermination des diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle	34
16.	Les dilutions de l'huile essentielle	34
17.	Méthode de détermination des diamètres des zones d'inhibition d'extrait	36
18.	Les dilutions d'extrait hydro-méthanolique	36
19.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	37

Liste des abréviations

<i>Abréviation</i>	<i>Signification</i>
<i>P.lentiscus</i>	<i>Pistacia lentiscus</i>
<i>C.albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>K.pneumonia</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
HE	Huile essentielle
Hep	Huile essentielle pure
HEd	Huile essentielle diluée
EHM	Extrait Hydro-métanolique
EHMd	Extrait Hydro-métanolique dilué
EHMp	Extrait Hydro-métanolique pure
%	Pourcentage
°C	Degré Celsius
G	Grammes
Mm	Millimètre
ml	Millilitre
µl	Microlitre
DMSO	Diméthylsulfoxyde
C°	Le degré Celsius
C30	Chloramphénicol
AK30	Amikacine
Cot25	Co-trimoxazole
Fc10	Acide fusidique

Sommaire

Introduction	01
Partie Synthèse bibliographique	
Chapitre 01 : Généralités sur le lentisque	
1. Description botanique	03
2. Taxonomie	
2.1.1. Nomenclature	04
2.1.2. Taxonomie et systématique de la plante	04
3. Répartition géographique	05
4. Habitat et culture	05
5. Étude chimique de l'espèce <i>Pistacia lentiscus</i> L	06
5.1.1. Feuilles	06
5.1.2. Fruits	06
5.1.3. Résine	06
6. Préparation des extraits à base des plantes	07
6.1.1. Macération	07
6.1.2. Infusion	07
6.1.3. Décoction	07
7. Huile végétale	07
7.1.1. Définition des huiles végétales	07
7.1.2. Huile végétale de <i>Pistacia lentiscus</i>	07
7.1.2.1.1. Définition	07
7.1.2.1.2. Composition chimique	08
7.1.2.1.3. Composition saponifiable de l'huile végétale de <i>Pistacia lentiscus</i> ...	09
7.1.2.1.4. Composition en insaponifiable de l'huile végétale de <i>Pistacia lentiscus</i> ...	09
7.1.2.1.5. Composition en éléments minéraux des fruits	10
7.1.3. Méthode d'extraction d'huile végétale	10
7.1.3.1.1. Extraction mécanique à froid	10
7.1.3.1.2. Extraction à chaud mécanique "industrielle "	10
8. Huile essentielle	11
8.1.1. Définition de l'huile essentielle	11
8.1.2. Composition physicochimique et organoleptique de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i>	11
8.1.3. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i>	11
8.1.4. Méthode d'extraction d'huile essentielle	13
8.1.4.1.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	13
8.1.4.1.2. L'hydrodistillation	13
9. Mastic	14
10. Activité antimicrobienne des composants actifs dans la plante	14
10.1. Activité antibactérienne	14
10.1.1. Mode d'action des extraits des plantes contre les bactéries	14
10.1.2. Mode d'action de l'Huile essentielle	15
10.2. Activités antifongiques	16
11. Effet thérapeutique de <i>Pistacia lentiscus</i>	16

12. Autres domaines d'utilisation	17
12.1.1. Dans le domaine vétérinaire	17
12.1.2. Dans le domaine cosmétique	17
12.1.3. Dans l'industrie alimentaire	17
13. Données toxicologiques de <i>Pistacia lentiscus</i>	17

Chapitre 02 : Les microorganismes étudiées

1. Description des micro-organismes étudiées	19
2. Résistance aux antifongiques	19
3. Infections urinaires	20
4. Les antibiotiques	20
4.1.1. Définition des antibiotiques	21
4.1.2. Mode d'action des antibiotiques	21
4.1.2.1.1. Activité antibactérienne pharmacodynamie	21
4.1.2.1.2. Cibles des antibiotiques	21
5. Résistance aux antibiotiques	22
5.1.1. Types de résistances	23

Partie Expérimentale

Matériels et Méthodes

I. L'Extraction de l'huile essentielle et la préparation de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i>	24
1. Matériel végétal	24
2. Récolte	25
3. Séchage et conservation	26
4. Extraction de l'huile essentielle	26
4.1.1. Calcul du rendement	27
5. Préparation d'extrait hydro-méthanolique	27
5.1.1. Calcul du rendement d'extrait hydro-méthanolique	28
II. Activité antimicrobienne de l'extrait et de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i>	28
1. Souches microbiennes	28
2. Les milieux de culture	29
3. Les extraits testés	29
4. Préparation des cultures jeunes	29
5. Observation macroscopique	29
6. Observation microscopique	30
6.1.1. La coloration de Gram	30
6.1.2. Coloration simple	31
7. Préparation de l'inoculum.....	31
8. Antibiogramme	32
9. Huile essentielle	32
9.1.1. Aromatogramme	32
9.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	34
10. Extrait hydro-méthanolique	35
10.1.1. Diffusion en disque	35
10.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	36

Résultats et discussion

1. Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i>	38
2. Les caractéristiques organoleptiques de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i>	38
3. Le rendement de l'extrait hydro-méthanolique et l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i>	38
3.1.1. Huile essentielle.....	39
3.1.2. Extrait hydro-méthanolique	39
4. Caractérisation macroscopique des souches étudiées	40
5. Caractérisation microscopique des souches étudiées	41
5.1.1. Les bactéries	41
5.1.2. La levure	42
6. Antibiogramme	42
7. L'activité antimicrobienne de <i>Pistacia lentiscus</i>	44
7.1.1. Huile essentielle	44
7.1.1.1.1. Aromatogramme	44
7.1.1.1.2. Concentration minimale inhibitrice	47
7.1.2. Extrait	49
7.1.2.1.1. Diffusion en disque	49
7.1.2.1.2. Concentration minimale inhibitrice.....	51
Conclusion	53

Références bibliographies

Annexe

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La résistance aux antibiotiques est reconnue comme un problème de santé majeur chez les humains et les animaux au niveau international. En effet, l'émergence et la diffusion de plus en plus généralisée des bactéries résistantes aux antibiotiques remettent en cause l'efficacité de ces traitements chez l'homme et l'animal, nécessitant l'intégration et l'interaction des multiples compétences et connaissances **(Derwich et al., 2010)**.

En raison de ce problème de la santé publique de nombreuses recherches se sont concentrées sur l'utilisation des molécules bioactives naturelles comme traitements alternatifs des infections **(Benabdallah et al., 2017)**. Parmi ces infections les infections urinaires qui sont définies par la présence des bactéries de la flore intestinale ou périnéale et des globules blancs dans les urines. C'est l'une des infections bactériennes les plus courantes et peut se développer dans des voies urinaires saines ou malades. Le traitement de ces infections repose sur l'utilisation d'antibiotiques qui doivent respecter des règles d'utilisation précises, les antibiotiques cliniques sont choisis en fonction des bactéries habituellement responsables et de leurs susceptibilités généralement connues aux antibiotiques **(Talbert et al., 2009)**, ces infections sont souvent causées par un seul micro-organisme. *Escherichia coli* est l'agent causal de plus de 80 % des infections et *Staphylococcus spp* est l'agent causal de 10 à 15 % des infections. Parfois, d'autres agents infectieux tels que *Klebsiella spp*, *Proteus mirabilis* et *Enterococcus faecalis* peuvent être impliqués. Parfois, des espèces de *Candida spp* sont également trouvées **(Thirion et Williamson. 2003)**.

Les plantes médicinales ont été utilisées dans la médecine traditionnelle depuis longtemps. Actuellement, la recherche sur les plantes médicinales a permis de découvrir de nouveaux médicaments contre diverses maladies. L'histoire des plantes médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. **(Derwich et al., 2010)**.

D'après l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80% de la population a recours à la médecine traditionnelle. L'utilisation des plantes médicinales s'inscrit dans le mouvement le plus large du développement de la médecine traditionnelle vue leurs nombreuses propriétés, et leur capacité à produire une variété des substances intéressantes, dont les antimicrobiens **(Robard, 2004)**.

Parmi les différentes plantes médicinales, le *Pistacia lentiscus L.*, qui fait partie de la famille des *Anacardiaceae*, est l'une des espèces spontanées les plus répandues en Algérie (Smail, 2005 ; Ait Said et al., 2011).

Le lentisque est un arbuste thermophile dioïque, avec une écorce lisse et grise, des feuilles persistantes d'un vert-gris à vert foncé, des fleurs rougeâtres en grappes et des fruits ronds rouges qui noircissent à maturité. Cet arbuste peut mesurer de 1 à 3 mètres de hauteur et atteindre une largeur allant jusqu'à 2 mètres. Il est originaire du pourtour méditerranéen, de l'Afrique du Nord, des îles Canaries et de la Corse, et on le trouve à l'état naturel dans toute l'Algérie, principalement dans le nord du pays (Quezel & Santa, 1993).

Dans la médecine traditionnelle, les fruits et les feuilles du lentisque sont utilisés pour traiter diverses affections telles que l'eczéma, la paralysie, la diarrhée, les infections de la gorge, les calculs rénaux, la jaunisse, l'asthme, les maux d'estomac, ainsi que pour leurs propriétés astringentes, anti-inflammatoires, antipyrétiques, antibactériennes, antivirales, pectorales et stimulantes (Boulebda et al., 2009).

Ce travail se compose de deux parties, la première partie, synthèse bibliographique est divisée en deux chapitres :

- **Premier chapitre :** Généralités sur le lentisque.
- **Deuxième chapitre :** Les microorganismes étudiés.

La deuxième partie est la partie expérimentale qui contiennent de :

- **Matériel et méthodes.**
- **Résultats et discussion.**

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

Les objectifs de ce travail sont :

- Extraction de l'huile essentielle et la préparation d'extrait hydro-méthanoliques de la partie aérienne de *P. lentiscus*.
- Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et d'extrait hydro-méthanoliques de la plante vis-à-vis de quatre souches par la méthode de diffusion sur gélose et la détermination de la concentration minimale inhibitrice.

CHAPITRE 01

Généralités sur le lentisque

1. Description botanique

Le genre *Pistacia* comprend de nombreuses espèces largement répandues dans les régions méditerranéennes et du Moyen-Orient (**lauk et al., 1996**). Le lentisque, *Pistacia lentiscus L.*, est un arbuste ou un petit arbre à feuilles persistantes appartenant à famille des *Anacardiaceae* (**Dasenaki et al., 2022**) elle se développe lentement, atteint sa pleine maturité entre 40 et 50 ans (**Vasiliki et al., 2020**). Le tronc est court et non droit, avec des écailles irrégulières ressemblant à un pin gris clair lorsqu'il est jeune, il s'assombrit au brun à mesure que l'arbre mûrit. Les branches sont relativement courtes et tombantes, mais le système racinaire peut atteindre des profondeurs de 20 mètres. (**Ierapetritis, 2010**).



Figure 01 : Feuilles et grains de *Pistacia lentiscus* (**Ramdan Djammel SKIKDA, 2023**).

Fleurs : La saison de floraison s'étend de la mi-mars à la fin d'avril. L'inflorescence mâle regroupe 8 à 10 fleurs. Les fleurs femelles ont des ovules. Les fleurs des arbres mâles sont rouge foncé et celles des arbres femelles sont jaunes (**Jordano ,1989**).



Figure 02 : Les feuilles et les fleurs de *Pistacia lentiscus* (**Beghlal,2016**).

Bois : Le bois particulièrement dur de cet arbuste est utilisé pour la menuiserie et l'ébénisterie, mais aussi comme bois de chauffage (**Bonnier & Douin, 1934**). Il fournit également un excellent charbon de bois. La cendre était également utilisée comme savon (**Nunez & De Castro, 1991**).

Fruit : Drupes globuleuses, verdâtres puis rouges à maturité, et finalement noires à maturité. Elles sont glabres, lisses, brillantes et ont un diamètre de 5 à 6 mm (**Idzajt, 2019**).

Feuilles : Toujours paripennées persistant en hiver, vert sombre en-dessus, pétioles des feuilles ailés. (**Quezel & Santa, 1963**). Les feuilles sont bipennées. Les 8 à 12 folioles mesurent de 1 à 5 cm sur 0,5 à 1,5 cm (**Thomson, 2007**) ces feuilles exhalent une forte odeur âcre, voisine de celle de la térébenthine (**De Lanfranchi et al., 1999**).

Résine : Le mastic de Chios est une résine naturelle récoltée à partir de l'arbre à mastic (*Pistacia lentiscus* var. Chia), qui ne pousse que dans la partie sud de l'île grecque de Chios dans la mer Égée. C'est un produit très prisé et apprécié avec une saveur et un arôme unique (**Ierapetritis., 2010**)

2. Taxonomie

2.1.1. Nomenclature

Tableau 01 : Nomenclature de *Pistacia lentiscus* L (**Feidemann , 2005**).

Noms communs	Chios mastic, lentisc, mastic
Arabe	الضرو, الطرو, البطم
Français	Arbre au mastic, lenstisque
Anglais	Mastic tree

2.1.2. Taxonomie et systématique de la plante

La classification qui est actuellement acceptée est celle de **Quezel & Santa (1963)**.

- Embranchement : *Phanérogames ou Spermaphytes*
- Sous embranchement : *Angiospermes*
- Classe : *Eudicots*
- Sous classe : *Eurosidéés II*
- Ordre : *Sapindales (Rutales)*
- Famille : *Anacardiaceae*
- Genre : *Pistacia*
- Espèce : *Pistacia lentiscus* L

3. Répartition géographique

Pistacia lentiscus est un originaire de la région méditerranéenne, du Maroc, de l'Italie, de la Grèce et de l'Ibérie et à l'est de la Turquie. Il est cultivé dans différentes parties de la Turquie (**Bilgen, 1968**).

Le lentisque est classé dans les étages de végétation infra méditerranéen et thermo méditerranéen, selon **Aafi et al. (2002)** et **Benabid (2000)**. En termes de biogéographie, il est présent dans plusieurs régions, notamment l'Atlas saharien, l'Anti-Atlas, le Haut Atlas, le Moyen Atlas, le Rif, le Maroc atlantique moyen, le Maroc atlantique nord, les monts de l'oriental et le littoral méditerranéen, comme indiqué par **Fennane et al. (2007)**.

En Algérie, on le retrouve *Pistacia lentiscus* sur tout type de sol, subhumide et semi-aride (**Smail, 2005**) elle est plus précisément dans le bassin de la Soummam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège (**Belhadj, 1999**).

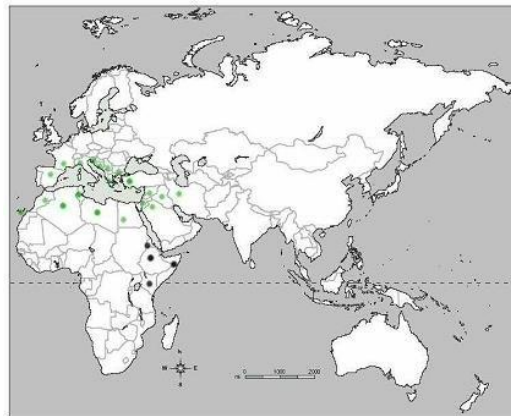


Figure 03 : Aire de répartition de *Pistacia lentiscus* L. autour du bassin Méditerranéen (**AL Saghir, 2012**).

4. Habitat et culture

Pistacia lentiscus est un arbuste thermophile et xérophile, qui prospère dans les sols sablonneux et secs, particulièrement sur les sols calcaires. Sa croissance n'est pas conditionnée par les propriétés physico-chimiques du sol, mais elle préfère les sols avec une faible concentration de phosphore et de potassium, ainsi que des concentrations variables de carbonate de calcium et d'azote (**Dogan et al., 2003**). Il pousse bien dans les zones subtropicales ou tempérées. Elle tolère jusqu'à (-7°C) en hiver et elle partage son habitat avec *P. terebinthus*, les olives, les caroubes, etc (**Site web 1**).

5. Étude chimique de l'espèce *Pistacia lentiscus* L

Toutes les activités thérapeutiques sont associées aux composés phytochimiques bioactifs, en particulier les phénoliques (**Boudieb et al., 2019**). L'analyse phytochimique des extraits de *P. lentiscus* a permis de constater la présence d'éléments tels que l'huile essentielle, les alcaloïdes, les produits phénoliques, les tanins et les saponines dans les parties aériennes (**Elgubbi et al., 2017**).

5.1.1. Feuilles

Les analyses révèlent une concentration très élevée de leucoanthocyanes, de saponosides, de sénosides, d'alcaloïdes et de tannins totaux dans les feuilles, ainsi qu'une concentration moyenne de glucosides (**Arab et al., 2014**).

La composition phytochimique est caractérisée par la présence de glycosides flavonoïdes tels que la quercétine, la myricétine, la lutéoline et les isoflavones. Les feuilles contiennent également des gallotanins qui sont des dérivés d'acide gallique et d'acide quinique, les dérivés de galloyle représentant plus de 70 % des polyphénols totaux présents (**Romani et al., 2002**).

5.1.2. Fruits

D'après les résultats obtenus par (**Belhachata et al., 2017**), les principaux composants des extraits de fruits de *P. lentiscus* étaient les flavonoïdes, les tanins et les anthocyanes et triterpène, les protéines et la mucilage sont présents tandis que les alcaloïdes, les quinones et les caroténoïdes sont absents.

Les anthocyanes sont un groupe de composés flavonoïdes qui sont responsables des couleurs de nombreuses fleurs, légumes, fruits et baies. En plus de leur valeur en tant que source de colorants alimentaires naturels (**Pazmiño-Durán et al., 2001**).

5.1.3. Résine

La résine de *P. lentiscus* a été caractérisée par des triterpènes penta et tétracycliques. Les triterpènes tels que l'acide masticadiénolique, l'acide masticadiénolique, l'acide morolique, l'acide oléanolique, l'acide ursonique (**Sharifi & Hazell, 2012**).

Selon (**Koutsoudaki et al., 2005**) l' α -Pinène, l' β -myrcène, l' β -pinène, limonène et l' β -caryophyllène ont été identifiés comme les principaux composants solubles dans l'éthanol de la résine.

6. Préparation des extraits à base des plantes

6.1.1. Macération

Les plantes médicinales entières ou grossièrement broyées sont placées dans un récipient fermé avec un solvant et laissées reposer à température ambiante pendant au moins 3 jours, sous agitation fréquente, jusqu'à ce que les composants solubles soient dissous. Il est ensuite filtré, le marc (solides humides) est pressé et le liquide combiné est clarifié par filtration ou décantation après décantation (**Handa, 2008**). L'avantage de cette méthode est qu'elle utilise un solvant froid, ce qui réduit la décomposition, mais cela prend plus de temps et utilise des volumes plus importants de solvant (**Williamson, 1996**).

6.1.2. Infusion

Les infusions fraîches sont préparées en macérant la matière première pendant une courte période de temps avec de l'eau froide ou bouillante. Ce sont des solutions diluées des constituants facilement solubles des matières premières (**Handa, 2008**).

6.1.3. Décoction

Les décoctions sont des préparations aqueuses permettant d'extraire des principes actifs de matières végétales médicinales. Dans ce processus, la matière végétale est bouillie dans l'eau pour créer une formulation liquide. Les décoctions sont une excellente méthode lorsque vous travaillez avec des plantes dures et fibreuses, de l'écorce et des racines, et des plantes avec des produits chimiques solubles dans l'eau. Le matériel végétal est généralement broyé (**Tandon & Rane, 2008**).

7. Les huiles végétales

7.1.1 Définition des huiles végétales

Une huile végétale est un mélange à consistance liquide ou semi-liquide à température ambiante, de substances majoritairement hydrophobes, solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires, non volatiles, on parle alors d'huile fixe ou grasse (**Karleskind, 1992 ; FAO, 1993**).

7.1.2. Huile végétale de *Pistacia lentiscus*

7.1.2.1.1. Définition

L'huile de *Pistacia lentiscus* est extraite à partir du fruit comestible, est de couleur vert foncé, elle n'est entièrement liquide qu'à la température de 32 à 34 C°, en-dessous, elle laisse déposer une matière blanche, susceptible de cristallisation, qui bientôt envahit la totalité de l'huile et la solidifie complètement (**Leprieur, 1860**).

7.1.2.1.2. Composition chimique

L'huile de lentisque est constituée majoritairement par des acides gras insaturés (mono et polyinsaturés) et acides gras saturés, accompagnés de substances lipidiques auxiliaires dites constituants mineurs, tels que les tocophérols, les phytostérols et des composés phénolique (**Dhifi et al.,2013**).

7.1.2.1.3. Composition saponifiable de l'huile de végétale de *Pistacia lentiscus*

- **Les acides gras**

À pleine maturité, les principaux acides gras étaient l'acide oléique, suivi de l'acide palmitique et de l'acide linoléique. D'autres acides gras étaient présents en proportions infimes, tels que l'acide palmitoléique, stéarique, linoléique, gadoléique et arachidique (**Trabelsi et al., 2012**).

Tableau 02 : Composition en acides gras de l'huile de fruits de *Pistacia lentiscus*.

Acide gras	Le pourcentage en acide gras selon (Dhifi et al., 2013).	Le pourcentage en acide gras selon (Djerrou ,2014).
C16 :0	23,52 ± 3,01	22,5± 0,3
C16 :1	1,19 ± 0,12	1,2 ±0,1
C 17:0	0,10 ± 0,01	/
C 18:0	1 ,41 ± 0,02	0,9± 0,1
C 18:1	51,06 ± 4,37	54,4± 0,6
C 18:2	20,71 ± 2,25	19,8 ±0,2
C 18:3	0,47 ± 0,10	0,65± 0,1
C 20:0	0,14 ± 0,02	0,13± 0,06
C 20:1	0,15 ± 0,01	0,16± 0,01
C 22:0	1,25 ± 0,02	/
AGS	26,42 ± 5,09	55,76
AGMS	52,4 ± 7,18	20,45
AGPS	21,18 ± 2,23	0,86

C16:0 : Acide palmitique, C16:1 : Acide palmitoléique ,C17:0 : Acide heptadécanoïque ,C18:0 : Acide stéarique, C18:1 : Acide oléique , C18:2 : Acide linoléique , C18:3 : Acid e alpha linoléique , C20:0 : Acide arachidique , C20:1 : Acide érucique , C22:0 : Acide béhénique AGS : Acides gras saturés, AGMS : Acides gras monoinsaturés , AGPS : Acides gras polyinsaturés.

Les résultats obtenus par (**Charef et al., 2008**), montrent que la teneur en matières grasses brutes des fruits de *Pistacia lentiscus* varie de 32,8% pour les fruits noirs (mûrs) à 11,70 % pour les fruits rouges.

- **Triglycérides**

La composition en TAG de l'huile de lentisque a montré que la majorité des triglycérides de cette huile sont les formes mono et poly-insaturés (**Dhifi et al.,2013**).

Selon (**Ait Mohanad et al, 2020**), l'analyse de la composition en acides gras totaux de l'huile de fruit de *Pistacia lentiscus* a révélé que la composition en triglycérides était principalement dominée par des combinaisons d'acides gras saturés et insaturés, telles que l'acide palmitique (POO) associé à l'acide oléique (SOL), l'acide palmitoléique (POL) combiné aux acides stéarique (SLL) et palmitique (PoOP) ainsi que l'acide oléique (OOO).

7.1.2.1.4. Composition en insaponifiable de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus*

La fraction insaponifiable de l'huile végétale contient, des stérols, des tocophérols et des composés phénoliques (**Julien, 2013**).

- **Les phytostérols**

Les phytostérols sont des stérols végétaux, présentent une analogie de structure avec le cholestérol. C'est le cholestérol de la plante, qui maintient l'intégrité de ses membranes cellulaires et Ils représentent de 30 à 60 % de l'insaponifiable (**Julien, 2013**).

En outre, l'étude de **Trabelsi et al. (2012)** a révélé que seuls quatre stérols ont été identifiés et quantifiés dans les baies de *Pistacia lentiscus* à tous les stades de maturation. Le bêta-sitostérol était le principal 4-déméthylstérol dans les échantillons testés, suivi du campestérol.

- **Tocophérols**

Les tocophérols sont des antioxydants naturels, existe sous quatre formes isomères α , β , γ et δ , l'huile de *Pistacia lentiscus* est très riches en α - tocophérols , elle contient 8111.137 mg de tocophérols / kg d'huile de lentisque, α -tocophérol qui a la plus forte activité antioxydante représentaient 93,62% de tocophérols entiers de l'huile de lentisque (**Dhifi et al., 2013**).

- **Les composés phénoliques**

Les polyphénols sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement (**Bruneton, 1993**).

D'après **Arab et al. (2014)**, le fruit de *Pistacia lentiscus* contient environ 61,34% de composés phénoliques. Les résultats du screening phytochimique indiquent également que les fruits de lentisque

sont riches en anthocyanes, leucoanthocyanes, tannins totaux, tannins galliques, flavonoïdes, glucosides et amidon.

7.1.2.1.5. Composition en éléments minéraux des fruits

Selon les résultats de **Dhifi et al. (2013)**, les fruits mûrs de *Pistacia lentiscus* sont une riche source d'éléments minéraux. L'élément minéral le plus abondant est le sodium (Na), suivi du potassium.

Tableau 03 : Composition minérale de l'huile de fruit de *Pistacia lentiscus* **Dhifi et al. (2013)**.

Minéraux	Quantité (mg/100 g d'huile)
Na	23,36±3,25
K	2,17±0,05
Ca	0,25±0,04
Mg	0,19±2,23
Fe	0,004±0,00
Cu	0,0001±0,00

Na : Sodium ,K : Potassium ,Ca : Calcium ,Mg : Magnésium ,Fe : Fer ,Cu : Cuivre.

7.1.3. Méthode d'extraction d'huile végétale

7.1.3.1.1. Extraction mécanique à froid

Les fruits, noix ou graines sont pressés à l'aide de presses artisanales, de presses à vis industrielles ou de presses hydrauliques. La presse la plus classique est la presse à vis. Le produit obtenu par extraction mécanique à froid est assimilable à un "jus" gras. Il est brut et doit être filtré ou centrifugé avant d'être conditionné. Il s'agit d'une huile "vierge" obtenue par première pression à froid. (**Kaibeck , 2013**) , l'huile vierge est un Produit naturel qui a la couleur et la saveur caractéristiques du fruit ou de la graine dont il est issu (**Cahuzac-Picaud , 2010**).

7.1.3.1.2. Extraction à chaud mécanique "industrielle"

A l'échelle industrielle, l'extraction mécanique a une variante à chaud. Certains fabricants chauffent en fait le matériau pulvérisé à une température élevée (parfois supérieure à 100°C) avant le pressage. Cela peut être fait pour des raisons mécaniques afin d'obtenir des rendements plus élevés ou simplement comme l'exigent certaines graines oléagineuses pour faciliter l'extraction de l'huile (**Kaibeck, 2013**).

8. Huile essentielle

8.1.1. Définition de l'huile essentielle

Une huile essentielle est un liquide aromatique issu de plantes. On l'extrait de certains organes, fleur, feuille, écorce, racine, graine... des plantes riches en essences odorantes (Festy,2018), obtenu par extraction ou distillation de molécules volatiles de la plante d'origine. On retrouve majoritairement des terpénoïdes et des molécules aromatiques (Site web 2) .

8.1.2. Composition physicochimique et organoleptique de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus*

L'huile essentielle de la variété algérienne de *Pistacia lentiscus* se caractérise par un aspect liquide et limpide, une couleur jaunâtre foncée, une odeur fortement aromatique et une saveur épicée (Beghlal et al., 2016).

Tableau 04 : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle du *Pistacia lentiscus* selon Amar et al. (2019).

Propriétés	Huile essentielle	
	AFNOR (Smith et al., 2005)	(Amar et al., 2019).
Aspect	Liquide, mobile et limpide	Liquide, mobile et limpide
Couleur	Jaune pâle	Jaune pâle
Odeur	Caractéristique	Caractéristique

Tableau 05 : Caractéristiques physicochimiques de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* selon Beghlal et al.(2016).

Variétés	Densité à 20 °C	Index des Ester	Index des Acides	Indice de réfractio n	Optique rotation
Algérie	0,855	16,5	2,25	1,43	0,42°
Maroc	0,850-0,875	13,0-19,0	-	1,40-1,45	-1°- +2°

8.1.3. Composition chimique de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus*

La composition chimique de l'huile essentielle dérivée des parties aériennes est variable, elle est fortement influencée à la fois par l'origine géographique et la technique d'isolement (Amhamdi ,2009).

D'après l'étude menée par (Castola et al., 2000), sur la composition de 105 échantillons d'huile essentielle de plantes individuelles de *Pistacia lentiscus* de Corse, l'analyse a révélé que les principaux constituants identifiés sont le myrcène, le limonène, le terpinène-4-ol, l' α -pinène, le β -pinène, l' α -phellandrène, le sabinène, le p-cymène et le c-terpinène.

Selon (Hamiani et al., 2016), les principaux composés l'HE de *Pistacia lentiscus* d'Oran Algérie étaient des monoterpènes oxygénés, caractérisés par la grande prévalence du terpinène-4-ol (41,24%) et de l' α -terpinéol (7,31%), de l' α -pinène (9,48 %), limonène (09,11 %), β -myrcène (10,5 %), p-cymène (8,67 %) et α -phel-landrène (2,20 %), β -caryophyllène (22,62 %).

Tableau 06 : Pourcentage de la composition de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* d'Oran Algérie Hamiani et al. (2016).

Nombre de crêtes	Composés	Indice de Kovats	Percentage (%)
1	α -pinène	928	9,48
2	β -Myrcène	948	0,9
3	α -phellandrène	964	2,20
4	β -pinène	966	t
5	Cis-ocimène	976	t
6	Inconnu	988	-
7	3-carène	1005	0,8
8	δ -Carène	1012	t
9	Limonène	1018	9,11
10	p-Cymène	1028	8,67
11	p-Cymène-8-ol	1042	t
12	Terpinolene	1052	t
13	Linalol	1082	1,4
14	Verbénol	1122	0,7
15	Terpinène-4-ol	1137	41,24
16	Bornéol	1138	0,8
17	α -terpinéol	1174	7,31
18	2-Undecanone	1290	0,7
19	Isoledène	1419	0,9
20	Inconnu	1458	-
21	β -caryophyllène	1494	12,62
22	Globulol	1530	0,8

Les composants sont classés dans l'ordre d'élution de l'EMF1, t : pourcentage des traces (%) $\leq 0,6$.

8.1.4. Méthode d'extraction d'huile essentielle

Il y a plusieurs méthodes d'extractions. Parmi les plus utilisés sont les suivants :

8.1.4.1.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Les huiles essentielles obtenues par distillation par entraînement à la vapeur d'eau. Elles sont des essences distillées grâce à un alambic (**Gélis-Imbert, 2018**).

Les plantes aromatiques stockées dans des cuves sont parcourues par un courant ascendant de vapeur d'eau, rompant les cellules sécrétoires et emportant les molécules volatiles de faible poids moléculaire et hydrosolubles de la plante. Profitant des différences de volatilité et de polarité des molécules végétales. A la sortie de la cuve, la vapeur d'eau circule dans des serpentins de refroidissement. Le but de cette opération est de séparer l'eau des molécules aromatiques (huiles essentielles) qui ont été transportées en raison de leurs polarités différentes. A la sortie du distillateur, les deux extraits sont recueillis dans un essencier ou vase décanté. Il s'agit d'un grand volume d'eau riche en nombreuses molécules hydrosolubles appelées « hydrolats » ou « eaux florales » clair et à sa surface, du fait de sa faible densité, des huiles essentielles de plantes aromatiques de différentes couleurs (**Gélis-Imbert, 2018**).

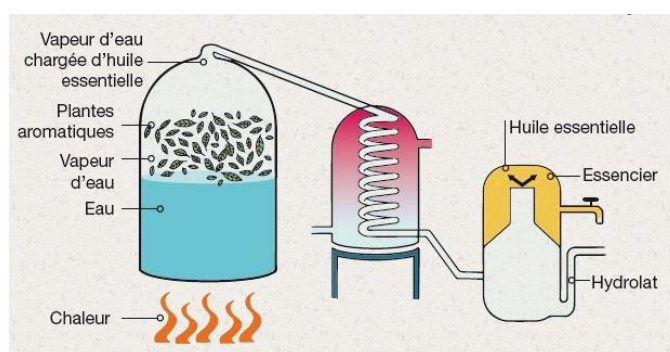


Figure 04 : Distillation par entraînement à la vapeur d'eau (**Gélis-Imbert,2018**).

8.1.4.1.2. L'hydrodistillation

Les huiles essentielles sont évaporées en chauffant un mélange d'eau ou d'autres solvants et de matières végétales, suivi de la liquéfaction des vapeurs dans un condenseur. L'appareil comprend également un condenseur et un décanteur pour recueillir le condensat et séparer les huiles essentielles de l'eau, respectivement. Le principe d'extraction est basé sur la distillation isotrope. En effet, à la pression atmosphérique et pendant le processus d'extraction (chauffage), l'eau ou les solvants et les molécules d'huiles se mélangent (**Rassem et al ., 2016**).

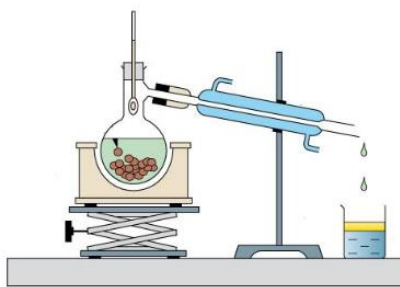


Figure 05 : schéma d'un hydro-distillateur (Rassem et *al.*, 2016).

9. Mastic

Le mastic est une substance résineuse qui provient de la plante *Pistacia lentiscus* (Al-Habbal, 1984), la région sud de l'île grecque de Chios est l'une des plus importantes sources commerciales de résine de mastic au monde (Rai & Kosalec , 2022) .



Figure 06 : La résine exsudée obtenue après avoir "blessé" le tronc et les branches de *Pistacia lentiscus* L. var. chia, dont la coagulation permet d'obtenir la gomme mastic (Paraschos et *al.*, 2012).

10. Activité antimicrobienne des composants actifs dans la plante

10.1. Activité antibactérienne

10.1.1. Mode d'action des extraits des plantes contre les bactéries

Les extraits des plantes possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches bactériennes, elles sont efficaces contre un large spectre de microorganismes pathogènes et non pathogènes mais d'une manière générale leur action se déroule en trois phase (Dorman, 2000).

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

- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

10.1.2. Mode d'action de l'Huile essentielle

Les modes d'action des huiles essentielles et de leurs principaux constituants, décrits jusqu'à présent, semblent tous affecter la paroi ou la membrane cytoplasmique. Cependant, la variabilité chimique des huiles essentielles laisse présager l'existence de molécules pouvant agir par de nouveaux mécanismes cellulaires **Guinoiseau (2010)**.

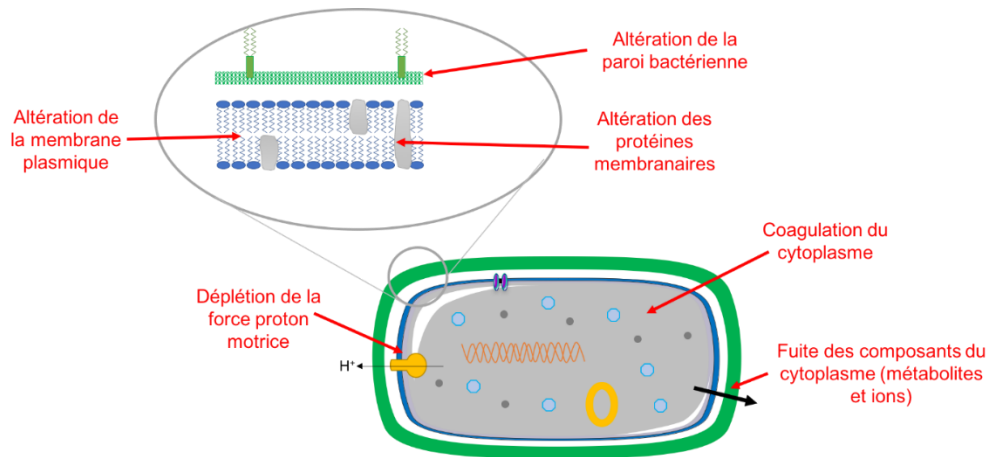


Figure 07 : Mode action d'huile essentielle sur les bactéries (**Site web 1**).

Selon **Boelens , (1991)**. L'huile de *Pistacia lentiscus* contient les principaux groupes de constituants suivants : les composés aliphatiques, les hydrocarbures monoterpéniques, les monoterpènes contenant de l'oxygène, les sesquiterpènes, les hydrocarbures diterpéniques et les composés benzoïdes.

L'efficacité antibactérienne de l'huile essentielle de *P. lentiscus* est due à plusieurs de ses composants qui agissent en synergie.

Selon **Bammou et al. (2015)**, les bactéries Gram positives sont les bactéries les plus susceptible vis-à-vis l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* par comparaison avec les autres souches Gram négatives ; ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries Gram positives et les bactéries Gram négatives. La paroi cellulaire des bactéries Gram positives est constituée par une seule couche alors que celle des Grams négatives à une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe (**Ali-Shtayeh et al., 1998**).

Tableau 07 : Les Composants de *Pistacia lentiscus* et leur mode action sur les microorganismes.

Composants	Mode d'action
Sesquiterpènes ex : (β -caryophyllène, α -ahumulène et σ -cadinène)	<ul style="list-style-type: none"> • A l'inhibition de l'enzyme glucosyltransférase de la paroi cellulaire bactérienne. • Dommages membranaires sous la forme d'une augmentation de la perméabilité membranaire, ce qui conduit à l'autolyse cellulaire. • Mécanismes bactéricides tels que : les processus de transduction d'énergie ou les processus de synthèse à l'intérieur des bactéries (Rguez et al.,2023).
Monoterpènes ex: (α -pinène et β - Myrcène)	En raison de leur nature huileuse, ces composés sont lipophiles. Cette caractéristique peut favoriser l'expansion des membranes cellulaires par les huiles essentielles et leur destruction en augmentant la fluidité ou en inhibant les enzymes membranaires. Ce type de perturbation membranaire causée par la phytotoxicité des monoterpènes pourrait être responsable de l'effet herbicide et peut conduire à la mort cellulaire . (Graña et al.,2012) .
Les composant aliphatiques	Augmentent la fluidité de la membrane (Kabelitz et al., 2003) .

10.2. Activités antifongiques

L'huile essentielle a démontré une capacité inhibitrice de la croissance de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium sambucinum*, *Candida albicans* et *Fusarium*, avec une efficacité plus élevée que celle observée contre les *Penicillium* **(El Idrissi et al., 2016)**. Le mécanisme d'action des extraits aromatiques sur les souches fongiques n'a pas été totalement élucidé. Cependant, certaines études soulignent que l'action antifongique de ces substances terpéniques est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci, entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure **(Cox et al.,2002)**.

11. Effet thérapeutique de *Pistacia lentiscus*

Les parties aériennes du *Pistacia lentiscus* ont été utilisées depuis longtemps pour traiter l'hypertension, la toux, l'eczéma, les maux de gorge, les calculs rénaux, les douleurs d'estomac et la jaunisse. Ces parties possèdent des qualités diurétiques et stimulantes **(Amhamdi et al., 2009)**.

L'huile essentielle de l'arbre à mastic a été démontrée avoir des effets antibactériens, antifongiques, insecticides et antioxydants (**Haloui, 2015**).

L'huile extraite des fruits de lentisque est appréciée pour ses propriétés médicinales et est recommandée pour les personnes atteintes de diabète, pour soulager les douleurs d'estomac et en cas de circoncision. De plus, elle est utilisée sous forme d'onguent pour traiter les brûlures ou les douleurs dorsales en application locale externe (**Bougherara, 2015**).

Depuis plus de 2500 ans, le mastic est utilisé dans la médecine traditionnelle grecque, principalement pour les troubles gastro-intestinaux tels que les ulcères d'estomac et les douleurs d'estomac (**Paraschos et al., 2012**). Il a été démontré que le mastic a des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et antibactériennes (**Rai & Kosalec, 2022**).

12. Autre domaines d'utilisation

12.1.1. Dans le domaine vétérinaire

Pistacia lentiscus est utilisée dans les domaines de la médecine vétérinaire. Des études ont démontré que sa consommation par les moutons et les chèvres peut réduire le risque d'infections causées par des larves contagieuses (**Rogosic et al., 2006 ; Landau et al., 2010**).

12.1.2. Dans le domaine cosmétique

Le mastic est utilisé notamment dans l'industrie cosmétique et en dentisterie (**Rai & Kosalec, 2022**). L'huile essentielle de gomme de mastic est particulièrement appréciée pour ses propriétés olfactives et est donc largement utilisée en parfumerie ainsi que dans l'industrie cosmétique (**Koutsoudaki et al., 2005**).

12.1.3. Dans l'industrie alimentaire

Pistacia lentiscus est utilisée comme répulsif contre les insectes de la farine (**Ben jema et al., 2016**), Le mastic aussi est utilisée dans l'industrie alimentaire pour la fabrication de chewing-gum (**Rai et Kosalec , 2022**).

13. Données toxicologiques de *Pistacia lentiscus*

Selon (**Bammou et al., 2015**) *Pistacia lentiscus* .L , est une plante ayant un potentiel d'importance en raison de ses avantages en termes de biomasse, de sa présence abondante sur le terrain et de sa richesse en métabolites secondaires tels que les tanins, les flavonoïdes, les stérols, etc. Elle possède également des effets antibactériens et présente une faible toxicité en raison de l'absence totale d'hétérosides cyanogénétiques. Cette absence réduit considérablement les risques toxicologiques liés à l'utilisation de *Pistacia lentiscus* L.

D'autres études ont confirmé les résultats de cette étude, comme celle menée par **(Boukeloua et al., 2012)**. Cette étude portait sur la toxicité aiguë de l'huile fixe de *Pistacia lentiscus* L, et a montré une faible toxicité de cette dernière. En effet, les doses létales orales et intrapéritonéales élevées de l'huile fixe de *P.lentiscus* administrées à des souris (respectivement, DL50 = 37 ml/kg de poids corporel, p.o. et DL50 = 2,52 ml/kg de poids corporel, i.p.) ont démontré sa faible toxicité aiguë.

CHAPITRE 02

Les microorganismes etudiees

1. Description des micro-organismes étudiées

La description et les pouvoirs pathogènes des souches microbiennes utilisées dans ce travail sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 08 : Les microorganisme étudiées.

Bactérie	Description	Pouvoir pathogène
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>S. aureus</i> est un membre de la famille des <i>Micrococcaceae</i> . À l'examen microscopique, les organismes se présentent sous la forme de cocci à Gram positifs regroupés en grappes, diamètre moyen 0,8 à 1 µm. La grande majorité des souches de <i>S. aureus</i> sont capsulées, mais les souches peuvent perdre leur capsule après culture (Yves & Gantier, 2009).	Peut être à l'origine de toxico-infections alimentaires, entérocolites aiguës, syndrome de choc toxique, infection suppuratives, d'infection cutanées, des septicémies, sous-cutanées, muqueuses staphylococcies osseuses, pleuropulmonaires, urogénitales, neuroméningées et l'endocardite staphylococcique (Greenwood, 2012).
<i>Escherichia coli</i>	<i>E. coli</i> est une bactérie à Gram négative, appartenant à la famille des Entérobactéries. Elle possède des structures appelées fimbriaes ou pilis qui lui permettent de s'adhérer aux surfaces muqueuses des hôtes. La plupart des souches d' <i>E. coli</i> sont lactose positives et peuvent fermenter le lactose (Richard et al., 2013).	Les infections intestinales causées par <i>Escherichia coli</i> peuvent se présenter sous différentes formes. Tels que Les ETEC sont responsables de la diarrhée du voyageur, et l'EHEC qui entraîne une diarrhée sanglante. En dehors de l'intestin, <i>E. coli</i> est également responsable d'infections des voies urinaires, de méningites néonatales et d'infections nosocomiales telles que la septicémie, le choc endotoxique et la pneumonie (Richard et al., 2013).

Bactérie	Description	Pouvoir pathogène
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> est une bactérie Gram-négative anaérobie en forme de bâtonnet, elle appartient à la famille des <i>Enterobacteriaceae</i> . C'est une commensale normale qui vit dans la bouche et les intestins. Cependant, lorsque <i>Klebsiella</i> est transportée ailleurs, elle devient pathogène et est souvent associée à des infections des voies urinaires, des plaies et des infections respiratoire (Brooker 2008).	<i>Klebsiella pneumoniae</i> provoque une pneumonie sévère, en particulier chez les patients ventilé (Buckle,2015). Elle cause des infections des voies urinaires, des infections de plaies, des bactériémies et des méningites, et rarement des diarrhées (Kumar, 2016).
<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i> est une levure non capsulée, non pigmentée et aérobie, qui se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (le blastospore), formant ainsi des colonies blanches crémeuses (Graser et al 1996). Elle présente des formes morphologiques variées, notamment des formes levuroïdes, mycéliennes et pseudo-mycéliennes (Jensen et al.,2006).	Le champignon dimorphe <i>Candida albicans</i> est l'agent causal des candidoses vaginales à levures, du muguet oral, des candidoses cutanées de la peau et d'une série d'autres maladies fongiques. Tandis que la candidose bronchopulmonaire (infection des bronches et des poumons) est plus préoccupante (Hanlo & Hodges 2013).

2. Résistance aux antifongiques

Les études ont montré que des mutations peuvent conduire à une résistance à l'amphotéricine B chez certaines souches de *Candida albicans* d'origine clinique. Cette résistance peut être associée à une résistance à d'autres antifongiques, tels que la 5-fluorocytosine et le fluconazole (**Nolte et al.,1997**). Selon (**Desnos-Ollivier et al., 2008**), Les cas les plus fréquents de résistance aux échinocandines concernent les espèces *Candida albicans* et *Candida glabrata*.

3. Infections urinaires

L'infection urinaire est caractérisée par la présence et la prolifération d'un ou plusieurs microorganismes (provenant de la flore digestive, génitale ou cutanée) dans le système urinaire, ce

qui peut entraîner une réaction inflammatoire (**Prakash & Ramasubramanian, 2016**).

Infection urinaire est la plus fréquente des infections bactériennes, constitue un fardeau considérable pour les ressources du système de santé. Dans la communauté, elle affecte principalement les femmes sexuellement actives, mais aussi des individus de tous âges. Quant à l'environnement hospitalier, les personnes âgées et les patients porteurs d'une sonde urinaire sont les principaux concernés (**Daniel et al.,2003**).

4. Les antibiotiques

4.1.1. Définition des antibiotiques

L'adjectif "antibiotique" (du grec anti : contre, bioti- kos : concernant la vie), utilisé pour la première fois en 1889 pour décrire une substance synthétisée par un organisme afin de détruire un autre, a ensuite été précisé en tant que substance chimique produite par un microorganisme, capable d'inhiber sélectivement la croissance voire de détruire d'autres microorganismes lorsqu'elle est diluée en solution. Les composés utilisés à des fins thérapeutiques dans les maladies bactériennes chez l'homme et les animaux sont couramment appelés antibiotiques par les professionnels de la santé et les profanes (**Guardabassi & Courvalin, 2006**).

4.1.2. Mode d'action des antibiotiques

4.1.2.1.1. Activité antibactérienne pharmacodynamie

Les antibiotiques sont des substances naturelles capables d'inhiber la croissance bactérienne ou de tuer les bactéries. Elles sont actives sur les cellules procaryotes mais respectent en effet les cellules des espèces eucaryotes. La plupart des antibiotiques récents sont en fait maintenant des produits élaborés par hémisynthèse ou par synthèse totale. Il appartient maintenant aux chimistes de l'industrie pharmaceutique de s'attacher aux relations structure-activité et de parvenir à élaborer les produits ayant l'activité antibactérienne recherchée, les caractéristiques pharmacocinétiques les plus adaptées à l'utilisation souhaitée et la moindre toxicité ou le moindre risque d'interférences médicamenteuses (**Bergogne-Berezin et al.,1999**) (**Drusano ,2007**).

4.1.2.1.2. Cibles des antibiotiques

Les antibiotiques entravent la croissance bactérienne en agissant sur des cibles vitales. Il s'agit principalement pour les grandes classes d'antibiotiques :

- ✚ La paroi bactérienne : c'est le cas pour les bêta-lactamines ou pour les glycopeptides, les bêta-lactamines entravent la formation de la paroi bactérienne en se fixant sur des enzymes

indispensables à la synthèse du peptidoglycane appelées protéines de liaison à la pénicilline (PLP).

- ✚ Le système nécessaire à la synthèse des protéines avec inhibition de la transcription de l'ARN messager : cible ribosomale et interférence avec le ARNt (aminosides, cyclines, phénicolés) ou inhibition de la formation des chaînes peptidiques (macrolides, acide fusidique).
- ✚ Le système de synthèse des acides nucléiques : par action sur les précurseurs de cette synthèse (co-trimoxazole) ou sur ses enzymes 5681 (rifampicine), les quinolones empêchent la synthèse de l'ADN en entravant le fonctionnement des enzymes indispensables à l'obtention de son organisation spatiale (topo-isomérases) (Bryskier ,1998).

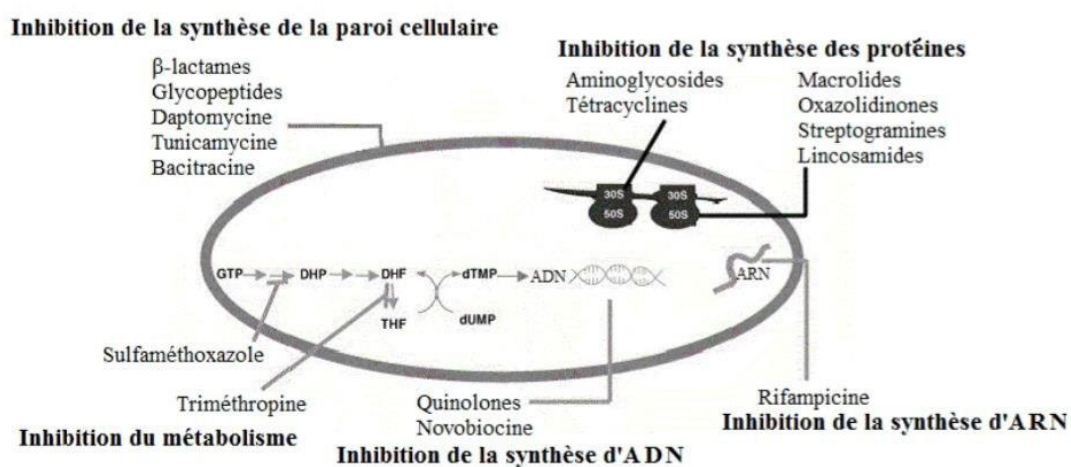


Figure 08 : Mode d'action des antibiotiques (Singh & Barrett , 2006).

Pour exercer leur effet, bactériostatique ou bactéricide, les antibiotiques doivent se trouver à une concentration suffisante dans le milieu où se fait la croissance bactérienne. La concentration d'antibiotique nécessaire et suffisante pour empêcher cette croissance est dite concentration minimale inhibitrice (CMI). La concentration minimale bactéricide (CMB) est la concentration nécessaire à l'obtention de moins de 0,01 % de survivants de la culture initiale. Pour les antibiotiques bactéricides, la CMB est proche de la CMI (Bergogne-Berezin et al .,1999).

5. Résistance aux antibiotiques :

Une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle est cultivée en présence d'une concentration plus élevée d'antibiotiques par rapport à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées. La capacité de résistance de la souche aux traitements antimicrobiens dépend de divers paramètres, tels que la localisation de la bactérie, le dosage, le mode d'administration de l'antibiotique et l'état du système immunitaire de l'individu traité (Guardabassi & Courvalin, 2006). La résistance

bactérienne aux antibiotiques est due aux convergences dans les pools génétiques entre les microbes (un antibiotique produit par un microbe serait inhibé ou désactivé par un autre microbe). La recherche des agents antibactériens doit être effectuée dans des organismes vivants phylogénétiquement loin des bactéries (Bouyahya et *al.*, 2018).

❖ **Mécanisme de résistances des bactéries :**

- Un manque d'affinité du composé pour la cible bactérienne.
- Une inaccessibilité de la molécule à la cellule bactérienne.
- Une expulsion de l'antibiotique par des pompes à efflux chromosomiques.
- Une inactivation enzymatique innée de l'antibiotique (Guardabassi & Courvalin, 2006).

5.1.1. Types de résistances

Concernant la résistance microbiologique, il est également important de distinguer la résistance acquise et la résistance intrinsèque (Guardabassi & Courvalin, 2006).

- **Résistance intrinsèque**

Se définit comme une caractéristique fonctionnelle ou structurelle conférant une certaine tolérance, voir une insensibilité totale, à tous les membres d'un groupe de bactérie vis à-vis d'une classe d'antimicrobiens.

- **Résistance acquise**

Se définit comme une caractéristique propre à quelques souches bactériennes d'un genre ou d'une espèce particulière, provoquant l'émergence et la diffusion de résistances au sein de populations de germes normalement sensibles.

Matériels et méthodes

Cadre de l'étude

Ce travail a été réalisé au niveau de trois sites :

- **Laboratoire de l'observatoire national de l'environnement et du développement durable ONED (SKIKDA)**, le but est de mettre en évidence l'extraction des molécules actives dans la plante par la macération hydro-méthanolique (12 au 19 mars 2023).
- **Laboratoire de Bioverma (Chraïa, Collo)**, pour mettre en évidence l'extraction de l'huile essentielle de la plante par entraînement à la vapeur (20 mars 2023).
- **Laboratoire de la santé de la Wilaya (Cité Frères Bouhadja, SKIKDA)**, afin de mettre en évidence l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* (26 mars à 6 avril 2023).

I. L'Extraction de l'huile essentielle et la préparation de l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus*

1. Matériel végétal

Le choix de la plante médicinale *Pistacia lentiscus* qui identifier par madame Sakhraoui Nora est principalement basé sur les critères de sélection suivants :

Utilisation traditionnelle : *Pistacia lentiscus* est une plante médicinale traditionnelle qui a été utilisée depuis des siècles dans les régions méditerranéennes pour traiter diverses infections.

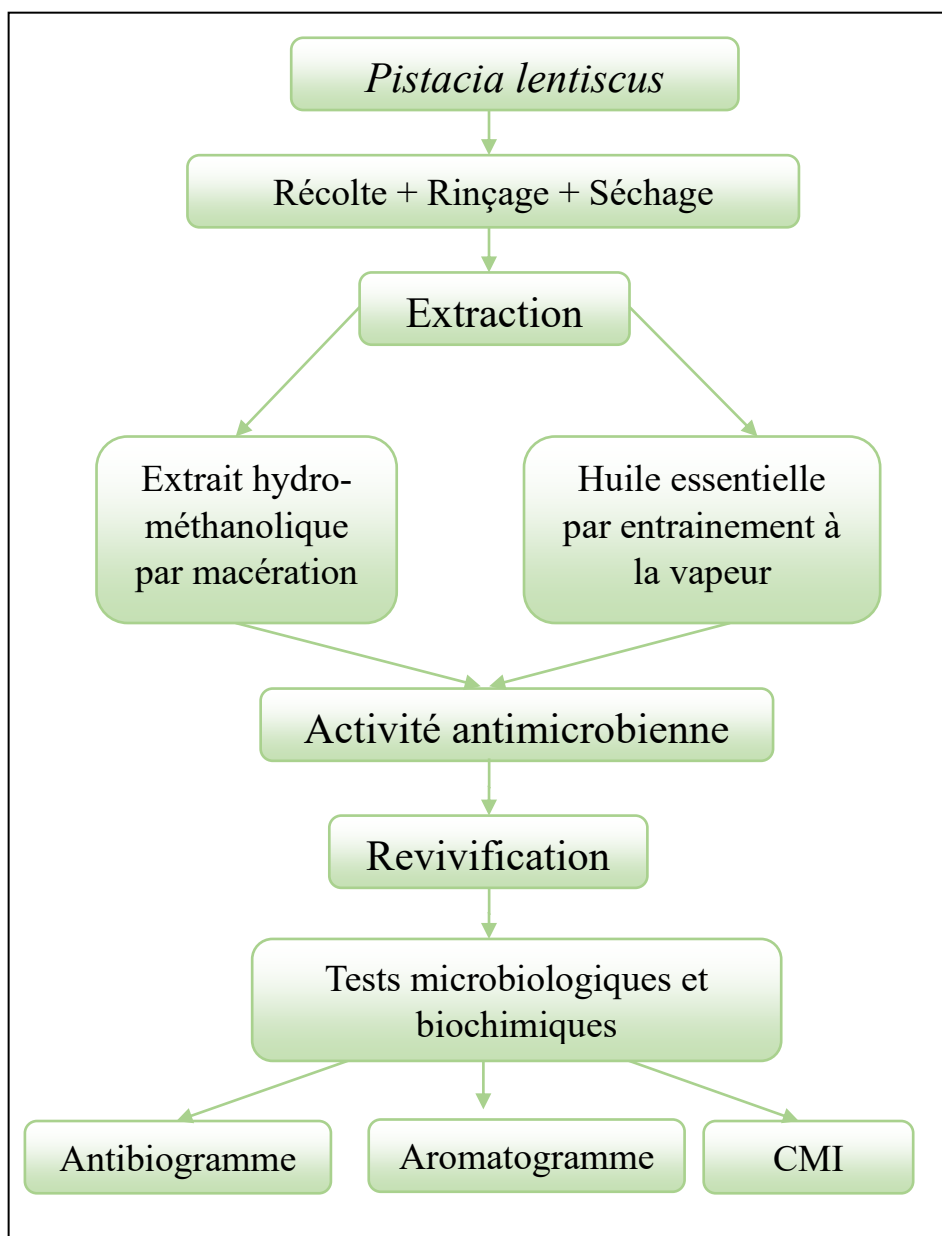
Disponibilité et coût : *Pistacia lentiscus* est une plante qui pousse dans les régions méditerranéennes de façon abondante.

Facilité de traitement et de stockage : *Pistacia lentiscus* est facile à traiter et à stocker, ce qui en fait un choix pratique pour les études sur l'activité antimicrobienne.

Etudes antérieures : Des études antérieures ont suggéré que *Pistacia lentiscus* peut avoir une activité antimicrobienne contre certaines souches bactériennes et fongiques responsables d'infection urinaire, ce qui peut justifier l'utilisation de cette plante pour de futures études.

Le partie expérimentale est schématisé dans la figure n°09.

Figure 09 : Schéma général de la partie expérimentale



2. Récolte

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* ont été collectées de deux sites comme représenté dans le **tableau N° 09** et dans les **figures N° 10** et **N° 11** .

Tableau 09 : Les informations de récolte.

Région	Date	Extraction
El Hadaik, SKIKDA(36°50'50.2"N 6°53'06.9"E)	Mois de mars 2023	Extrait hydro-méthanolique
Chraïa ,Collo	5 mars 2023	Huile essentielle

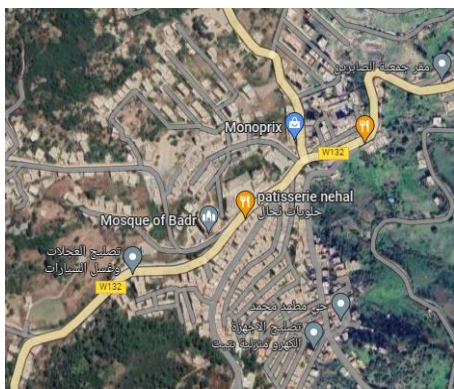


Figure 10 : Site de récolte des feuilles de *Pistacia lentiscus* utilisées pour l'extraction de l'huile essentielle (Google Map)



Figure 11 : Site de récolte des feuilles de *Pistacia lentiscus* utilisées pour la préparation de l'extrait hydro-méthanolique (Google Map)

3. Séchage et conservation

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* ont été bien nettoyées et séchées à l'abri de la lumière et dans un endroit aéré et sec, avec une température ambiante pendant une semaine (Benhammou et al., 2007).

4. Extraction de l'huile essentielle

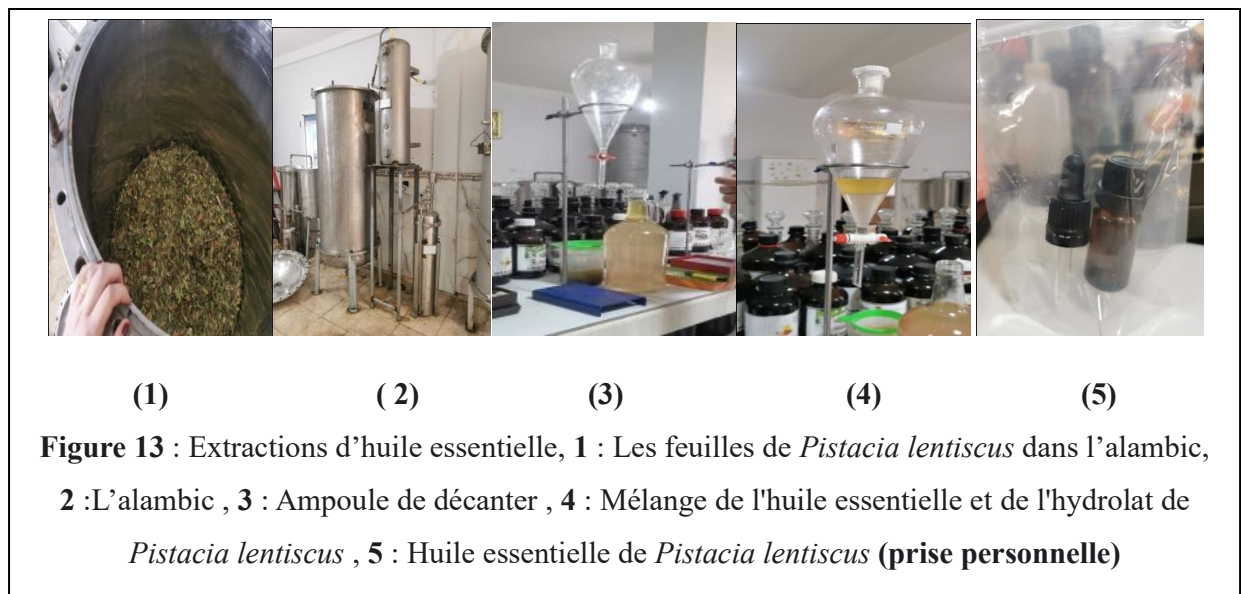
A. Principe de la distillation par entraînement à la vapeur d'eau

L'installation comporte une chaudière à vapeur séparée de l'alambic. À la sortie du réfrigérant (à circulation d'eau froide) dans lequel se sont condensées les vapeurs, l'eau distillée et l'essence (plus légère que l'eau), devenues huile essentielle, se séparent. Ce changement d'appellation se justifie pleinement car, sous l'action de l'oxygène, de l'eau, de la vapeur d'eau et de la température, les molécules aromatiques de l'essence subissent diverses modifications (oxydations, hydrolyses, restructurations) minimales dans certains cas, importantes dans d'autres (Baudoux, 2017).

B. Mode opératoire

- 80 kg de feuilles de *Pistacia lentiscus* ont été ajoutés dans l'alambic de type inox alimentaire 304. L'alambic a été fermé hermétiquement pour créer une pression et en même temps, la chaudière a été allumée.
- La réaction a pris environ 1h30 afin d'obtenir un mélange d'huile essentielle et d'hydrolat.
- Enfin, la séparation de l'huile essentielle et de l'hydrolat s'est réalisée à l'aide d'une ampoule de décantation.

Les étapes de l'extraction de l'huile essentielle sont représenté dans la figure N° 13 .



(1) (2) (3) (4) (5)
Figure 13 : Extractions d'huile essentielle, 1 : Les feuilles de *Pistacia lentiscus* dans l'alambic, 2 : L'alambic , 3 : Ampoule de décanter , 4 : Mélange de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *Pistacia lentiscus* , 5 : Huile essentielle de *Pistacia lentiscus* (**prise personnelle**)

4.1.1. Calcul du rendement

Le rendement de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur est exprimé en pourcentage, et calculé par la formule suivante (Stanojevic et al., 2009) :

$$\text{RHE (\%)} = \text{PH} / \text{Pv} \times 100$$

RHE (%) : rendement de l'huile essentielle en %.

PH : poids de l'huile essentielle en g.

Pv : poids de la plante en g.

5. Préparation d'extrait hydro-méthanolique

La préparation d'extrait hydro-méthanolique a été réalisée selon la méthode décrite par **Cherbal et al (2012)**, adaptée selon les moyens disponibles.

- Les feuilles séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique afin d'obtenir une poudre fine, puis la poudre de la plante a été conservée dans des petits sacs en papier kraft.
- Le tamisage de la poudre a été réalisé avec un tamis.
- 40 g de la poudre de la matière végétale ont été mesurés à l'aide d'un bécher et d'une balance.
- Dans une éprouvette graduée, 320 ml de méthanol ont été versés, et l'ajout a été poursuivi avec de l'eau distillée jusqu'à atteindre un volume total de 400 ml, en maintenant un rapport méthanol-eau de 80/20 (v/v).
- 40 g de la poudre de la matière végétale ont été ajoutés dans le mélange eau-méthanol.
- Le macérât a été versé dans un flacon de verre teinté, placé sur un agitateur magnétique, et laissé sous agitation continue à température ambiante pendant 72 heures.
- Après 72 heures, l'extrait hydro-méthanolique a été filtré avec du papier filtre Whattman n°3.

- Le filtrat a été concentré à 80°C jusqu'à siccité dans un évaporateur rotatif (Buchi Rotavapor R-114) pour donner un résidu solide et les extraits séchés ont été conservés à l'obscurité dans des boîtes pétries à 4°C avant analyse, comme représenté dans la **figure n°12** .

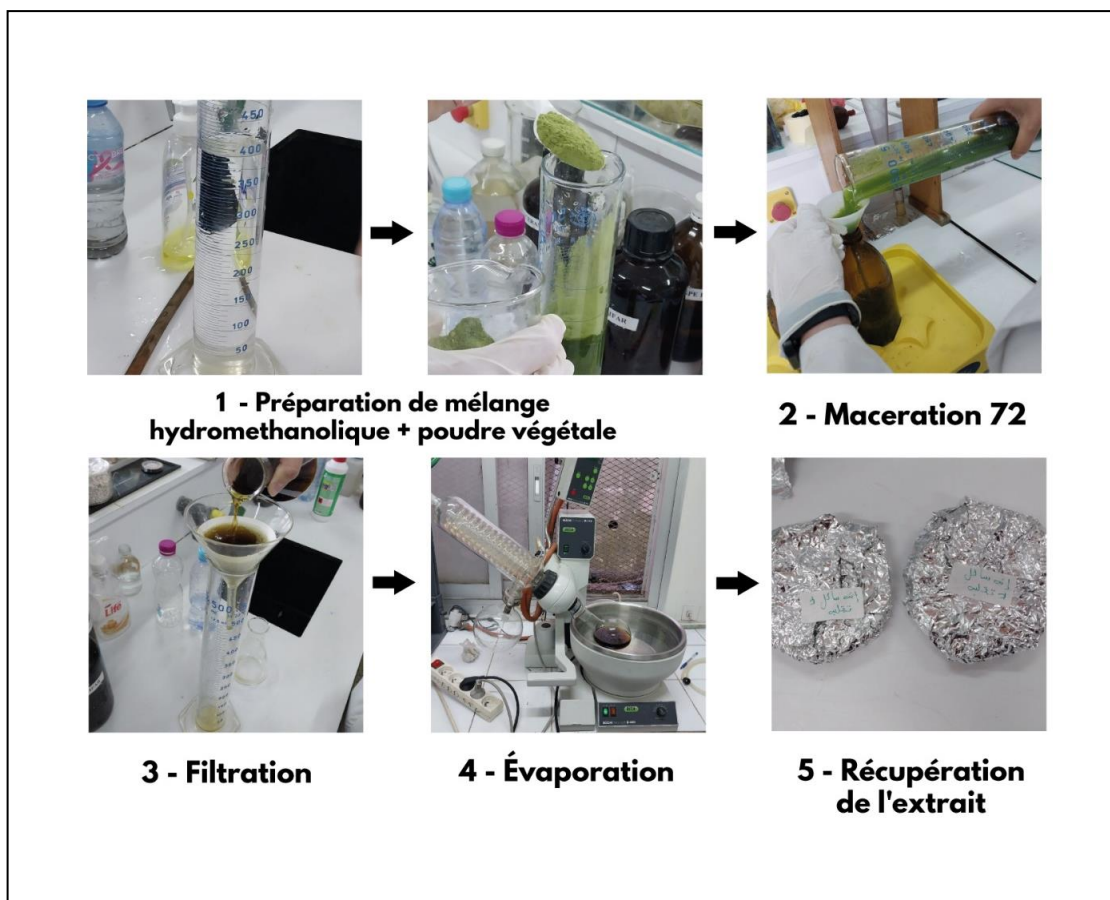


Figure 12 : Les étapes de Préparation d'extrait hydro-méthanolique (prise personnelle).

5.1.1. Calcul du rendement d'extrait hydro-méthanolique

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

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

P1 : le poids de l'extrait après évaporation.

P2 : le poids du matériel végétal sec.

II. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus*

1. Souches microbiennes

Pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*, trois souches bactériennes souvent résistantes provenant du laboratoire de microbiologie Hamrouch SKIKDA ont été utilisées. Il s'agit de *Klebsiella pneumoniae*,

Staphylococcus aureus et *Escherichia coli*, toutes d'origine urinaire, afin de tester l'activité antibactérienne. De plus, la levure *Candida albicans* provenant de laboratoire privé Bouhjila EL Harrouche, a été utilisée pour tester l'activité antifongique.

2. Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour la revivification et l'étude de l'activité antimicrobienne sont présentés dans le **tableau n°10**.

Tableau 10 : Les milieux de cultures utilisés dans l'activité antimicrobienne.

Milieux	Utilisation
Gélose Chapman : <i>Staphylococcus aureus</i>	Préparation des cultures jeunes
Gélose Hektoen : <i>Klebsiella pneumoniae</i> et <i>Escherichia coli</i>	
Gélose Sabouraud : <i>Candida albicans</i>	
Gélose Muller Hinton : Toutes les souches	Tests antimicrobiens

3. Les extraits testés

- Huile essentielle de *Pistacia lentiscus*
- Extraits hydro-méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*

4. Préparation des cultures jeunes

L'activité antimicrobienne doit être réalisée sur des souches microbienne jeunes en phase de la croissance exponentielle.

La réactivation des cultures a été effectuée par repiquage sur trois milieux de cultures favorables à leur croissance (Chapman pour *Staphylococcus aureus* ; Hektoen pour *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* ; Sabouraud pour *Candida albicans*). Après préparation, les milieux ont été coulés dans des boîtes de Pétri, puis incubés après l'ensemencement à 37°C pendant 18 à 24 heures.

5. Observation macroscopique

Selon les caractéristiques suivants :Couleur, opacité, taille, forme, relief, contour, surface et la forme des colonies.

6. Observation microscopique

Les souches microbiennes ont été observées sous microscope optique pour déterminer leur aspect microbiologique (objectif X 100). La coloration de Gram a été réalisée pour les souches bactériennes en parallèle avec d'autres tests confirmatifs.

6.1.1. La coloration de Gram

A. Principe

La coloration de Gram fut développée en 1884 par le bactériologiste Danois Hans Christian Gram. Il s'agit d'une des procédures de coloration les plus utiles car elle permet de classer les bactéries en deux grands groupes : les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif (**Tortora et al., 2010**).

B. Mode opératoire

Selon **Tortora et al., (2010)** :

- Une lame a été nettoyée à l'alcool, puis une goutte d'eau a été déposée sur la lame.
- À l'aide d'une pipette Pasteur, une colonie a été prélevée puis délicatement mélangée dans la goutte d'eau. Ensuite, la lame a été passée 3 fois dans la petite flamme (veilleuse) du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.
- Quelques gouttes de solution du violet de Gentiane (cristal violet) ont été déposées sur le frottis fixé et laissées agir pendant 1 minute.
- Ensuite, la lame a été brièvement rincée en faisant couler de l'eau sur la lame au-dessus du frottis (pas directement sur le frottis).
- Puis quelques gouttes de Lugol ont été déposées sur le frottis. Après 1 minute, il a été décoloré avec de l'alcool (pendant 5 à 10 secondes) puis rincé de nouveau avec de l'eau.
- Ensuite, la Fuchsine (Safranine) a été déposée pendant 1 minute, puis la lame a été rincée une dernière fois avec de l'eau avant de passer à l'observation microscopique (grossissement 100x ou, avec une goutte d'huile à immersion).

Les étapes de la coloration de gram sont représenté dans **la figure n°14** .

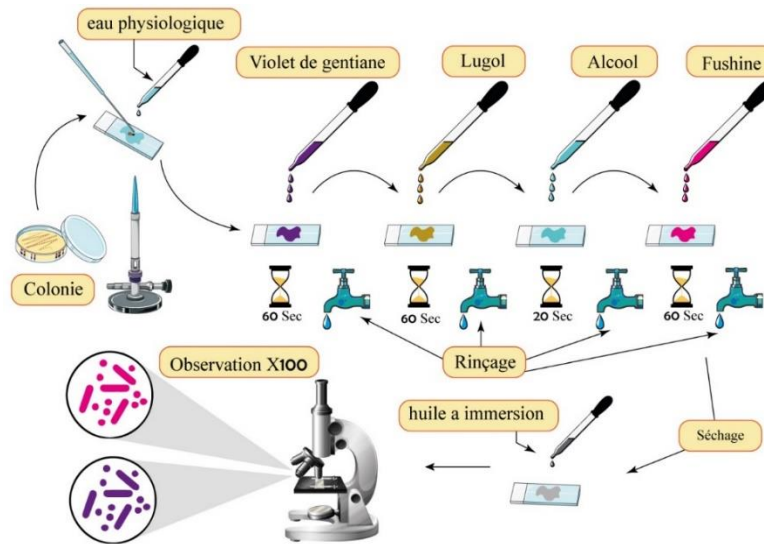


Figure 14 : Les étapes de la coloration de Gram.

6.1.2. Coloration simple

La coloration simple a été réalisée pour la souche fongique *Candida albicans*.

A. Principe

Une coloration simple est une solution aqueuse ou alcoolique d'un seul colorant basique. Bien que différents colorants se fixent spécifiquement sur différentes parties des cellules, le but principal d'une coloration simple est de mettre en évidence l'ensemble du microorganisme de manière à ce que les formes cellulaires et les structures de base soient visibles. Certaines des colorations simples couramment utilisées en laboratoire sont le bleu de méthylène, le carbol fuchsin, le violet de cristal et la safranine (Tortora *et al.*, 2010).

B. Mode opératoire

Selon Tortora *et al.*, (2010) :

- À l'aide d'une anse de platine, une colonie bien isolée de la levure a été prélevée et mise sur une lame contenant une goutte d'eau qu'on avait déjà préparée.
- Ensuite, la colonie a été diluée dans l'eau, puis la lame a été passée à la chaleur du bec pour fixer le frottis avant d'ajouter quelques gouttes de bleu de méthylène.
- Enfin, on a procédé directement à l'observation microscopique avec un grossissement de X100.

7. Préparation de l'inoculum

Pour préparer l'inoculum, trois à cinq colonies similaires bien isolées de chaque souche ont été déchargées dans des écouvillons stériles contenant 5 ml d'eau physiologique stérile (0,9%).

Ensuite, la suspension bactérienne a été bien homogénéisée jusqu'à ce que son opacité soit équivalente à 0,5 McFarland, (Fertout-Mouri et al., 2017). L'inoculum devait être ensemencé dans les 15 minutes suivant sa préparation.

8. Antibiogramme

A. Mode opératoire

Les antibiogrammes ont été réalisés en utilisant quatre antibiotiques **tableau n°11**. Les tests ont été effectués sur le milieu Mueller-Hinton.

Tableau 11 : Les antibiotiques utilisés (site web1).

Nom	Abréviation	Famille	Charge
Co-Trimoxazole	COT 25	Diaminopyrimidines	25 (23.75/1.25) mcg/ disque
Le Chloramphénicol	C 30	Phénicolés	30 mcg/disque
L'Acide fusidique	FC 10	Fusidanines	10 mcg/disque
L'Amikacine	Ak 30	Aminoglycosides ou aminosides	30 mcg/disque

Ensemencement : Les suspensions bactériennes ont été ensemencées à l'aide des écouvillons stériles, et les disques antibiotiques ont été déposés sur la surface du gélosé solidifié.

Incubation : Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures. Les résultats ont été interprétés en fonction de la taille des zones d'inhibition de la croissance bactérienne autour des disques antibiotiques.

La lecture : (CA-SFM, 2022)

- Résistante < 8 mm
- Sensible 9 mm – 14 mm
- Très sensible 15 mm – 19 mm
- Hyper sensible > 20 mm

9. Huile essentielle

9.1.1. Aromatogramme

A. 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**).

B. Mode opératoire

Selon **Arabi, (2018)**.

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 , comme représenté dans **la figure n ° 15**.

Ensemencement : On trempe un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, on l'essore 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 striures serrées de haut en bas. Cette opération est répétée deux fois en tournant la boîte de Petri 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.

Note : on réalise la même méthode pour l'huile essentielle pure.

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.

Un contrôle négatif a été effectué en déposant 5 µl de DMSO sur des disques déposés sur un milieu préalablement inoculé avec la culture bactérienne testée.

Chaque essai a été réalisé en deux répétitions.

La lecture : des résultats 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).

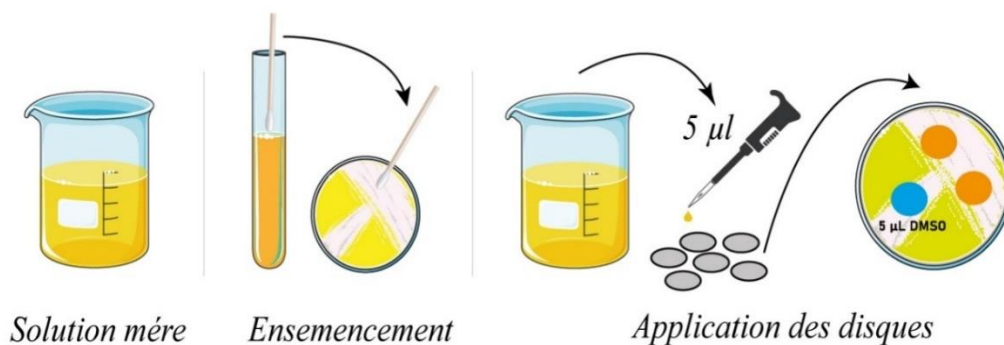


Figure 15 : Méthode de Détermination des diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle.

9.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

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'huile essentielle avec le DMSO selon le protocole créé par (Abed, 2018) comme représenté dans la figure n° 16. La concentration de chaque dilution est exprimée dans le tableau n°12.

Tableau 12 : Volumes et concentration des différents dilutions de l'huile essentielle.

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

0,15 ml huile 0,06 ml huile 0,03 ml huile
1,35 ml DMSO 1,44 ml DMSO 1,47 ml DMSO

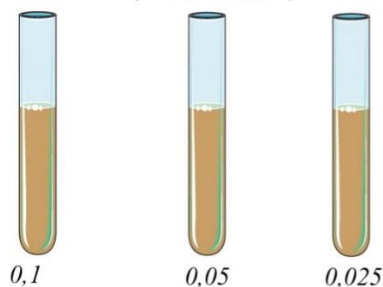


Figure 16 : Les dilutions de l'huile essentielle.

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 sont ensemencées 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 concentration minimale inhibitrice (CMI) est représentée dans les boîtes qui ne contenaient pas de culture.

10. Extrait hydro-méthanolique

10.1.1. Diffusion en disque

Selon **Bakli**, (2020) :

Préparation de solution : On a préparé une solution mère contenant 1000 µl de DMSO et 200 µl d'extrait. On a préparé des boîtes de Pétri en versant 20 ml de gélose Mueller Hinton (MH), qu'on a laissé solidifier et sécher pendant 30 minutes, comme illustré dans **la figure n° 17**.

Ensemencement : on ensemence les suspensions microbiennes standardisées à l'aide des écouvillons stériles.

Application des disques : On a imprégné des disques de papier Wattman n°03 stérilisés de 6 mm de diamètre avec 10 µl et 20 µL de solution mère pour obtenir des concentrations respectives de 2 et 4 mg/disque, puis on les a déposés sur la gélose. On a préparé également des boîtes contenant des disques imprégnés de 5 µL d'extrait hydro-méthanolique pure.

On a utilisé des disques imprégnés de DMSO comme témoins négatifs dans les mêmes conditions.

Incubation : On a lu les résultats après la diffusion des extraits à 4°C pendant 3 heures, suivie d'une incubation de 24 heures à 37°C. Chaque essai est réalisé en deux répétitions.

La lecture : des résultats 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).

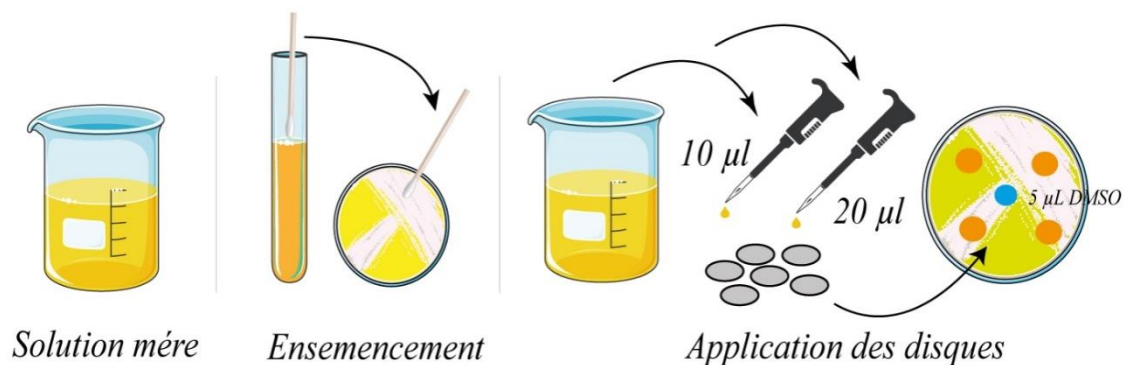


Figure 17 : Méthode de détermination des diamètres des zones d'inhibition d'extrait.

10.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Selon Bakli sabrina, (2020)

Préparations des dilutions de l'extrait hydro-méthanolique : Parallèlement à celle de l'essentielle, on a réalisé une série de dilutions de l'extrait hydro-méthanolique avec le DMSO en suivant la méthode de dilution deux en deux. On a commencé par verser 1 ml de l'extrait dans un tube et on a ajouté 1 ml de DMSO. Ensuite, on a pris 1 ml de ce mélange et on l'a introduit dans un tube contenant 1 ml de DMSO pour obtenir la première dilution 1/2. On a continué avec la même méthode pour obtenir les dilutions 1/4 et 1/8. Comme présenté dans la figure n° 18

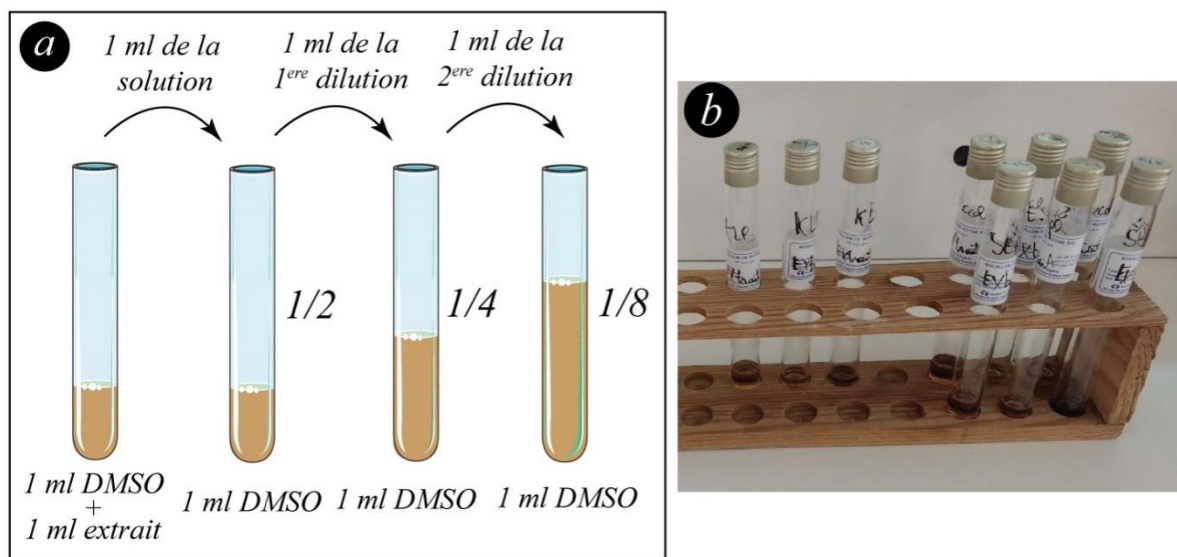


Figure 18 : Les dilutions d'extrait hydro-méthanolique.

Les trois dilutions de l'extrait hydro-méthanolique ont été utilisées pour préparer des géloses Mueller-Hinton à différentes concentrations d'extrait. La technique consiste à mélanger les différentes dilutions 1 ml de l'extrait avec le milieu de culture gélosé préalablement fondu et maintenu en surfusion à 45°C - 50°C , comme illustré dans la figure n° 19 .

L'ensemencement : a été effectué à l'aide d'écouvillons stériles imbibés de suspensions bactériennes.

La lecture : des résultats a été effectuée après 24 heures d'incubation à 37°C pour les souches microbiennes.

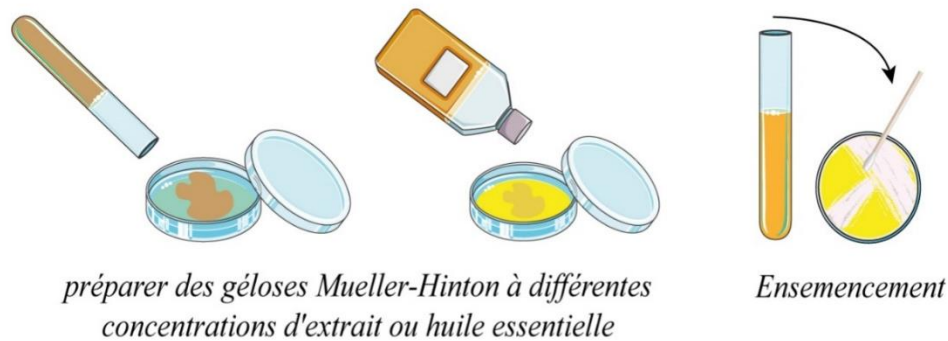


Figure 19 : Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

❖ L'utilisation de DMSO


L'huile essentielle et l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* sont testés contre quatre souches microbiennes d'origine clinique afin de déterminer leur potentiel bioactif. Pour cela, ils sont dissous dans du DMSO, un solvant choisi en raison de sa capacité à dissoudre tous les extraits polaires et apolaires. Un témoin, sans extrait ni huile, est réalisé pour chaque souche, et aucune activité inhibitrice du DMSO n'est observée dans notre étude, suggérant que l'activité observée est uniquement due aux extraits en question.

Résultats et Discussion

1. Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus*

Nous avons noté l'aspect, l'odeur et la couleur de l'huile essentielle de la plante étudiée. Les constatations sont représenté dans le **tableau n°13**.


Tableau 13 : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus*.

Aspect	Liquide
Couleur	Jaune clair à brun
Odeur	Intense, l'odeur caractéristique de la plante
Image	

2. Les caractéristiques organoleptiques de l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus*

L'extrait hydro-méthanolique est préparé par macération à partir de la poudre de feuilles de *Pistacia lentiscus*. Les caractéristiques organoleptiques constatées sont représentées dans le **tableau n°14**.

Tableau 14 : Les caractéristiques organoleptiques de l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus*.

Aspect	Liquide
Couleur	Marron foncé
Odeur	L'odeur caractéristique de la plante
Image	

3. Le rendement de l'extrait hydro-méthanolique et l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus*

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).

Dans notre cas, avant de procéder à l'extraction, nous avons d'abord séché le matériel végétal à l'air libre et à l'abri de la lumière, comme préconisé par Benhammou (2007), afin d'éviter la dégradation

de certains composés phénoliques sous l'effet des hydrolases qui peuvent être présentes dans le matériel végétal frais.

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

$$\begin{aligned} \text{Rendement} &= (P1 / P2) \times 100 \\ &= \mathbf{58,08 \%} \end{aligned}$$

P1 : le poids de l'extrait après évaporation.

P2 : le poids du matériel végétal sec.

Le rendement de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur est exprimé en pourcentage, et calculé par la formule suivante (Stanojevic et al., 2009) :

$$\begin{aligned} \text{RHE (\%)} &= PH / P_v \times 100 \\ &= \mathbf{3,125\%} \end{aligned}$$

RHE (%) : rendement de l'huile essentielle en %.

PH : poids de l'huile essentielle en g.

P_v : poids de la plante en g.

3.1.1. Huile essentielle

Le rendement d'huile essentielle de notre étude est de **3,125 %**. Cette valeur est élevée, ce qui peut s'expliquer par la quantité relativement importante que nous avons utilisée (80 kg).

Selon (Costa et al., 2003) la production des huiles essentielles et aromatiques à partir de la plante résulte d'une série de régulations physiologiques, biochimiques, métaboliques et génétiques.

Nos résultats ne concordent pas avec les résultats obtenus par Benhammou et al. (2006) et Haloui et al. (2015), qui ont respectivement obtenu **0,16 %** et **0,5 %**. Cela peut s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment l'espèce, la région de récolte, la période de récolte, les facteurs climatiques et la technique d'extraction (Hafsé et al., 2013).

3.1.2. Extrait hydro-méthanolique

L'obtention des composés phénoliques à partir de la matière végétale est une étape essentielle pour valoriser ces principes actifs. La réussite de cette étape dépend du choix adéquat du solvant et de la méthode appropriée qui permettent de préserver leurs propriétés biologiques (Mahmoudi et al., 2013).

Selon **Pinelo et al. (2005)** et **Spigno et al. (2007)**, la granulométrie de la poudre est un paramètre important, car la réduction de la taille des particules augmente la surface de contact avec le solvant.

L'utilisation du méthanol à 80% pour l'extraction a conduit à un taux d'extraction supérieur, ce qui peut s'expliquer par le fait que les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires, facilitant ainsi l'extraction d'un plus grand nombre des molécules ayant des polarités moyennes et faibles, ainsi que des molécules polaires (**Seidel, 2005**).

Le rendement de l'extrait hydro-méthanolique obtenu dans notre étude est de **58,08 %**, indiquant un taux élevé des composés phénoliques issus des feuilles de *P. lentiscus*. Nos résultats concordent avec ceux de **Cherbal et al. (2012)**, qui ont obtenu un rendement de **44,58 %** avec l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*. En revanche, nos résultats ne concordent pas avec ceux obtenus par **Hemma et al. (2018)**, qui ont obtenu le rendement le plus élevé de **16,59 %** à partir de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de la même espèce.

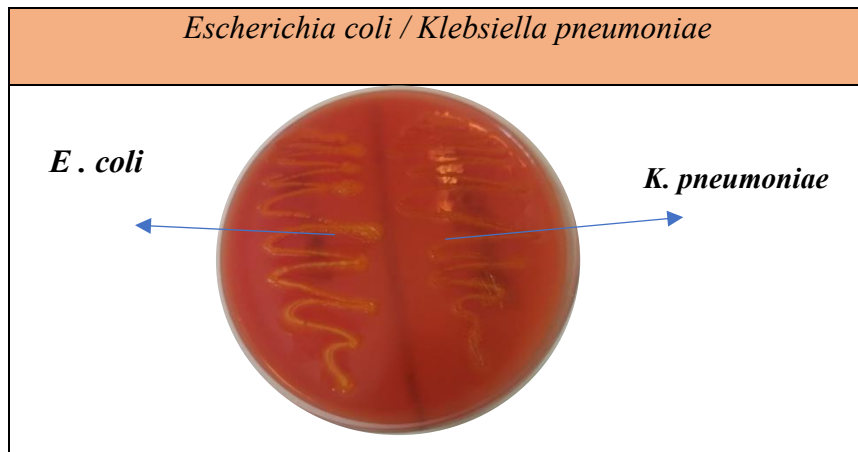
4. Caractérisation macroscopique des souches étudiées

L'observation des boîtes de Pétri a été effectuée à l'œil nu dans un endroit lumineux. Les résultats sont présentés dans **les tableaux n° 16 et 17**.

Tableau 16 : La caractérisation macroscopique des souches étudiées.

Bactérie	Couleur	Opacité	Taille	Forme	Relief	Contour	Surface
<i>Staphylococcus aureus</i>	Jaune Doré	Non	Petite	Graine de Semoule	Semi-Bombé	Régulier Bien arrondie	Lisse
<i>Escherichia coli</i>	Jaune	Non	Petite	Circulaire	Semi-Bombé	Régulier	Lisse
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Jaune Orange	Non	Petite	Circulaire	Semi-Bombé	Régulier	Lisse
<i>Candida albicans</i>	Blanche	Non	Petite	Circulaire	Convexe	Régulier	Lisse

Tableau 17 : Observations macroscopiques des souches testées.



5. Caractérisation microscopique des souches étudiées

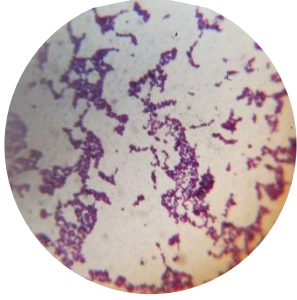
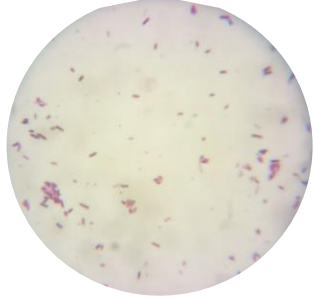
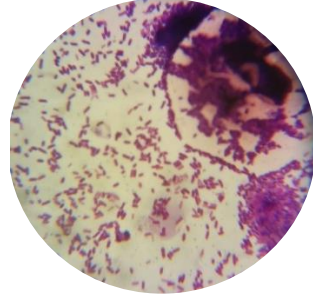
5.1.1. Les bactéries

L'observation est réalisée à l'aide d'un microscope optique (avec le grossissement $\times 100$) pour la coloration de Gram. Les résultats sont présentés dans les **tableaux n° 18 et 19** .

Tableau 18 : La Caractérisations microscopiques des souches étudiées.

Bactérie	Gram	Forme
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	Coccus en grappe de raisin
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	Coccobacille
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Négatif	Bacilles

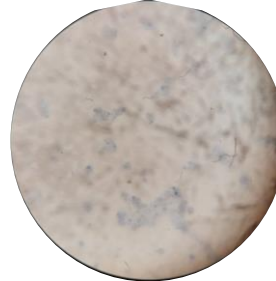
Tableau 19 : Observations microscopiques (×100) des souches testées.

Gram positive	Gram négative	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
		

5.1.2. La levure

L'observation est réalisée à l'aide d'un microscope optique (avec le grossissement ×100) pour la coloration simple de *Candida albicans*. Les résultats sont présentés dans le **tableau n°20** .

Tableau 20 : *Candida albicans* sous microscope après coloration simple.

Forme	Image
Levure ovale	

6. Antibiogramme

Les résultats de l'antibiogramme montrent que la bactérie à Gram positif *Staphylococcus aureus* et les bactéries à Gram négatif *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* ont montré des sensibilités différentes aux antibiotiques standards testés : Amikacin, Co_Trimoxazole, chloromphénicol, et l'acide fusidique. Les résultats sont présentés dans les **tableaux n° 21 et 22**.

Tableau 21 : Photos représentatives des résultats d'antibiogramme.

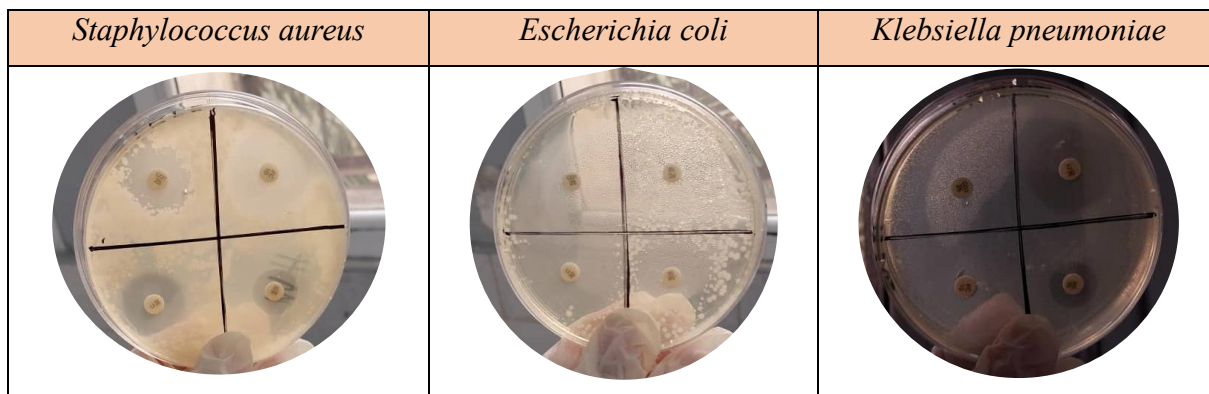


Tableau 22 : Les diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques en (mm).

Souches	C 30	Résultat	AK 30	Résultat	Fc 10	Résultat	Cot 25	Résultat
<i>Staphylococcus aureus</i>	22	HS	15	TS	30	HS	23	HS
<i>Escherichia coli</i>	40	HS	28	HS	6	R	45	HS
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	35	HS	25	HS	6	R	6	R

HS = Hyper sensible ,TS = Très sensible , R = Résistante

La lecture : (CA-SFM, 2022)

- Résistante < 8 mm
- Sensible 9 mm – 14 mm
- Très sensible 15 mm – 19 mm
- Hyper sensible > 20 mm

Staphylococcus aureus est très sensible à AK 30 avec un diamètre d'inhibition de 15 mm, et elle est considérée comme hypersensible à C 30, Cot 25 et FC 10, avec des diamètres de zones d'inhibition mesurant respectivement 22 mm, 23 mm et 30 mm.

Par ailleurs, *Escherichia coli* est hypersensible au Cot 25, C30 et AK 30, avec des zones d'inhibition mesurant respectivement 45 mm, 40 mm et 28 mm. Or, elle est résistante pour Fc 10.

Pour *Klebsiella pneumoniae*, elle a montré une hypersensibilité vis-à-vis de C30 et AK30 avec des diamètres mesurant respectivement 35 mm et 25 mm, tandis qu'elle est résistante pour CoT 25 et FC 10.

Le mécanisme d'action des agents antimicrobiens peut être catégorisé selon leur mode d'action, comprenant généralement les éléments suivants : l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire ou de la synthèse d'acides nucléiques, l'inhibition de la fonction des ribosomes ou de la fonction de la membrane cellulaire, ainsi que l'inhibition du métabolisme des folates (**Dowling et al. 2017**).

L'amikacine est un antibiotique qui se lie à la sous-unité 30S du ribosome, provoquant une erreur de lecture du code génétique lors de la traduction des protéines. Cela perturbe la synthèse protéique des bactéries pathogènes (**Yalcouye, 2020**). Le co-trimoxazole bloque la synthèse de l'acide folique en interférant avec les enzymes essentielles à cette voie métabolique, nécessaire à la multiplication des bactéries (**Jacry, 2021**).

Selon **Yalcouye (2020)**, l'acide fusidique est un inhibiteur de la synthèse protéique qui agit en interférant avec le facteur d'élongation G (EF-G). Cela perturbe le processus d'élongation de la protéine dans les bactéries, entraînant ainsi une inhibition de leur croissance. Le chloramphénicol se fixe sur le ribosome des cellules bactériennes, inhibant ainsi la synthèse protéique des bactéries pathogènes (**site web 1**).

7. L'activité antimicrobienne de *Pistacia lentiscus*

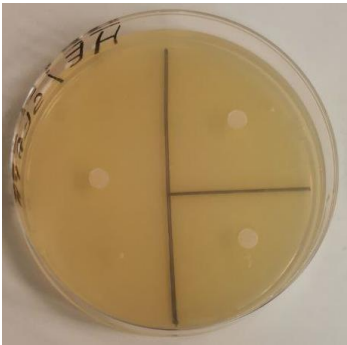

Les méthodes de diffusion sur disque sont largement utilisées pour étudier l'activité antibactérienne des substances antimicrobiennes naturelles et des extraits de plante (**Gülçin et al., 2004**). La méthodologie de la CMI est largement utilisée et elle est un critère accepté pour mesurer la sensibilité des organismes aux inhibiteurs (**VanVuuren, 2008**).

7.1.1. Huile essentielle

7.1.1.1.1. Aromatogramme

Les résultats de l'aromatogramme sont représentés dans le **tableau n°23**.

Tableau 23 : L'aromatogramme des souches testés

Souche	Huile dilué	Pure
<i>Staphylococcus aureus</i>		

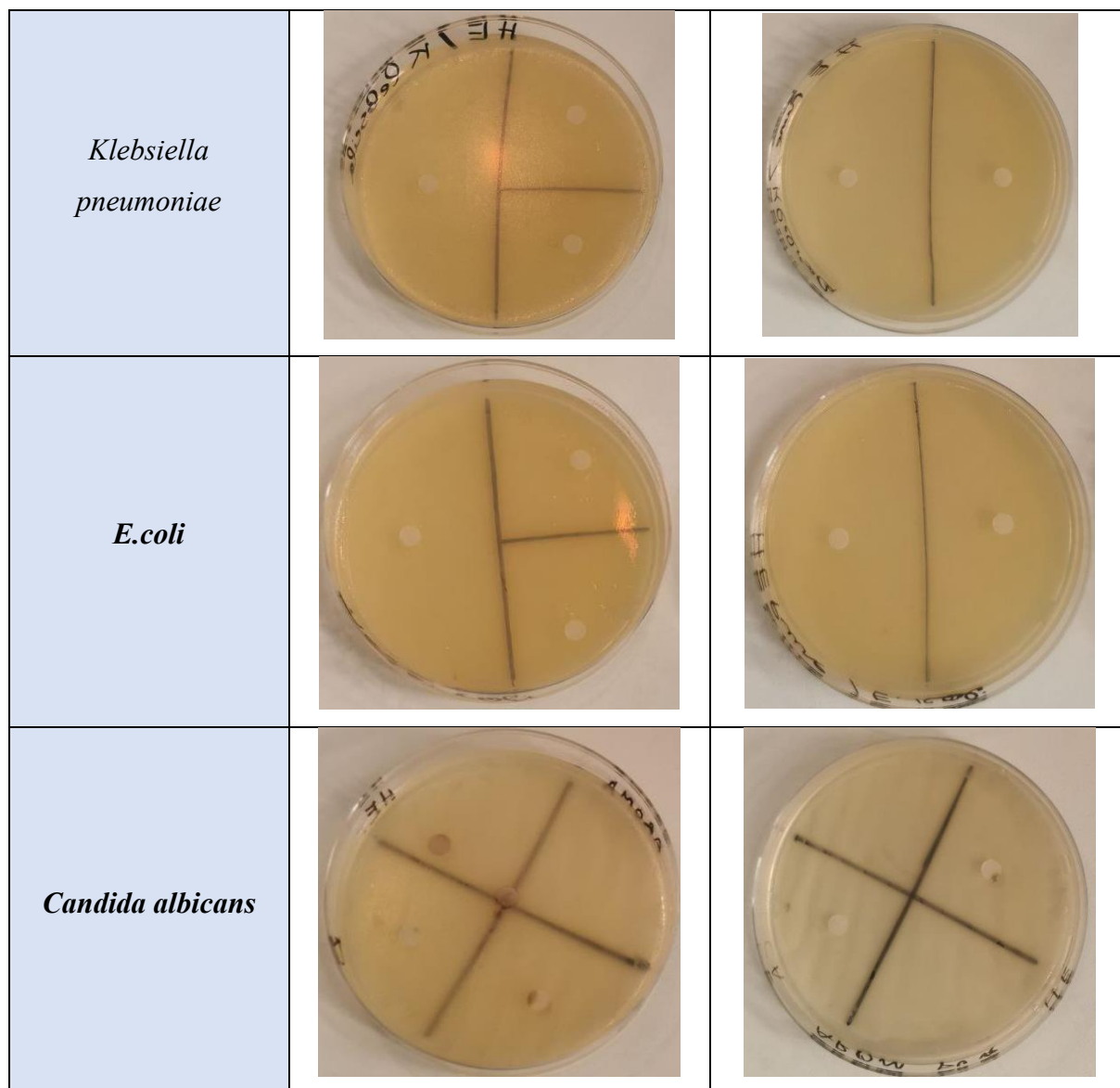


Tableau 24 : Les diamètres des zones d'inhibition de l'aromatogramme huile en (mm).

	Moyennes des deux disques de HEd	Résultat	HEp	Résultat	DMSO	Résultat
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	S	6	R	6	Ø
<i>Escherichia coli</i>	6	R	6	R	6	Ø
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	R	6	R	6	Ø
<i>Candida albicans</i>	7	R	8	R	6	Ø

R = Souche résistante, **S** = Souche sensible, **Ø** = Aucun effet, **HEp** = Huile essentielle pure, **HEd** = Huile essentielle diluée, **DMSO**=Diméthylsulfoxyde.

La lecture : des résultats 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) .

L'huile essentielle diluée (HEd) et l'huile essentielle pure (HEp) ont montré des effets différents sur les quatre souches cliniques testées. En effet, l'HEd à une activité plus importante seulement contre la souche *Staphylococcus aureus*, par rapport à *E.coli* et *Klebsiella pneumoniae* et *Candida albicans*.

Il semble que l'huile essentielle diluée de *Pistacia lentiscus* présente un certain degré d'activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*. Le diamètre moyen de la zone d'inhibition autour des deux disques est de 11 mm. Cependant, aucune inhibition n'est observée avec l'huile essentielle pure. Cela signifie que *S. aureus* est sensible à l'huile essentielle diluée et résistant à l'huile essentielle pure.

En revanche, aucune inhibition n'est observée avec l'huile essentielle diluée ou pure contre les souches de Gram négatif *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Le diamètre moyen des zones d'inhibition autour des deux disques est de 6 mm. Cela signifie que les souches sont résistantes à l'huile essentielle.

Enfin, l'huile essentielle diluée de *Pistacia lentiscus* présente une activité antimicrobienne modérée contre *Candida albicans*. Le diamètre moyen de la zone d'inhibition autour des deux disques est de 7 mm, tandis que l'huile essentielle pure a une zone d'inhibition mesurant 8 mm. Cela indique la résistance de cette souche.

Nos résultats concernant l'huile essentielle diluée ne concordent pas avec celle de **Abed (2018)** qui montre que l'huile essentielle diluée de *Pistacia lentiscus L.* a révélé une forte activité inhibitrice contre *S.aureus* et *E.coli* avec des zone d'inhibition mesurent respectivement 23.54 mm , 24.71 mm .

Néanmoins, nos résultats concernant l'huile essentielle pure ne concordent pas de ceux de **Hemma (2019) et Benhammou (2009)**, qui montrent que l'ensemble des souches à Gram négatif sont moins sensibles à l'huile essentielle de *P. lentiscus* par rapport aux souches à Gram positif.

7.1.1.1.2. Concentration minimale inhibitrice

Les résultats de la CMI de l'huile essentielle sont représentés dans le **tableau n° 25**.

Tableau 25 : Les résultats de la CMI huile.

Concentrations (V/V)	0,01	0,004	0,002
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	-
<i>Escherichia coli</i>	+	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	-
<i>Candida albicans</i>	-	+	+

- Absence de croissance, + présence de croissance

Des résultats intéressants sont obtenus suite à l'évaluation de la Concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* testée vis-à-vis des souches cliniques telles que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Candida albicans*. Les résultats sont mentionnés dans le Tableau 25.

Les dilutions utilisées pour l'huile essentielle sont de 0,01 ; 0,004 et 0,002. On remarque que la concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle pour les souches bactériennes *Staphylococcus aureus*, *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* est de 0,002. Toutefois, pour la souche fongique *Candida albicans*, la concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle est de 0,01.

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**).

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Abed (2018)** qui indiquent que les souches de Gram positif et négatif ont été inhibées à une concentration de (0.002). Notamment les résultats de l'antibiogramme **Abed (2018)** montrent que pour *Staphylococcus aureus* est sensible pour l'Amikacin et Co_Trimoxazole et résistante pour l'acide fusidique, et que *Escherichia coli* est sensible à l' Amikacin et résistante aux Co_Trimoxazole.

Il apparaît que la bactérie Gram positif *Staphylococcus aureus* est la plus sensible par comparaison avec les autres souches Gram négatif, ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif.

Selon **Prescott (2003)**, la structure de la paroi cellulaire des bactéries diffère selon leur classification Gram positif ou Gram négatif. Les bactéries Gram positif ont une paroi cellulaire formée d'une seule couche de peptidoglycanes, qui est accompagnée de polymères d'acides teichoïques. Par contre, les bactéries Gram négatif ont une paroi plus complexe. La couche de

peptidoglycane de ces dernières est plus fine que celle des bactéries Gram positif, et elle est recouverte d'une membrane externe composée de lipopolysaccharides et de lipoprotéines.

Cette différence de sensibilité entre Gram+ et Gram- est probablement associée à leurs structures membranaires. Les bactéries à Gram négatif sont généralement plus résistantes à cause de la réduction de la perméabilité de leur membrane externe entourant la paroi cellulaire. En effet, cette membrane externe de nature polysaccharidique favorise la résistance aux agents antimicrobiens hydrophobes (**Shan et al., 2007**).

Selon **Abed et al, (2017)** , le α -pinène (42,13%) est le composé principal de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* étudiée. Plusieurs auteurs ont signalé que les huiles essentielles riches en α -pinène ont démontré une activité antibactérienne potentielle. Naturellement, l'efficacité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* est due à plusieurs de ses composants qui agissent de manière synergique. Les modes d'action des huiles essentielles et de leurs principaux constituants, décrits jusqu'à présent, semblent tous affecter la paroi ou la membrane cytoplasmique (**Guinoiseau, 2010**).

L'activité antibactérienne d'huile essentielle de *P. lentiscus* était principalement attribuée aux terpènes et à la possible synergie entre leurs constituants, caractérisant ainsi le chimiotype des huiles essentielles. Selon **Milia et al (2020)**, les hydrocarbures monoterpéniques , α -pinène, limonène et myrcène figuraient parmi les fractions les plus représentées des huiles essentielles de *P. lentiscus*, montrant une activité antibactérienne dans les études rapportées.

Selon **Yoo et Jwa (2018)**, l'activité bactéricide des sesquiterpènes était attribuée à l'inhibition de l'enzyme glucosyltransférase de la paroi cellulaire bactérienne **Stojanovićradić et al. (2012)** ont montré que les sesquiterpènes provoquant des effets de dommage membranaire sous forme d'augmentation de la perméabilité membranaire, ce qui entraîne l'autolyse cellulaire. Les mêmes auteurs ont également suggéré que les sesquiterpènes possédaient d'autres mécanismes bactéricides tels que la transduction d'énergie (réserve d'ATP, potentiel membranaire, gradient de pH à travers la membrane cytoplasmique ou gradient de potassium) ou les processus de synthèse à l'intérieur des bactéries (**Rguez,2023**). L'huile essentielle du lentisque présente une activité antifongique contre *Candida albicans* qui est attribuée à l' α -terpinéol et au terpinèn-4-ol (**El Idrissi et al.,2016**).

7.1.2. Extrait

7.1.2.1.1. Diffusion en disque

Les résultats de la diffusion en disque sont représentés dans le tableau 26 et le tableau 27

Tableau 26 : Les résultats de la diffusion en disque des souches testés


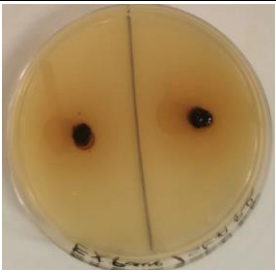

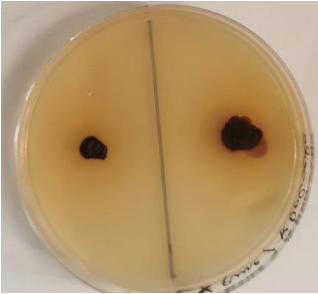
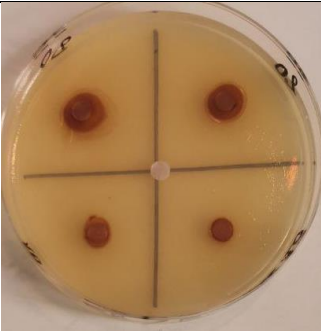

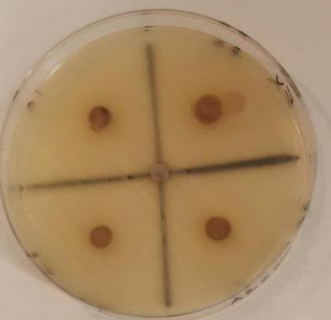
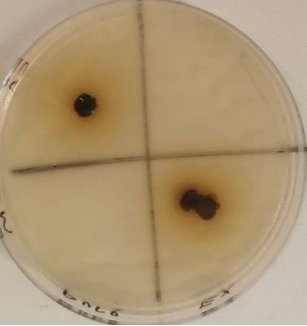
Souche	Extrait dilué	Pure
<i>Staphylococcus aureus</i>		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
<i>E-coli</i>		
<i>Candida albicans</i>		

Tableau 27 : Les diamètres des zones d'inhibition de diffusion des disques de l'extrait en (mm).

Extrait/souche microbienne	Ed 2 mg/disque	Résultat	Ed 4 mg/disque	Résultat	Ep	Résultat	DMSO	Résultat
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,5	R	15,5	TS	12,5	S	6	Ø
<i>Escherichia coli</i>	14	S	07	R	11	S	6	Ø
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11	S	8,5	R	10,5	S	6	Ø
<i>Candida albicans</i>	8	R	10	S	9,5	S	6	Ø

R = Résistante, **S** = Sensible, **Ø** = Aucun effet, **TS** = Très sensible **Ed** = Extrait dilué, **Ep** = Extrait pure.

La lecture : des résultats 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).

Pour *Staphylococcus aureus* est très sensible à la concentration de 4 mg/disque avec une zone d'inhibition de 15,5 mm, tandis qu'elle résistante a la concentration de 2 mg/disque avec une zone d'inhibition mesurant 6,5 mm, et elle est sensible à l'extrait pure qui produit une zone d'inhibition de 12,5 mm.

Pour *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* sont résistantes à la concentration de 4 mg/disque avec des zones d'inhibition mesurant respectivement 7 mm, 8,5 mm, tandis que elles sont sensible à la concentration de 2 mg/disque avec des zones d'inhibition mesurant respectivement 14 mm, 11 mm, elles sont aussi sensible à l'extrait pure avec des zones d'inhibition mesurant respectivement 11 mm, 10,5 mm.

En ce qui concerne *Candida albicans*, nos résultat montrent qu'elle est résistante à la concentration de 2 mg/disque avec une zone d'inhibition mesurant 8 mm, contrairement elle est sensible à la concentration de 4 mg/disque et à l'extrait pure avec des zones d'inhibition qui mesurent respectivement 10 mm et 9,5 mm.

Dans le cas de cet extrait, l'augmentation de la charge du disque de 2 à 4 mg/disque s'est traduite par une augmentation significative des diamètres des zones d'inhibition.

Nos résultats concordent avec plusieurs études telles que celles de **Jalayer-Naderi et al. (2016)** et **Missoun et al. (2017)**, qui ont montré que les bactéries Gram négatif telles que *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* sont moins sensibles aux extraits méthanoliques de *P. lentiscus* par rapport aux bactéries Gram positif telles que *Staphylococcus aureus*. Toutefois, les résultats de **Bammou et al. (2015)**, ne montrent aucun effet de l'extrait méthanolique sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, seule *Staphylococcus aureus* révèle une légère sensibilité.

7.1.2.1.2. Concentration minimale inhibitrice

Les résultats de la CMI de l'extrait hydrométhanolique sont représenté dans **le tableau n°28**.

Tableau 28 : Les résultats de CMI de l'extrait hydro-méthanolique.

	1/2	1/4	1/8
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	+
<i>Escherichia coli</i>	-	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	+	+
<i>Candida albicans</i>	+	+	-

- Absence de croissance, + Présence de croissance

Les analyses des résultats montrent que l'extrait de *Pistacia lentiscus* présente une activité antimicrobienne acceptable.

On remarque que la concentration (1/4) est la concentration minimale inhibitrice de l'extrait hydro-méthanolique pour les souches bactériennes *S. aureus* et *E.coli*, d'autre part la concentration (1/2) est la concentration minimale inhibitrice pour *Klebsiella pneumoniae*. Or, la concentration (1/8) est la concentration minimale inhibitrice pour *C.albicans*.

L'extraction dans le méthanol révèle la présence des différents groupes de phytochimiques tels que les coumarines, les xanthones, les flavonols, les acides phénoliques et les flavones (**Missoun et al., 2017**). Les phénols simples et les acides phénoliques possèdent des activités antibactériennes (**Brantner et al., 1996**) dont le mécanisme d'action n'est pas bien connu, mais, il pourrait inclure une inhibition enzymatique, probablement à travers une réaction avec les groupes sulfhydriles ou des interactions non-spécifiques avec les protéines.

De plus, le nombre et la position des groupements hydroxyles sur le noyau aromatique pourraient être en relation avec leur toxicité relative sur les microorganismes (**Cowan, 1999**). Une

rapide oxydation le rend brun et peut facilement générer de nouveaux produits qui forment un complexe avec les protéines et inhibent l'activité enzymatique des bactéries (**Croteau et al 2000**).

❖ Remarque

Le noircissement des zones d'inhibition obtenu par l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lenticus* pourrait être due à une partie des tannins qui s'est irréversiblement combinée à d'autres polymères à cause de l'utilisation de feuilles sèches et notamment le non recours à la lyophilisation qui aurait débarrassé la solution aqueuse de ses pigments (**Bruneton,2009**).

CONCLUSION

CONCLUSION

Les plantes médicinales sont depuis longtemps utilisées à des fins thérapeutiques dans différentes cultures à travers le monde. Leur utilisation repose sur les propriétés biologiques des composés présents dans les plantes telle que l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne. De ce fait, notre étude porte sur *Pistacia lentiscus*, une plante appartenant à la famille des *Anacardiaceae*, choisie pour ses propriétés antimicrobiennes.

Le rendement de l'extrait hydro-méthanolique s'est avéré être de **58,08 %**, indiquant une teneur élevée en composés phénoliques dans les feuilles de *Pistacia lentiscus*. En revanche, le rendement de l'huile essentielle était de **3,125 %**, ce qui peut être attribué à la quantité relativement importante de matière végétale utilisée.

L'antibiogramme révèle que les souches testées dans notre travail sont sensibles à presque tous les antibiotiques utilisés.

L'activité antimicrobienne de *Pistacia lentiscus* a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion sur disque et de la concentration minimale inhibitrice (CMI). Les résultats ont révélé que l'extrait hydro-méthanolique et l'huile essentielle avaient des effets variables sur les souches testées. L'huile essentielle diluée a exercé une action inhibitrice légère sur *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, et faible sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Par contre l'huile essentielle pure ne montre aucune activité vis-à-vis de toutes les souches testées. Par ailleurs la CMI de l'huile essentielle pour les souches bactériennes *Staphylococcus aureus*, *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* est de (0,025). Tandis qu'elle est moindre pour la souche fongique *Candida albicans* (0,1).

L'extrait hydro-méthanolique dilué et pure ont montré une activité intermédiaire vis-à-vis *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Candida albicans*. Et une forte activité vis-à-vis *Staphylococcus aureus*. La concentration (1/4) est la CMI de l'extrait hydro-méthanolique pour les souches bactériennes *S. aureuse* et *E.coli* et que la concentration (1/2) est La CMI de l'extrait hydro méthanolique pour *Klebsiella pneumoniae*. Or, la concentration (1/8) est la CMI pour *Candida albicans*.

Pour la continuité de ce travail nous proposons de :

- Réaliser des tests sur un échantillon étendu de souches cliniques à la fois Gram positif et Gram négatif pour évaluer l'efficacité des extraits.
- Étudier d'autres activités biologiques telles que l'activité antivirale, antifongique, antiparasitaire et anticancéreuse des extraits.
- Caractériser et comparer les différents composants présents dans ces extraits testés.
- Approfondir les recherches phytochimiques et biologiques sur cette plante spécifique afin d'identifier et isoler les molécules responsables des activités observées.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Aafi, A., Taleb, M. S., & Fechtal, M. (2002). *Espèces remarquables de la flore du Maroc*. MCEF, Rabat, Maroc.
2. Abdelkader, H., Nadia, K., & Salima, B. (2016). *Chemical composition and antioxidant potential of Pistacia lentiscus L. essential oil from Oran (Algeria)*. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 7(12), 539.
3. Abed Arabi. Rachid, Djibaoui . Malihac ,Catherine. et al. ,(2017). *Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from leaves and twigs of Pistacia lentiscus growing in Mostaganem Province (Algeria)*. *International Journal of Biosciences*, Vol. 10, No. 5, p. 146-158.
4. Abed Arabi.(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.
5. Ait Mohand, B., El Antari, A., & Benkhalti, F. (2020). *Chemical composition of Pistacia lentiscus seeds' oil from Moroccan high atlas mountain*. *Journal of Food Quality*, 2020, 1-5.
6. Ait Said , S (2011). *Strategies adaptatives de deux especes du genre pistacia (p. lentiscus l. et p. atlantica desf.) aux conditions d'altitude, de salinite et d'aridite: approches morpho-anatomiques, phytochimiques et ecophysiologiques. .* Thèse de doctorat. Universite Mouloud Mammeri.
7. Ali-Shtayeh, M. S., Yaghmour, R. M. R., Faidi, Y. R., Salem, K., & Al-Nuri, M. A. (1998). *Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area*. *Journal of Ethnopharmacology*, 60(3), 265-271.
8. Amara nacira , Benrima atika , Anba chahira , Belkhir houria (2019). *activité antimicrobienne de l'huile essentielle des fruits du pistachier lentisque (Pistacia lentiscus l.)*. *Revue Agrobiologia* (2019) 9(2): 1669-1676.
9. Amhamdi, H., & Elbachiri, A. Fatima Aouinti, Bouchra Imelouane, Mustapha Tahri, Jean Paul Wathelet. (2014). *New study of the essential oil, mineral composition and antibacterial activity of Pistacia lentiscus L. from Eastern Morocco*. *Research on Chemical Intermediates*, 40, 2873-2886.
10. Amhamdi, H., Aouinti, F., Wathelet, J. P., & Elbachiri, A. (2009). *Chemical Composition of the Essential Oil of Pistacia lentiscus L. from Eastern Morocco*. *Records of Natural Products*, 3(2).
11. Arab, K., Bouchenak, O., & Yahiaoui, K. (2014). *Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle et des composés phénoliques du pistachier lentisque (Pistacia lentiscus l.)*. *Journal of Fundamentals Applied Sciences*, 6(1), 79-93.

12. Bakli Sabrina,(2020) *Activité antimicrobienne, antioxydante et anticoccidienne des extraits phénoliques de quelques plantes médicinales locales*.Thèse de doctorat Université Ferhat Abbas Sétif .
13. Bammou, M., Daoudi, A., Slimani, I., Najem, M., Bouiamrine, E. H., Ibjibjen, J., & Nassiri, L. (2015). Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.»: Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of applied biosciences*, 86, 7966-7975.
14. Beghlal, D., El Bairi, K., Marmouzi, I., Haddar, L., & Mohamed, B. (2016). Phytochemical, organoleptic and ferric reducing properties of essential oil and ethanolic extract from *Pistacia lentiscus* (L.). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(4), 305-310.
15. Beghlal, D., El Bairi, K., Marmouzi, I., Haddar, L., & Mohamed, B. (2016). *Phytochemical, organoleptic and ferric reducing properties of essential oil and ethanolic extract from Pistacia lentiscus* (L.). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(4), 305-310.
16. Belhadj, S. (1999). *Les pistacheraies algériennes: Etat actuel et dégradation*. Cahiers Options MED, 56, 107-109.
17. Ben Jemaa, J. M., Bachrouch, O., Hajlaoui, M. R., Sriti, J., Salem, N., Triki, O., ... & Abderraba, M. (2016). *Industrial applications of essential oil of Pistacia lentiscus L against the insects of wheat flour*. In *Annales de l'INRAT* (Vol. 89, pp. 144-146). Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie (INRAT).
18. Benabdallah, F. Z., Kouamé, R. O., El Bentchikou, M., Zellagui, A., & Gherraf, N. (2017). *Études ethnobotanique, phytochimique et valorisation de l'activité antimicrobienne des feuilles et de l'oléorésine du pistachier de l'atlas (Pistacia atlantica Desf.)*. *Phytothérapie*, 15(4), 222-229.
19. Benabid A, (2000). *Flore Et Écosystèmes Du Maroc: Évaluation Et Préservation De La Biodiversité* .Paris: Editions Ibis Press , 359 p.
20. Benhammou, N. (2006). *Etude des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles et des flavonoides de pistacia lentiscus, pistacia atlantica et inula viscosa de la région de Tlemcen*. Thèse de doctorat Université Abou Bekr Belkaïd. Faculté des Science.
21. Benhammou, N., & Bekkara, F. (2007). *Activité antibactérienne de l'huile essentielle de Pistacia lentiscus L. de deux stations de la région de Tlemcen (Algérie)*. Actes du congrès international des, 22-24.
22. Benhammou, N., Bekkara, F. A., & Panovska, T. K. (2009). *Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of Atriplex halimus*. *Comptes Rendus Chimie*, 12(12), 1259-1266.
23. Benkherara, S., Bordjiba, O., & Djahra, A. B. (2011). *Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale: Salvia officinalis L. sur quelques entérobactéries pathogènes*. Synthèse: *Revue des Sciences et de la Technologie*, 23, 80.

24. Bergogne-Bérézin, E, Eugénie et Brogard, Jean-Marie, (1999).. *Bases biologiques de l'antibiothérapie*. Masson.
25. Bilgen, A.M. (1968). Memleketimizde Bulunan Antepfistigi Anaclari ve Asilama Teknigi. Tarim Bakanligi Ziraat Isleri Genel Md. Yayin., Ankara,
26. Boelens, M. H., & Jimenez, R. (1991). *Chemical composition of the essential oils from the gum and from various parts of Pistacia lentiscus L.(mastic gum tree)*. Flavour and fragrance journal, 6(4), 271-275.
27. Bonnier, G., & Douin, R. (1934). *Flore complète illustrée en couleurs de France Suisse et Belgique*. Réédition 1990. La Grande Flore en couleurs avec Index.
28. Bougherara Merzougui, I. (2015). *Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait de Pistacia Lentiscus et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques*. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba.
29. Boukeloua, Ahmed. Belkhiri, Abdelmalik. Djerrou, Z. Bahri, L. Boulebda, N. & Pacha, Y. H. (2012). *Acute toxicity of Opuntia ficus indica and Pistacia lentiscus seed oils in mice*. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 9(4), 607-611.
30. Boulebda N., Belkhiri A., & Belfadel F., 2009. -*Dermal wound healing effect of Pistacia lentiscus fruits fatty oil* , Pharmacognosy Network Worldwide, 1:66–71.
31. Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2018). *Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries*. Phytothérapie, 16(S1), S173-S183.
32. Brantner, A., Maleš, Ž., Pepeljnjak, S., & Antolić, A. (1996). *Antimicrobial activity of Paliurus spina-christi Mill.(Christ's thorn)*. Journal Of ethnopharmacology, 52(2), 119-122.
33. Bruneton J., 2009. *Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales*, 4e éd., revue et augmentée, Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, 1288 p.
34. Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales* (No. 581.634 B7).
35. Bryskier, A. (1999). *Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques*. Ellipses.
36. Cahuzac-Picaud, M. (2010). *Les huiles végétales, intérêt diététique et gastronomique*. Phytothérapie, 8(2), 113-117.
37. 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(1), 79-88.
38. Cattoir, V., Denis, F., Martin, C., Ploy, M. C., & Poyart, C. (2016). *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. Elsevier Health Sciences.
39. Charef, M., Yousfi, M., Saidi, M., & Stocker, P. (2008). *Determination of the fatty acid composition of acorn (Quercus), Pistacia lentiscus seeds growing in Algeria*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 85, 921-924.

40. Cherbal, A., Kebieche, M., Madani, K., & El-Adawi, H. (2012). *Extraction and valorization of phenolic compounds of leaves of Algerian Pistacia lentiscus*. Asian Journal of Plant Sciences.
41. Costa, M., Nogueira, J. M. F., Miguel, M. G., & Romano, A. (2003). *In vitro mass clonal propagation of Dittrichia viscosa subsp. revoluta and analysis of its secondary metabolites*. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 78(3), 310-314.
42. Cowan, M. M. (1999). *Plant products as antimicrobial agents*. Clinical microbiology reviews, 12(4), 564-582.
43. Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R., & Wyllie, S. G. (2000). *The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil)*. Journal of applied microbiology, 88(1), 170-175.
44. Croteau, R., Kutchan, T. M., & Lewis, N. G. (2000). *Natural products (secondary metabolites)*. Biochemistry and molecular biology of plants, 24, 1250-1319.
45. Dasenaki, I., Betsi, P. C., Raptopoulos, D., & Konstantopoulou, M. (2022). *Insecticidal effect of Pistacia lentiscus (Anacardiaceae) metabolites against Lobesia botrana (Lepidoptera: Tortricidae)*. Agronomy, 12(4), 755.
46. De Lanfranchi, F., Bui Thi, M., & Girard, M. (1999). *La fabrication d'huile de lentisque (Linsticu ou chessa) en Sardaigne*. Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée, 41(2), 81-100.
47. Derwich E, Manar A, Benziane Z, Boukir A.(2010). *GC/MS Analysis and in vitro antibacterial activity of the essential oil isolated from leaf of pistacia lentiscus growing in Morocco*. World Applied Sciences Journal 8(10), 1267-1276.
48. Desnos-Ollivier, M., Bretagne, S., Raoux, D., Hoinard, D., Dromer, F., & Dannaoui, E. (2008). *Mutations in the fks1 gene in Candida albicans, C. tropicalis, and C. krusei correlate with elevated caspofungin MICs uncovered in AM3 medium using the method of the European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 52(9), 3092-3098.
49. Dhifi, W., Jelali, N., Chaabani, E., Beji, M., Fatnassi, S., Omri, S. & Mnif, W. (2013). *Chemical composition of Lentisk (Pistacia lentiscus.) seed oil*. African Journal of Agricultural Research, 8(16), 1395-1400.
50. Djerrou, Z. (2014). *Anti-hypercholesterolemic effect of Pistacia lentiscus fatty oil in egg yolk-fed rabbits: a comparative study with simvastatin*. Chinese Journal of Natural Medicines, 12(8), 561-566.
51. Dogan, Y., Baslar, S., Ayden, H., & Mert, H. H. (2003). *A study of the soil-plant interactions of Pistacia lentiscus L. distributed in the western Anatolian part of Turkey*. Acta Botanica Croatica, 62(2), 73-88.

52. Dowling, A., O'dwyer, J., & Adley, C. (2017). *Antibiotics: mode of action and mechanisms of resistance*. Antimicrobial research: Novel bioknowledge and educational programs, 1, 536-545.
53. Drusano, G. L. (2007). *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antimicrobials*. Clinical Infectious Diseases, 45(Supplement_1), S89-S95.
54. El Idrissi M., Barbouchi M, Choukrad MB, Louzi L (2016). *Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from leaves and twigs of Pistacia lentiscus L. Growing wild in Morocco*. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5(4): 516-524.
55. FAO. (1993) *Codex alimentaire , Graisse, Huile et Derives*, édition FAO, V08, p 36.
56. Feidemann, J. (2005). *World Spices Plants: Economic Usage, Botany*. Taxonomy. Ed. ISBN, Germany. 505p.
57. Fennane M., Ibn Tattou M., Ouyahya A., El Oualidi J, (2007). *Flore Pratique du Maroc: Manuel de Détermination des Plantes Vasculaires*. Travaux de l'Institut Scientifique, Rabat, série botanique : Vol. 2, No. 38. p 250.
58. Fertout-Mouri, N., Latrèche, A., Mehdadi, Z., Toumi-Bénali, F., & Khaled, M. B. (2017). *Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de Teucrium polium L. du mont de Tessala (Algérie occidentale)*. Phytothérapie, 15(6), 346-353.
59. Festy, D. (2018). *Ma bible des huiles essentielles*. Éditions Leduc.
60. Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2014). *Microbiologie diagnostique de Bailey & Scott* (14ème éd.). Mosby Elsevier.
61. Gélis-Imbert, P. (2018). *Mon grand manuel des huiles essentielles*. Editions Jouvence.
62. Graña, E., Díaz-Tielas, C., M Sanchez-Moreiras, A., & J Reigosa, M. (2012). *Mode of action of monoterpenes in plant-plant interactions*. Current Bioactive Compounds, 8(1), 80-89.
63. Gräser, Y., Volovsek, M., Arrington, J., Schönián, G., Presber, W., Mitchell, T. G., & Vilgalys, R. (1996). *Molecular markers reveal that population structure of the human pathogen Candida albicans exhibits both clonality and recombination*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 93(22), 12473-12477.
64. Greenwood, D., Slack, R. C., Barer, M. R., & Irving, W. L. (2012). *Medical Microbiology E-Book: A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Diagnosis and Control*. With Student Consult Online Access. Elsevier Health Sciences.
65. Guardabassi, L., & Courvalin, P. (2006). *Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance*. Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin, 1-18.
66. Guinoiseau, E. (2010). *Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action*. Thèse de Doctorat , Université de Corse).

67. Gülçin, I., Uğuz, M.T., Oktay, M., Beydemir, S. & Küfrevioğlu, O.I. (2004). *Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of Clary Sage (Salvia sclarea L.)*. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 28: 25-33.
68. Hafsé M, Benbrahim KF, Saidi A, Farah A (2013). *Volatile Components and antibacterial Profile of Essential Oils Extracted from Leaves and Twigs of Pistacia lentiscus L.* British Microbiology Research Journal 3(4): 602-611.
69. Haloui T., Abdellah F., Lebrazi S., Fakil M., Belrhiti A.,(2015) . *Effect of harvesting period and drying time on the essential oil yield of Pistacia lentiscus L.* leaves Der Pharma Chemica. 7(10),320- 324.
70. Handa, S. S., (2008). *An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants.* In: Book- *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants* Page 21–54.
71. Hanlon, G., & Hodges, N. A. (2012). *Essential microbiology for pharmacy and pharmaceutical science.* John Wiley & Sons.
72. Hemma, R., Belhadj, S., Ouahchia, C., & Saidi, F. (2018). *antioxidant activity of Pistacia lentiscus methanolic extracts.* Revue agrobiologia, 8(1), 845-852.
73. Iauk, L., Ragusa, S., Rapisarda, A., Franco, S., & Nicolosi, V. M. (1996). *In vitro antimicrobial activity of Pistacia lentiscus L. extracts: preliminary report.* Journal of chemotherapy, 8(3), 207-209.
74. Idžojtić, M. (2019). *Dendrology: Cones, Flowers, Fruits and Seeds.* Academic Press.
75. Ierapetritis, D. (2010). *The Geography of the Chios Mastic Trade from the 17th through to the 19th Century.* Ethnobotany Research and Applications, 8, 153-167.
76. Ierapetritis, D. (2010). *The Geography of the Chios Mastic Trade from the 17th through to the 19th Century.* Ethnobotany Research and Applications, 8, 153-167.
77. Jacry, C. (2021). *Découverte de nouvelles molécules antibiotiques et caractérisation de leurs modes d'action.* Thèse de Doctorat Université Paris-Saclay.
78. Jalayer-Naderi, N., Niakan, M., & Mohamadi-Motlagh, M. (2016). *The antibacterial activity of methanolic Anacyclus pyrethrum and Pistacia lentiscus L. extract on Escherichia coli.* Iranian journal of microbiology, 8(6), 372.pp 1250–1268.
79. Jensen, E. C., Hornby, J. M., Pagliaccetti, N. E., Wolter, C. M., Nickerson, K. W., & Atkin, A. L. (2006). *Farnesol restores wild-type colony morphology to 96% of Candida albicans colony morphology variants recovered following treatment with mutagens.* Genome, 49(4), 346-353.
80. Jordano P (1989) *Pre-dispersal biology of Pistacia lentiscus (Anacardiaceae): cumulative effects on seed removal by birds.* Oikos 55:375–386.
81. Kabelitz, N., Santos, P. M., & Heipieper, H. J. (2003). *Effect of aliphatic alcohols on growth and degree of saturation of membrane lipids in Acinetobacter calcoaceticus.* FEMS microbiology letters, 220(2), 223-227.

82. Kaibeck, J. (2013). *Les huiles végétales, c'est malin*. Éditions Leduc. Page 14.
83. Karleskind, Alain. (1992). *Manuel des corps gras*. Technique et Documentation-Lavoisier.
84. Koutsoudaki, C., Krsek, M., & Rodger, A. (2005). *Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of Pistacia lentiscus Var. chia*. Journal of agricultural and food chemistry, 53(20), 7681-7685.
85. Kumar, Surinder. (2016). *Essentials of Microbiology*, Jaypee Brothers Medical Publishers, First Edition.
86. Landau, S., Azaizeh, H., Muklada, H., Glasser, T., Ungar, E. D., Baram, H., ... & Markovics, A. (2010). *Anthelmintic activity of Pistacia lentiscus foliage in two Middle Eastern breeds of goats differing in their propensity to consume tannin-rich browse*. Veterinary parasitology, 173(3-4), 280-286.
87. Le Comité De l'Antibiogramme De La Société Française De Microbiologie (2022).
88. Leprieur M. (1860). Journal de médecine, chirurgie et de pharmacie, 3ème volume ,Publié par la société de science médicale et naturelle de bruscelles, p. 614-615.
89. Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013). *Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (Cynara scolymus L.)*. Nature & Technology, (9), 35.
90. Milia, E., Usai, M., Szotáková, B., Elstnerová, M., Králová, V., D'hallewin, G., ... & Eick, S. (2020). *The pharmaceutical ability of Pistacia lentiscus L. leaves essential oil against periodontal bacteria and candida sp. and its anti-inflammatory potential*. Antibiotics, 9(6), 281.
91. Missoun, F., Bouabedelli, F., Benhamimed, E., Baghdad, A., & Djebli, N. (2017). *Phytochemical study and antibacterial activity of different extracts of Pistacia lentiscus L collected from Dahra Region West of Algeria*. Journal of Fundamental and Applied Sciences, 9(2), 669-684.
92. Missoun, F., Bouabedelli, F., Benhamimed, E., Baghdad, A., & Djebli, N. (2017). *Phytochemical study and antibacterial activity of different extracts of Pistacia lentiscus L collected from Dahra Region West of Algeria*. Journal of Fundamental and Applied Sciences, 9(2), 669-684.
93. Mohannad G, A. S., & Duncan M, P. (2011). *Taxonomic revision of the genus Pistacia L.(Anacardiaceae)*. American Journal of Plant Sciences, 2012.
94. Naczk, M., & Shahidi, F. (2004). *Extraction and analysis of phenolics in food*. Journal of chromatography A, 1054(1-2), 95-111.
95. Nolte, F. S., Parkinson, T., Falconer, D. J., Dix, S., Williams, J., Gilmore, C., ... & Wingard, J. R. (1997). *Isolation and characterization of fluconazole-and amphotericin B-resistant*

- Candida albicans* from blood of two patients with leukemia. Antimicrobial agents and chemotherapy, 41(1), 196-199.
96. Núñez, D. R., & de Castro, C. O. (1991). La guía de Incafo de la plantas útiles y venenosas de la Península Ibérica y Baleares, excluidas medicinales. Instituto de la caza fotografica y ciencias naturaleza.
97. Paraschos, S., Mitakou, S., & L Skaltsounis, A. (2012). *Chios gum mastic: a review of its biological activities*. Current medicinal chemistry, 19(14), 2292-2302.
98. Pazmiño-Durán, E. A., Giusti, M. M., Wrolstad, R. E., & Glória, M. B. A. (2001). *Anthocyanins from Oxalis triangularis as potential food colorants*. Food Chemistry, 75(2), 211-216.
99. Pinelo, M., Del Fabbro, P., Manzocco, L., José Nunez, M. & Nicoli, M.C. (2005). *Optimization of continuous phenol extraction from Vitis vinifera by products*. Food Chemistry, 92: 109-117.
100. Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). *Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard*. LWT-Food Science and Technology, 36(7), 679-684.
101. Prakash, K., Ramasubramanian, V. (2016). *Urinary Tract Infection*. Manual of Nephrology, 226.
102. Prescott L., Harley J., Klein D., (2003). *Microbiologie*. Ed. De Boek université, 1137p.
103. Quezel P., Santa S., (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* . Page : 797-860.
104. Rai, M., & Kosalec, I. (Eds.). (2022). *Promising Antimicrobials from Natural Products*. Springer.
105. Rassem, H. H. A., Nour, A. H., & Yunus, R. M., (2016). *Techniques for extraction of essential oils from plants: A review*. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 10(16), 117–127.
106. Rguez, S., Aidi Wannas, W., Bourgou, S., Essid, R., Bettaieb, I., Snoussi, M., ... & Sellami, I. H. (2023). *Sesquiterpenes from Pistacia lentiscus L. as potential antibacterial, antifungal and allelopathic agents*. Journal of Essential Oil Research, 1-13.
107. Robard, I. (2004). *Plantes médicinales d'outre-mer et pharmacopées: aspects juridiques, économiques et culturels*. Phytothérapie, 2, 16-21.
108. Rogosic, J. Estell, R.E. Ivankovic, S., Kezic, J. Razov, J. (2008) *Potential mechanisms to increase shrub intake and performance of small ruminants in mediterranean shrubby ecosystems*. Small Ruminant Research, 74: 1–15.
109. Seidel, V. (2005). *Initial and Bulk Extraction*. In: Natural products isolation. Humana Press (Totowa), pp: 27-37.

110. Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D., & Corke, H. (2007). *The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts*. International Journal of food microbiology, 117(1), 112-119.
111. Singh, S. B., & Barrett, J. F. (2006). *Empirical antibacterial drug discovery—foundation in natural products*. Biochemical pharmacology, 71(7), 1006-1015.
112. Smail Saadoun, N. (2005). *Types stomatiques du genre Pistacia: Pistacia atlantica Desf. ssp. atlantica et Pistacia lentiscus. L.* Options méditerranéennes, série A, 63, 369-71.
113. Smith, R. L., Cohen, S. M., Doull, J., Feron, V. J., Goodman, J. I., Marnett, L. J., ... & Adams, T. B. (2005). *A procedure for the safety evaluation of natural flavor complexes used as ingredients in food: essential oils*. Food and chemical toxicology, 43(3), 345-363.
114. Spigno, G., Tarmelli, L. & De Faveri, D.M. (2007). *Effect of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grao marc phenolics*. Journal of Food Engineering, 81 (1): 200-208.
115. Stanojevic L , M. Stankovic , V. Nikolic , L. Nikolic , D. Ristic , J. Canadanovic - Brunet and V. Tumbas , (2009) *Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of Hieracium pilosella L. extracts* . Sensors , 9 : 5702-5714 .
116. Talbert M., Willoquet G et Gervais R. ,(2009). *Le guide Pharmaco clinique*. Wolters Kluwer France. Page : 641, 648,655
117. Tandon, S., & Rane, S. (2008). *Decoction and hot continuous extraction techniques*. Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. Page 115.
118. Thirion, D. J., & Williamson, D. (2003). *Les infections urinaires: une approche clinique*. Pharmactuel, 36(5).
119. Thirion, D. J., & Williamson, D. (2003). *Les infections urinaires: une approche clinique*. Pharmactuel, 36(5).
120. Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2015). *Microbiologie: une introduction* (12ème éd.). De Boeck Supérieur.
121. Trabelsi, H., Cherif, O. A., Sakouhi, F., Villeneuve, P., Renaud, J., Barouh, N. & Mayer, P. (2012). *Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of Pistacia lentiscus. growing wild in Tunisia*. Food chemistry, 131(2), 434-440.
122. Van Vuuren, S. F. (2008). *Antimicrobial activity of South African medicinal plants*. Journal of ethnopharmacology, 119(3), 462-472.
123. Vasiliki K. Pachi, Eleni V. Mikropoulou, Petros Gkiouvetidis, Konstantinos Sifakas, Aikaterini Argyropoulou, Apostolis Angelis, Sofia Mitakou, Maria Halabalaki,(2020) *.Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of Chios mastic gum (Pistacia lentiscus var. Chia, Anacardiaceae): A review* , Journal of Ethnopharmacology, Volume 254, 112485.

124. Williamson, E. M., Okpako, D. T., & Evans, F. J. (1996). Selection, Preparation and Pharmacological Evaluation of Plant Material, Volume 1 (Vol. 1). John Wiley & Sons. page 16.
125. Yalcouyé, E. D. Y. (2020). *Prescription des antibiotiques au service d'accueil des urgences du CHU Gabriel Touré* . Thèse de Doctorat dissertation, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako.
126. Yoo, H. J., & Jwa, S. K. (2018). *Inhibitory effects of β -caryophyllene on Streptococcus mutans biofilm*. Archives of oral biology, 88, 42-46.
127. Yves, L. L., & Michel, Gantier (2009). *Staphylococcus aureus*. Lavoisier.

WEBOGRAPHIE :





1. <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-huile-essentielle-8121/>
2. <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-phenicoles-9187/>



ANNEXE

Matériel et équipements



La liste des appareils et produits utilisés sont donnés dans les Tableaux suivants :

Matérielles et réactifs de la préparation de l'extrait hydro-méthanolique





Balance	Eprouvette graduée	Agitateur	Erlenmeyer
			





Un évaporateur rotatif	Bêcher	Autre
		<ul style="list-style-type: none"> • Broyeur électrique • Un tamis (Retche) • Spatule • Boîte Pétrie • Entonnoir • Papier aluminium • Flacons de verre teinté • Papier filtre Whatman millipore n ° 1 • Méthanol • Eau distillée

Matérielles de l'extraction d'huile essentielle

Appareille de distillation a la vapeur alambic	Ampoule de décantation en verre	Autre
		<ul style="list-style-type: none"> • Pipette • Des flacon

Matérielles et réactifs de l'étude de l'activité antimicrobienne

Bain marie	Micropipette	Microscope optique	Etuve
			

Bec benzène	Pipette pasteur	Autoclave	Ecouvillons
			

Autre	Réactifs chimiques
<ul style="list-style-type: none"> • Tubes à vise • Ecouvillons • Boîtes pétri • Pipettes pasteur • Tubes à essai • Anse de platine • Papier wattman (pour les disk) • Lame et Lamelle • La seringue 	<ul style="list-style-type: none"> • Huile à émersion • Bleu de méthylène • Alcool • Violet de gentiane • Lugol • Fuchsine • Eau distillé • Dmso • Bouillon nutritif • Eau physiologique • Les disques d'antibiotiques • Covaxe • Urée-indole • H2O2

Testes biochimiques

Test de catalase

A. Principe

L'enzyme de catalase, est capable de convertir le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. La présence de cette enzyme dans un isolat bactérien est mise en évidence lorsqu'une petite inoculation introduite dans du peroxyde d'hydrogène (à 30% pour le test sur lame) provoque une élaboration rapide de bulles d'oxygène (**Forbes et al.,2014**)

B. Mode opératoire

Cette technique a été utilisée pour *Staphylococcus aureus* :

- Une pipette Pasteur a été utilisée pour déposer une goutte d'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) sur une lame.
- Une colonie a été prélevée à l'aide de l'anse de platine.
- La colonie a été séparée dans la goutte en la dispersant.

Test Urée-Indole

A. Principe

Ce test montre la capacité de certaines bactéries à décomposer l'acide aminé tryptophane en indole, qui s'accumule dans le milieu. Le tryptophane est décomposé par une enzyme, la tryptophanase, produite par certaines bactéries (**Kumar, 2016**).

Les bactéries possédant une uréase transforment l'urée en carbonate d'ammonium entraînant une alcalinisation qui provoque une coloration rouge violacé du milieu en présence de rouge de phénol (indicateur de pH) (**Kumar, 2016**).

B. Mode opératoire

- Une quantité de 0,25 à 0,50 ml de milieu Urée-Indole a été versée dans un tube stérile. Ensuite, quelques colonies bien isolées d'*Escherichia coli* ont été ensemencées avec une anse de platine et incubées à 37 °C pendant 24 heures.
- Après 24 heures d'incubation, 4 à 5 gouttes de réactif de Kovacs ont été versées.
- **La lecture :**
- Indole positif : présence d'un anneau rouge.
- Indole négatif : absence d'un anneau rouge.
- Urée positive : le milieu vire au rouge violacé.
- Urée négative : la coloration de milieu reste inchangée.

Résultats des tests confirmatifs

Test de catalase

La formation des bulles d'oxygène résultant de la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène indique donc la présence de l'enzyme catalase



Test urée indole

La couleur du bouillon n'a pas changé après incubation pendant 24 h à 37°C, ce qui indique que le test d'urée est négative .

Après l'ajout des gouttes du réactif de Kovacs, un anneau rouge est apparu indiquant la présence de l'indole.

- Cela confirme la présence d'*Escherichia coli*.

Les résultats de test de catalase et d'urée indole.

Test de catalase	Test d'urée-indole
Positif pour <i>Staphylococcus aureus</i>	Urée négative, indole positif pour <i>E.coli</i>
	

Les diamètres des zones d'inhibition d'aromatogramme huile essentielle

	Disque 1 de l'huile essentielle dilué	Disque 2 de l'huile essentielle dilué	Huile essentielle pure
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	10	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	6	6
<i>E.coli</i>	6	6	6
<i>Candida albicans</i>	7	7	8

Les diamètres des zones d'inhibition de diffusion sur disque de l'extrait

	Disque 1 Pure	Disque 2 pure	Disque 1 de 2 mg /l	Disque 2 de 2 mg /l	Disque 1 de 4 mg /l	Disque 2 de 4 mg /l
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	12	08	05	16	15
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12	08	10	7	11	10
<i>E.coli</i>	11	11	08	06	16	12
<i>Candida albicans</i>	07	12	07	09	10	20

Les résultats de la Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle	Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait