

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA-Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie physico-chimique
Spécialité Pharmaco-toxicologie



Réf:.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE DES
EXTRAITS DE *PISTACIA LENTISCUS***

Présenté par

ABDELLAOUI Lamia & BOUHARIS Dounia

Soutenu le : 25 juin 2023

Devant le jury composé de :

Mr. BELKACEM N.	MCB	Président
Mme. KASMI S.	MAA	Promotrice
Mme. BOUBELLOUTA H.	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2022 /2023

Dédicace

Je dédie ce Modest travail à Allah le tout puissant, Qui m'a permis de voir ce jour tant attendu

Du profond de mon cœur je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,

Mon père Moussa

L'épaule solide, la personne la plus digne de mon respect. Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux. Je tiens à honorer l'homme que tu es.

À la femme la plus chère à mes yeux

Maman Ghania

Tu m'as donnée la vie, la tendresse et le courage pour réussir. Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte.

Ma bougie J'ai réussi grâce à tes prières

Papa et Maman Que dieu vous protège et vous garde, les mots ne peux pas décrivez votre importance et votre image dans mes yeux

A ma grand-mère Fatima qui m'a donnée toujours le courage

A mon fiancé Farouk

Symbole de tendresse et d'amour, qui m'a aidé de près et de loin, tu as partagé avec moi les meilleurs et les plus difficiles de ma vie, tu étais toujours à mes côtés, je te remercie de ne m'avoir jamais déçu. Aucun mot ne pourrait exprimer ma gratitude, mon amour et mon respect

Je tiens aussi à exprimer ma profonde gratitude à mes chers oncles et tantes surtout oncle Mamou et ma tante Rebiha et Samira pour leur bonté, leur soutien moral et matériel et pour tout ce qu'ils font pour moi, pour m'avoir encouragé et soutenu

A mes adorables sœurs, Souhila, Siham, Aida, Katia, Dalila, Sara Pour tout l'amour qu'ils m'ont donné et leurs encouragements durant tout le parcours de ma vie

A mes chères neveux et nièces

A ma binôme Lamia Pour sa présence, et sa patience tout au long de ce projet

A ma promotion pharmacotoxicologie 2022/2023 et à tous mes amis et spécialement Soumaya Lina et Emilie

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aime

DOUNIA

Dédicace

A toute personne qui consultera ce document un jour.

Avec l'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A mes très chers parents Hamid et Nacera pour leur amour, leur soutien, leurs encouragements pour tout ce qu'ils m'ont apporté et les valeurs qu'ils m'ont enseignées Je ne vous remercierai jamais assez Et surtout pour toi Maman, tu es et tu resteras ma meilleure amie que dieu te procure bonheur, santé et longue vie que ce travail soit pour toi un motif de fierté et de satisfaction. A mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi, Maman et Papa, Vous êtes et les êtes les plus chers à mon cœur Je vous aime énormément.

C'est un moment de plaisir de dédier ce travail à mon seul et unique frère Lyes pour l'amour qu'il me réserve, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour toi, je te souhaite beaucoup de bonheur et de succès.

A mon adorable sœur Sabrina, ma confidente, ma meilleure et à son mari Soufiane qui n'ont jamais refusé de m'aider à chaque fois que je les ai sollicité, que tous vos rêves se réalisent avec pleins de succès et à mes neveux : Badis et Adam rebi yahfadkoum inchallah.

A mon fiancé Djebbar qui a toujours été présent dans les moments importants de ma vie et mes amies pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble et surtout à ma binôme Dounia et mon amie Soumaya avec lesquelles j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler, je vous remercie donc pour tout ce que vous m'as apporté au cours de cette année partagée et Je tiens à remercier ma promotrice, Mme kasmi pour avoir accepté m'encadrer ainsi que pour ses conseils et ses orientations et je remercier également M.Zaidi sidali , Amina , Naima pour l'aide qu'ils m'ont apportés et leurs soutiens. Et tous le personnel de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et surtout à tous les enseignants qui ont participé à la réalisation de toutes mes études.

Lamia

Remerciement

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donnée la santé, la volonté, la force et la patience pour réaliser ce travail.

On tient à exprimer nos profonds respects et nos sincères remerciement à :

Notre promotrice, Mme Kasmi Souad pour leur simplicité, leur aide et pour nous avoir donné les moyens et l'assistance nécessaire à la réalisation de notre travail.

Sans oublier aussi le doctorant Zaidi Sid Ali pour sa disponibilité, sa gentillesse et la qualité de ses conseils.

Nos chaleureux remerciements vont également à nos chères familles Abdellaoui & Bouharis.

Merci à toute l'équipe de Laboratoire de Génétique, où on a passé d'agréables moments en leur compagnie. On leur adresse nos remerciements pour leur accueil, leur bonne humeur et leur aide.

Nous tenons à exprimer nos gratitude, nos profonds respects et remerciements aux membres de jury : Mr Belkacem Nassim qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être président de jury et Mme Boubellouta Houria pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Un agréable merci à toutes les personnes qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous !

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale.....1

Chapitre I : Recherche bibliographiques

I.1 *PISTACIA LENTISCUS*.....3

I.1.1. Description botanique.....3

I.1.2. Classification botanique et nom vernaculaires.....3

I.1.3. Répartition géographique.....4

I.1.4. Composés chimique.....5

I.1.4.1. Composés phénoliques.....5

I.1.4.1.1. Définition.....5

I.1.4.1.2. Classification des composés phénoliques.....6

I.1.4.1.3. Biosynthèse.....7

I.1.4.2. Huiles végétales.....7

I.1.4.2.1. Définition.....7

I.1.4.2.2. Classification.....7

I.1.4.2.3. Composition des huiles végétales et biogénèse.....8

I.1.5. Utilisation traditionnelle et thérapeutique.....10

II. Activité antimicrobienne.....11

II.1. Généralités sur les souches testées.....11

II.1.1. Bactéries.....11

II.1.1.1.Escherichia coli.....	11
II.1.1.2.Pseudomonas aeruginosa.....	12
II.1.1.3.Proteus mirabilis.....	12
II.1.1.4.Enterobacter cloacae.....	12
II.1.2.Champignons phytopathogènes.....	12
II.2.Agents antimicrobiens.....	13
II.2.3 Agents naturels et activité antimicrobienne.....	13

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1 Matériel.....	14
II.1.1.Matériel chimique et appareillage.....	14
II.1.2.Matériel végétal.....	14
II.2 Méthodes.....	15
II.2.1.Préparation du matériel végétal.....	15
II.2.2.Extraction de l'huile de <i>P. lentiscus</i> par Soxhlet.....	15
II.2.3.Extraction des composés phénoliques par ultrasons.....	15
II.2.4.Dosage des composés phénoliques.....	16
II.2.4.1.Dosage des polyphénols totaux (PPT).....	16
II.2.4.2.Dosage des flavonoïdes.....	17
II.2.5.Etude de l'activité antimicrobienne des extraits de <i>P.lentiscus</i>	17
II.2.5.1.Souches microbiennes.....	17
II.2.5.2.Revivification des souches.....	17
II.2.5.3.Préparation de l'inculum.....	17
II.2.5.4.Tests antimicrobiens.....	18
II.2.6.Analyse statistique.....	19

Chapitre III : Résultat et discussion

III.1.Extraction et dosage des polyphénols.....	20
--	-----------

III.1.1.Rendement de l'extraction.....	20
III.1.2. Dosage des composés phénoliques.....	22
III.2.Effet antimicrobiens des extraits de fruit de <i>P.lentiscus</i>.....	23
III.2.1.Test de diffusion sur milieu solide.....	23
III.2.2.Test de micro-dilution sur milieu liquide.....	28

Conclusion

Références bibliographique

Annexes

Liste des figures

Figure 1 : Photographie de <i>P. lentiscus</i> . (A) : l'arbre, (B) : feuilles et graines	3
Figure 2 : Distribution de <i>P. lentiscus</i> dans le bassin méditerranéen.....	5
Figure 3 : Photo original du Soxhlet	16

Liste des tableaux

Tableau I : Noms vernaculaires de <i>P. lentiscus</i>	4
Tableau II : Classification des composés phénoliques	6
Tableau III : Différents composés des huiles végétales	9
Tableau IV : Principales utilisations thérapeutiques traditionnelles de <i>P. lentiscus</i>	10
Tableau V : Appareillages et produits chimiques utilisés.....	14
Tableau VI : Origine et type de souches testées	18
Tableau VII : Rendements et les caractéristiques de l'huile végétale et de l'extrait méthanolique de fruit de <i>P. lentiscus</i>	20
Tableau VIII : Résultats du dosage des flavonoïdes et des phénols totaux.....	22
Tableau IX : Diamètres de zone d'inhibition de l'huile et de l'extrait méthanolique ainsi que l'antibiotique de référence (en mm) des souches testées.....	24
Tableau X : Diamètres de zone d'inhibition de l'huile et de l'extrait méthanolique ainsi que l'antifongique de référence (en mm) des souches testées	27
Tableau XI : CMI et IC ₅₀ des extraits <i>P. lentiscus</i>	28

Liste des abréviations

UFC/ml : Unité formant colonie par millilitre

DMSO : Diméthyle Sulfo-oxyde.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50% de population

mg EAG/gES: milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec.

mg EQ/gES: Milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait sec.

E.coli :Escherichia coli.

M.H :Muller hinton.

L'infection microbienne occupe la première place dans les pathologies médicales, causée par des agents pathogènes (bactéries, virus, parasites, champignons), qui peut être transmis d'une personne à une autre. De nombreux pays qui ne sont pas suffisamment équipés pour diagnostiquer cette infection à un stade précoce, ce qui augmente les risques de propagation (**Nicole Jawerth., 2020**).

Ces dernières années, en raison de l'utilisation abusive d'antibiotiques, il y a eu la propagation de la résistance, avec l'apparition des souches multi résistantes (**González, 2022**). Ce problème est en évolution avec des conséquences potentiellement dévastatrices (**Doron et Gorbach, 2008**). Depuis leur découverte, les antibiotiques ont été notre principal moyen de défense; avec l'émergence du phénomène de résistance, ils risquent de devenir inefficaces et la société pourrait retrouver les conditions qui prévalaient avant (**Céline, 2019**).

La problématique de la résistance aux antibiotiques rappelle cependant, qu'il est important de trouver de nouvelles molécules possédant une activité antimicrobienne, qui agissent sur des cibles cellulaires différentes de celles visées par les antibiotiques (**Brown et al., 2005**). Les plantes peuvent être une source intéressante de nouveaux composés antibiotiques, permettant de faire face à ce problème mondial majeur (**Lev et al., 2000 ; Shah et al., 2004**).

Les plantes médicinales sont considérées comme une source majeure des produits utilisés en médecine alternative. Le traitement par ces plantes est reconnu pour sa facilité d'utilisation, son efficacité ainsi que ses bienfaits incontestables. Ainsi on peut se soigner par les plantes et mettre au service ses propriétés préventives et curatives (**Chabrier, 2010**).

L'Algérie par sa situation géographique abrite une importante richesse en plantes aromatiques et médicinales. Elles sont utilisées dans les remèdes traditionnels. Parmi elles, se trouvent *Pistacia lentiscus*, connu sous le nom de tideukth, darou, communément appelé le lentisque. C'est une plante originaire du bassin méditerranéen appartenant à la famille des Anacardiaceae. Elles sont utilisées pour leurs propriétés anti-inflammatoires, antibactériennes et antifongiques (**Lee et al., 2004**). Son huile végétale est utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement des petites blessures, brûlures légères et érythèmes. Elle est employée contre les problèmes respiratoires et les ulcères d'estomac (**Bensegueni, 2007 ; Benabderrahmane et al., 2009**).

L'objectif de notre travail vise à confirmer la richesse de cette plante en polyphénols et à déterminer son activité antimicrobienne vis-à-vis des bactéries à Gram positif, à Gram négatif et des champignons. Pour cela, notre rapport est constitué de trois parties :

La première constitue une synthèse bibliographique regroupant les principales informations sur *Pistacia lentiscus*, à savoir, sa classification botanique, sa composition chimique et son utilisation thérapeutique.

La seconde partie de ce travail, concerne le matériel et les méthodes utilisées pour l'extraction de l'huile et des composés phénoliques de fruit de *P. lentiscus* et l'étude de leur activité antimicrobienne par deux méthodes, celle des disques sur milieu solide et celle de micro-dilution sur milieu liquide.

La troisième partie est consacrée à une discussion qui synthétise l'ensemble des résultats obtenus. Nous achevons notre travail par une conclusion.

Pistacia lentiscus

Description botanique

Le lentiscus vient du latin « lentus » qui signifie visqueux (Botineau, 2015). C'est un arbuste dioïque thermophile, de 1 à 3 mètres de haut, à forte odeur résineuse, à écorce lisse et gris, et à graines comestibles (Figure 1, A). Selon More et White, (2005), *P. lentiscus* se caractérise par :

- **un écorce** : rougeâtre sur les jeunes branches et vire au gris avec le temps ;
- **des fruits** : sont des baies globuleuses d'environ 5 mm de diamètre, monospermes, d'abord rouges, puis noirs à la maturité (novembre à janvier) (Figure1, B) ;
- **des branches** : tortueuses et pressées, forment une masse serrée ;
- **des feuilles** : persistantes, composées avec 4 à 10 paires de folioles elliptiques et lancéolées, elles sont vertes foncées lavées de pourpre ;
- **des fleurs** : ce sont unisexuées d'environ 3 mm de large, les fleurs mâles sont caractérisées par une couleur rouge foncé tandis que les fleurs femelles sont de couleur vert jaunâtre, présentent sous forme de Grappe, et très aromatique (floraison : mars – mai) ;
- **un mastic** : c'est un suc résineux nommé mastic qui une fois distillé, fournit une essence employée en parfumerie.

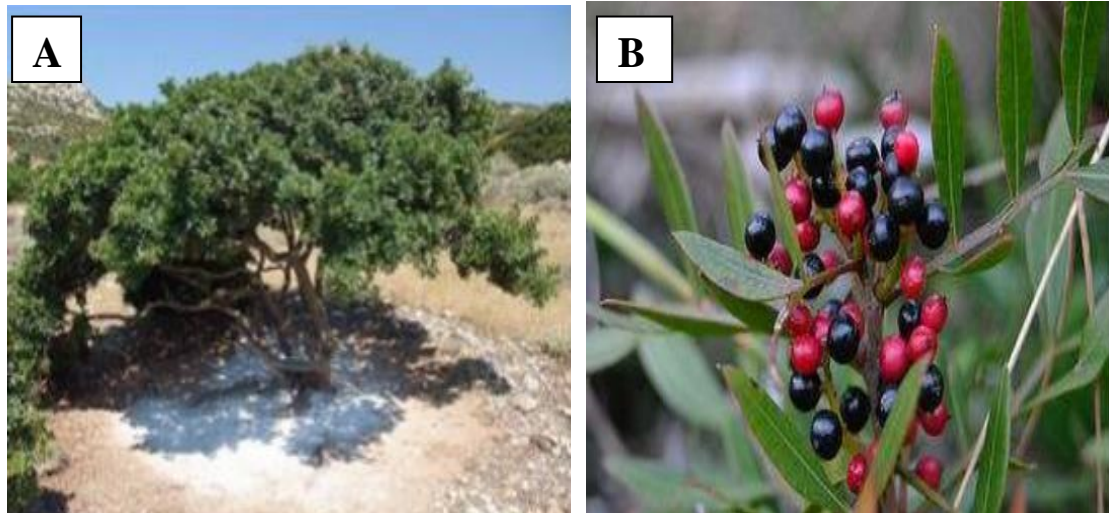


Figure 1 : Photographie de *P. lentiscus*. (A) : l'arbre, (B) : feuilles et graines (Abdeldjallil, 2016).

Classification botanique et noms vernaculaires

L'espèce *P. lentiscus* est classée selon Guignard et Dupont, (2004) comme suit :

- **Règne** : plantae
- **Embranchement** : Spermaphyte.

- **Sou-embanchement** : Angiosperme.
- **Classe** : Magnoliopsida.
- **Sous-classe** : Rosidae.
- **Ordre** : Sapindales.
- **Famille** : Anacardiaceae.
- **Genre** : Pistacia.
- **Espèce** : *P.lentiscus*.

Le tableau suivant énumère les différentes appellations de la plante *P.lentiscus*.

Tableau I: Noms vernaculaires de *P. lentiscus* (Garnier et al., 1961, Baba-Aissa, 1999).

Langue	Noms
Kabyle	Tidekth ; Amadagh
Arabe	Edharw ; Sareys
Français	Arbre au mastic ; Pistachier lentisque ; Restringue ; Lentisque d'Espagne
Anglais	Mastic ou Mastick Tree
Espagnole	Lentisquo, Charneca comun
Allemand	Mastix Baum
Italien	Lentischio, Sondrio

Répartition géographique

P. lentiscus est une plante médicinale, largement distribué dans les écosystèmes de la région méditerranéenne : en Algérie, en Tunisie, au Maroc, mais aussi en Turquie, en France, en Espagne, en Italie et en Grèce jusqu'aux îles des Caraïbes (Khiari et al., 2018).

En Algérie, il s'étend des zones humides aux zones sèches, et se trouve dans les forêts, seul ou associé à d'autres espèces d'arbres comme le térébinthe, l'olivier et le caroubier, dans toutes les zones côtières ou dans les zones pierreuses du bord de mer (Harrat et al., 2018).

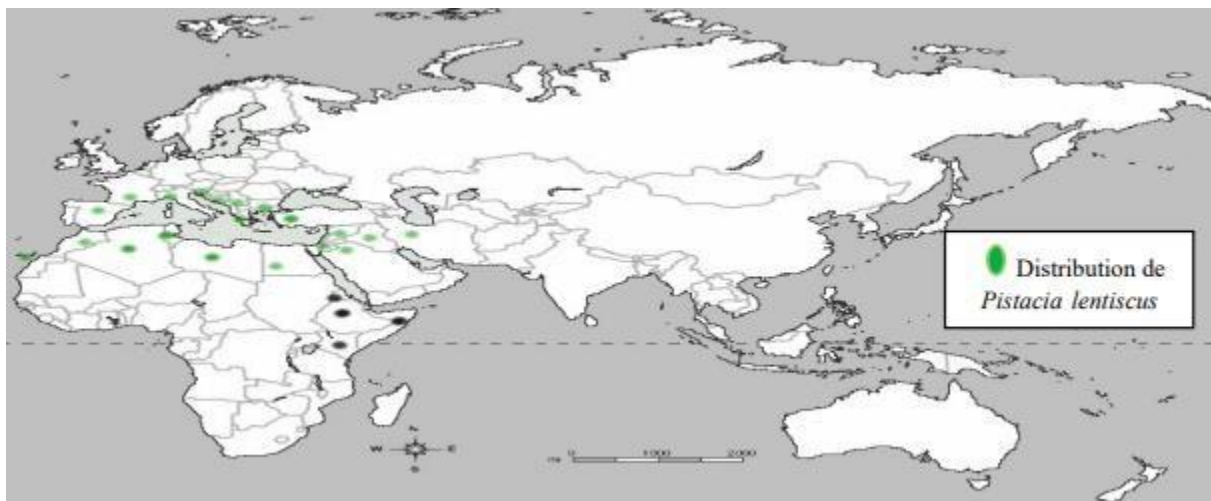


Figure 2: Distribution de *P. lentiscus* dans le bassin méditerranéen (Al-Sghir, 2006).

Composition chimique

L'utilisation de *P. lentiscus* en médecine traditionnelle a conduit les chercheurs à mener plusieurs études photochimiques pour déterminer les composants actifs de cette plante. Il a été démontré que *P. lentiscus* est une plante riche en métabolites secondaires à savoir, des acides phénoliques, des flavonoïdes et des anthocyanes (Romani et al., 2002 ; Vaya et Mahmoud, 2006), des tannins (Arab et al., 2014), des huiles essentielles et végétales et des terpénoïdes (Ben Douissa et al., 2005 ; Trabelsi et al., 2012).

Composés phénoliques

Définition

Les composés phénoliques sont une classe principale de métabolites secondaires dans les plantes (Igor et al., 2016). Ce sont des composés phytochimiques naturels dérivés principalement de la phénylalanine et moins souvent de la tyrosine (Chia et al., 2012). Ils possèdent un cycle aromatique portant un ou plusieurs groupes hydroxyles et leurs structures peuvent aller de celle d'une simple molécule phénolique à celle d'un polymère complexe (Ozcan et al., 2014). Ils se produisent fréquemment dans des états combinés avec du sucre ou des glycosides et ils ont donc tendance à être solubles dans l'eau (Husain et al., 2015), ils jouent un rôle important dans la croissance et la reproduction des plantes et en assurant une protection contre les agents pathogènes (activités antimicrobiennes) (Antonio et al., 2017).

2 Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont un groupe très diversifié de produits naturels qui se répartissent en plusieurs classes, se distinguant d'abord par la complexité du squelette de base, puis par le degré de modification de ce squelette, et en fin par l'éventuelle liaison de ces molécules de base à d'autres molécules (Macheix *et al.*, 2005). Ils se répartissent en plusieurs groupes, notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins.

Tableau II: Classification des composés phénoliques (Vermerris *et Nicholson*, 2006).

Structure	Classe
C ₆	Phénols simples
C ₆ -C ₁	Acide phénoliques et dérivés
C ₆ -C ₂	Acétophénonés et acides phénylacétates
C ₆ -C ₃	Acides cinnamiques, aldéhydes cinnamiques, alcools cinnamiques
C ₆ -C ₃	Coumarines, isocoumarines, et chromons
C ₁₅	Chalcones, aurones, dihydrochalcones
C ₁₅	Flavanes
C ₁₅	Flavones
C ₁₅	Flavanones
C ₁₅	Flavanonoles
C ₁₅	Anthocyanidines
C ₁₅	Anthocyanines
C ₃₀	Biflavonyles
C ₆ -C ₁ -C ₆ , C ₆ -C ₂ -C ₆	Benzophénones, xanthones, stilbènes
C ₆ , C ₁₀ , C ₁₄	Quinones
C ₁₈	Betacyanines
Lignanes, Néolignanes	Dimères ou oligomères
Lignines	Polymères
Tannins	Oligomères ou polymères
Phlobaphènes	Polymères

I.1.4.1.3 Biosynthèse

Les polyphénols sont des dérivés non azotés produits à partir de métabolites primaires, principalement par les deux voies suivantes (Chira *et al.*, 2008):

- La voie du shikimate, dont la synthèse est associée à la formation d'acides aminés aromatiques (tyrosine et phénylalanine) par désamination et qui produit l'acide cinnamique et ses dérivés.
- La voie du Phénylalanine pour former des acides phénoliques qui peuvent se condenser en polyphénols plus complexe.

Huiles végétales

I.1.4.2.1 Définition

Les huiles végétales sont des lipides simples, c'est-à-dire des corps 100% gras, composés d'atome de carbone, d'hydrogène et d'oxygène qui forment eux même des triglycérides. A cela s'ajoutent des insaponifiables qui regroupent tantôt des vitamines tantôt des stérols végétaux, des trace d'huile essentielle aromatique, ou tout cela à la fois (**Julien, 2013**). Ce sont des corps gras liquides à 15°C ; caractérisées par leur insolubilité dans l'eau et leur solubilité dans les solvants organiques (éthers, hexane, benzène) (**Mohtadji, 1989 ; Lecerf, 2011**), ces huiles s'extraient naturellement par compression à froid ou à chaud de la matière qui les contient (**Boukeloua, 2009**).

2 Classification

D'après **Guichard (1967)**, et selon l'utilisation finale des huiles, on distingue :

• Huiles officinales

Ce sont des huiles utilisées à des fins thérapeutiques ou cosmétiques. Ils sont entièrement obtenus par expression à froid. C'est de l'huile vierge qui est pressée pour la première fois.

• Huiles alimentaires

Ces huiles sont destinées à être utilisées dans le secteur agro-alimentaire et sont obtenues par pression à froid ou à chaud de graines oléagineuses. Ils peuvent être raffinés pour éliminer les pigments, les substances odorantes, les substances inodores et autres contaminants.

- **Huiles industrielles**

Ce sont des huiles de qualité moindre utilisées par différents secteurs industriels (peintures, lubrifiants, détergents, biocarburants). Elles sont le plus souvent obtenues par extraction par solvant (hexane).

- **Composition des huiles végétales et biogénèse**

Les triglycérides sont largement majoritaires et représentent au moins 95% du poids des huiles brutes et 98% du poids des huiles raffinées. D'autres constituants naturellement présents en plus faible quantité, sont dits constituants mineurs (1à5%) et regroupent des composés dont les structures varient tels que les phospholipides (0.1-0.2%), les stérols, les tocophérols (vitamine E) (**Benammar, 2017**) (**Tableau IV**).

Les huiles végétales sont principalement des esters d'acides gras et de glycérol, et sont ainsi insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques. Les huiles végétales comestibles contiennent rarement des acides gras à chaînes ramifiées, Avec un nombre impair de carbones, ou des acides gras insaturés dont le nombre de carbone est inférieur à seize ou supérieur à vingt atomes de carbone (**Belkaide, 2013**).

- **Acides gras**

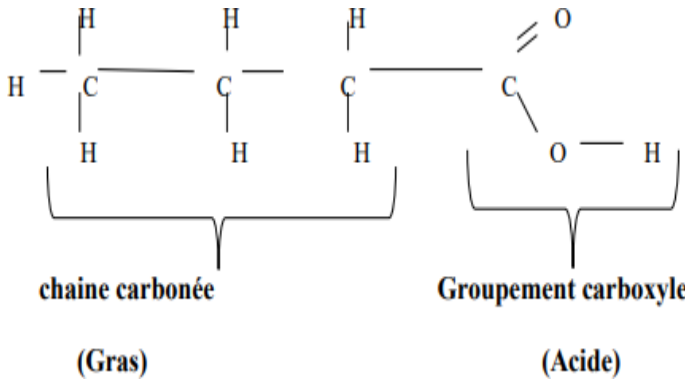
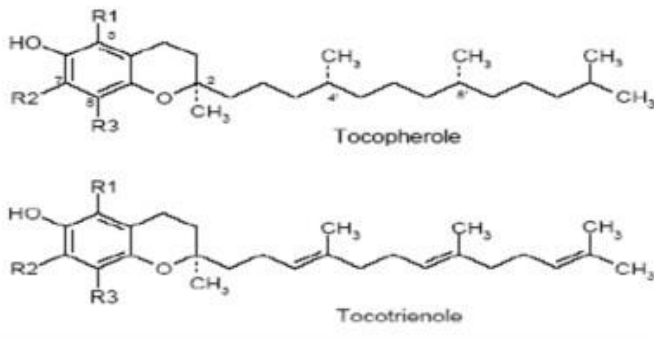
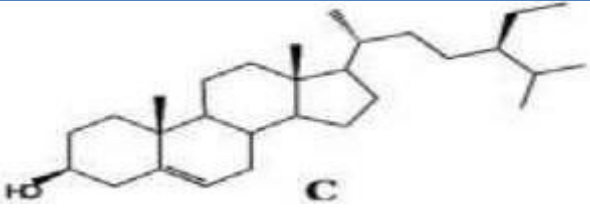
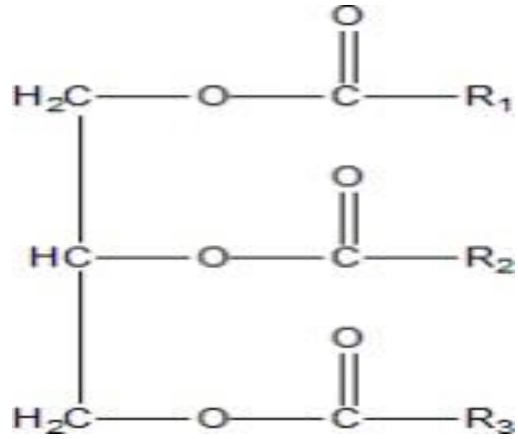
La grande majorité des acides gras végétaux se répartissent en deux groupes : celui des acides gras saturés et celui de leurs homologues insaturés. Les acides gras peuvent être oxydés, cyclisés ou fonctionnalisés. Leur biosynthèse intervient par la voie de l'acétyl-CoA. L'introduction de fonctionnalisation (oxydation, cyclisation, hydroxylation,...) prend naissance après la mise en place du squelette saturé de l'acide gras.

- **Tocophérols**

Sont des dérivés prénylés du benzodihydropyrane. Biosynthétiquement, ils dérivent de la voie shikimate et mévalonate. Ils sont synthétisés exclusivement dans les végétaux supérieurs et les algues.

D'après **Mann, (1987)**, la biogénèse des huiles végétales s'articulent comme suit :

Tableau III : Différents composés des huiles végétales.

Composé	Structure	Référence
Acide gras	 <p>The diagram shows a chemical structure of a fatty acid. On the left, a hydrocarbon chain is represented by three carbon atoms (C) in a row, each bonded to two hydrogen atoms (H) above and below. This chain is labeled 'chaîne carbonée' and '(Gras)'. To the right, a carboxyl group is shown with a carbon atom (C) double-bonded to an oxygen atom (O) above and single-bonded to another oxygen atom (O) below, which is in turn bonded to a hydrogen atom (H) to the right. This group is labeled 'Groupement carboxyle' and '(Acide)'.</p>	(Andersan et <i>al.</i> , 2015).
Tocophérol	 <p>The diagram displays two chemical structures. The top structure is labeled 'Tocopherole' and features a chromanol ring with substituents R1, R2, and R3, and a phytyl side chain with three methyl groups (CH3) at positions 4, 8, and 12. The bottom structure is labeled 'Tocotrienole' and has the same chromanol ring but with a triterpene side chain containing three double bonds and three methyl groups (CH3).</p>	(Farines <i>al.</i> , 1984).
Stérol	 <p>The diagram shows the chemical structure of a steroid, characterized by its four-ring nucleus (three six-membered rings and one five-membered ring) and a hydroxyl group (HO) on the first ring. A side chain is attached to the five-membered ring, and the structure is labeled with a 'C' at the bottom.</p>	(Aguiab et <i>al.</i> , 2015).
Triglycéride	 <p>The diagram illustrates the chemical structure of a triglyceride. It consists of a glycerol backbone on the left, with three carbon atoms: a top CH2 group, a middle CH group, and a bottom CH2 group. Each carbon is esterified to a fatty acid chain (R1, R2, and R3 respectively) via an oxygen atom (O) and a carbonyl group (C=O).</p>	(Chaib et <i>al.</i> , 2013).

- **Phytostérols**

Les phytostérols font partie des lipides végétaux et ils sont des esters d'acides gras et d'alcool. Leur biosynthèse intervient par la voie de l'acétyl-CoA, à travers le processus isoprénique, via le squalène. L'introduction de fonctionnalisation (oxydation, cyclisation, hydroxylation,...) intervient après la mise en place du noyau stérol.

Utilisation traditionnelle et thérapeutique

P. lentiscus est connu pour sa valeur médicinale depuis l'antiquité (**Palevitch et Yaniv, 2000**). Plusieurs utilisations thérapeutiques ont été rapportées sur cette espèce (**tableau II**).

Tableau IV : Principales utilisations thérapeutiques traditionnelles de *P.lentiscus*.

Partie de la plante utilisée	Utilisation thérapeutique traditionnelle	Référence
Feuilles	- Traitement de l'eczéma, la diarrhée. -Agent antiulcéreux.	Khiariet <i>al.</i>, (2018)
Fruits	-Soigner les maladies respiratoires, la diarrhée et la pharyngite	Boukeloua, <i>et al.</i>, (2016)
Ecorce	-Pour les douleurs intestinales, diabète et diarrhée.	Lahsissene <i>et al.</i>, (2009)
Mastic	-Efficace dans le traitement des ulcères gastriques bénins et des ulcères gastroduodénaux.	Yunuset <i>al.</i>, (2003).

Il a été rapporté que *P. lentiscus* possède plusieurs activités biologiques à savoir l'activité anti-inflammatoire, antioxydante, anticancéreuse, cardioprotectrice et neuroprotectrice (**Brahmi *et al.*, 2020**). Ces activités ont été attribuées à la composition chimique riche de cette plante en composés actifs comme les polyphénols et/ ou les huiles végétales.

Les huiles végétales, notamment celles utilisées pour l'alimentation et la médecine, sont largement connues pour leur intérêt dans la prévention et le traitement de diverses affections (**Bruneton, 1999**). Les acides gras indispensables contenus dans certaines huiles végétales sont indispensables au bon fonctionnement des cellules car ils ne peuvent pas être

synthétisés par l'homme, du moins pas en quantité suffisante. Cette caractéristique essentielle associée à leur rôle vital explique pourquoi leur manque d'apport entraîne des symptômes cliniques et biologiques déficitaires. Les propriétés fondamentales de l'acide linoléique ont été reconnues chez les animaux dès 1929, et chez les humains souffrant de troubles de la reproduction chez les nourrissons, de maladies rénales et d'anomalies de la reproduction chez les enfants entre 1944 et 1950 (FAO, 1992). Les tocophérols, communément appelés vitamine E, sont des antioxydants naturels liposolubles qui s'opposent aux phénomènes oxydatifs, notamment à l'oxydation des acides gras. Les études menées à ce jour suggèrent un effet protecteur d'une alimentation riche en vitamine E contre le risque des maladies cardiovasculaires (Bruneton, 1999 ; Iserin, 2001).

II. Activité antimicrobienne

II.2.1 Généralités sur les souches testées

Bactéries

Ce sont des cellules procaryotes dont l'ADN n'est pas entouré par une membrane nucléaire. Beaucoup de bactéries contiennent des structures circulaires d'ADN extra chromosomiques appelées plasmides. Il n'y a pas d'autres organites dans le cytoplasme à l'exception du ribosome, qui est plus petit que celui des cellules eucaryotes. A l'exception des mycoplasmes, les bactéries sont entourées de parois complexes, selon qu'elles sont à Gram positif ou à Gram négatif. De nombreuses bactéries possèdent des flagelles, des pili, ou une capsule à l'extérieur de la paroi (Hart et Shears, 1999). La paroi bactérienne a un rôle protecteur, c'est la première barrière vis-à-vis de toutes les agressions qui l'entourent.

Escherichia coli

C'est un coccobacille, à Gram négatif, mobile, appartient à la famille des Enterobacteriaceae (Kayser et al., 2005). C'est une bactérie aérobie ou anaérobie facultative, (Irving et al., 2005). C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. *E. coli* est habituellement une bactérie commensale du tube digestif. La majorité des souches de *E. coli* sont inoffensives, quelques-unes seulement sont pathogènes pour l'homme. C'est le cas des souches d'*E. Coli* dites entérohémorragiques (ECEH). Ces dernières provoquent des diarrhées sanglantes et produisent une puissante toxine à l'origine du syndrome hémolytique. Régulièrement, des souches d'ECEH sont la cause d'intoxications alimentaires via la consommation de produits animaux (viande ou produits laitiers) mal cuits ou consommés

crus. Les fruits et les légumes frais, ayant été en contact avec des ECEH peuvent être également à risque (Nauciel et Vildé, 2005).

Pseudomonas aeruginosa

C'est un bacille, mobile à Gram négatif et aérobic stricte de la famille des Pseudomonadaceae (Irving et al., 2005). *P. aeruginosa* se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ses colonies (Nauciel et Vildé, 2005). Cette bactérie peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'homme et de divers animaux. Considérée comme une bactérie pathogène opportuniste, c'est le germetype des infections hospitalières ou nosocomiales (Kayser et al., 2005).

Proteus mirabilis

C'est un bacille à Gram négatif de la famille des Entérobactéries. Elle se retrouve dans le tube digestif, téguments, et orifices naturels. C'est une bactérie pathogène qui peut provoquer des infections urinaires, ce sont des bactériennes nosocomiales (Bouskraoui et al., 2017).

Enterobacter cloacae

C'est un bacille à Gram négatif de la famille des Entérobactéries. C'est un germe saprophyte du tube digestif et des cavités naturelles, qui provoque des infections nosocomiales (infections urinaires, méningites, etc ...) (Bouskraoui et al., 2017).

Champignons phytopathogènes

C'est les champignons qui sont responsables de nombreuses maladies chez les plantes, ils sont à l'origine des maladies cryptogamiques et la cause de près de la moitié des maladies connues à ce jour chez les plantes cultivées (Lepoivre, 2003). Aujourd'hui, le nombre d'espèces fongiques par rapport aux organismes vivants est de 1,5 millions, parmi ces espèces, 10% seulement sont décrites dont 10 000 sont responsables des maladies chez les végétaux et parfois même chez l'Homme et l'animal (Nasraoui, 2008). Parmi ces champignons phytopathogènes on trouve *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp*, *Alternaria sp*, et *Fusarium oxysopum*.

II.2 Agents antimicrobiens

Définition

C'est des substances chimiques produites naturellement par des microorganismes ou synthétisées en laboratoire qui ont la capacité d'inhiber la croissance ou de tuer des microorganismes.

II.2.3 Agents naturels et activité antimicrobienne

L'une des fonctions incontestées des flavonoïdes et des polyphénols est leur rôle protecteur contre l'invasion microbienne dans les plantes. Cela signifie non seulement qu'ils sont présents dans les plantes tant que blocs de construction, mais aussi qu'ils s'accumulent sous forme de phyto-alexines en réponse à une attaque microbienne (**Harborne et Williams, 2000 ; Peer et Murphy, 2006 ; Orhan et al., 2007**). Des flavonoïdes lipophiles perturbent également les membranes bactériennes (**Cowan, 1999**). En effet, plusieurs études ont rapporté l'effet inhibiteur de certains anthocyanes sur les bactéries (**Lev-Yadun et Gould, 2009**). Les acides phénoliques se sont révélés efficaces contre les bactéries à Gram+ (**Samy et Gopalakrishnakone, 2008**).

Les plantes riches en tanin présentent une activité antimicrobienne en raison de leurs propriétés astringentes dans le traitement des troubles intestinaux tels que la diarrhée et la dysenterie (**Sharma et al., 2009**). L'inhibition de la croissance des bactéries intestinales *Bacteroides fragilis*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae* par les tanins peut être liée à leur grande capacité à lier le fer (**Zaidi-Yahiaoui et al., 2008**).

L'huile essentielle est un produit naturel couramment utilisé dans de nombreuses applications médicales et a démontré une activité bactéricide, antivirale et fongicide dans des essais cliniques (**Ramsey et al., 2020**). En outre, le mécanisme d'action antimicrobien est facilité par une série de réactions biochimiques au sein de la bactérie qui dépendent du type de composition chimique de l'huile essentielle (**Ramsey et al., 2020**). De plus, des études récentes ont montré que les huiles essentielles sont capables d'inhiber les pompes à efflux bactériennes, une protéine qui joue un rôle important dans la résistance aux antimicrobiens en empêchant les composés toxiques de pénétrer dans le cytoplasme (**Aljaafari et al., 2021**).

II. 1. Matériel

II. 1. 1. Matériel chimique et appareillage

Dans cette étude, un ensemble d'appareillages et de produits chimiques sont utilisés et qui sont résumés dans le **tableau V**.

Tableau V : Appareillages et produits chimiques utilisés.

Appareillages	Produits chimiques
-Spectrophotomètre (SPECORD 50)	- Méthanol (BIOCHEM Chimopharma)
-Balance de précision(RADWAG)	- Ethanol(Honeywell)
-Bain marie (Memmert)	- Folin Ciocolteu (BIOCHEM Chemopharma)
-Vortex (Neuation)	- Carbonate de sodium (BIOCHEM Chemopharma)
-Etuve(Ecocell)	- Acide gallique(SIGMA-ALDRICH, China)
-Autoclave (Nuve)	- Quercétine (ALDRICH Chemistry)
-Rotavapeur(Heidolph)	- Diméthyle Sulfoxyde (DMSO) (BIOCHEM Chemopharma)
-Sonicateur (Raypa)	- Hexane (Sigma-aldich)
-Soxhlet (Barnstead Electrothermal)	- Acétone (Sigma-aldich)
-Disques en papier stériles	- Tétracycline de 30µg (REF : 9043)
-Microplaque(VELP)	- Antifongique (Flucanazole)
-Ecouvillons stériles	- Sabouraud gélose (Liofichem srl-ITALY)
	- Gélose nutritive (HIMEDIA)
	- Mueller Hinton (bouillon)
	- Mueller Hinton (gélose)

II.1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est constitué de fruit de *P.lentiscus* récolté au niveau de la forêt de Tizi Neftah dans la province d'Amizour de Bejaia, Algérie, durant le mois de novembre 2022.

II.2. Méthodes

Préparation du matériel végétal

La préparation de l'échantillon de fruit mature noir de *P.lentiscus* est d'une importance capitale pour toute analyse fiable. L'échantillon après séchage à l'aire libre, puis dans une étuve à 40° C pendant 48 heures, il a été soumis à un broyage à l'aide d'un Broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une pâte. Cette dernière a été conservée au frais à 4° jusqu'à utilisation.

Extraction de l'huile de *P. lentiscus* par Soxhlet

Cette méthode consiste à introduire la plante dans la cartouche en papier filtre, cette dernière sera placée dans le Soxhlet surmonté d'un réfrigérant. Le solvant condensé, s'accumule dans un réservoir à siphon, ce qui augmente la durée de contact entre le solvant et le produit à extraire. Quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute (**Feknous et al., 2014**). Un système de régénération interne du solvant permet de mettre en contact en permanence le végétal avec du solvant pur (**Marrouf et Tremblin, 2009**).

Dans cet étude, une masse de 60g de pâte a été soumise à une extraction pendant six heures dans un extracteur de type Soxhlet, en utilisant comme solvant d'extraction l'hexane (200 ml) (**Figure 5**). Après évaporation du solvant, sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C, l'huile obtenue est conservée à une température de -4 °C afin de l'utiliser ultérieurement.

Extraction des composés phénoliques par ultrasons

Dans cette étude, 100 g de poudre des graines de *P. lentiscus* dilipidée par Soxhlet, ont été mélangée avec 500 ml d'hydro méthanol à 80 % (rapport 1/5), sous agitation. Ce mélange a été soumis à une extraction par ultrason à une température ambiante pendant 30min. Les macéras ont été filtrées sous vide. Le filtrat a été en suite évaporé à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif jusqu'à obtention d'un poids constant. Le résidu sec obtenu a été récupéré dans une boîte en verre scellée, réfrigéré et stocké à l'abri de la lumière pour préserver ses propriétés physico-chimiques.

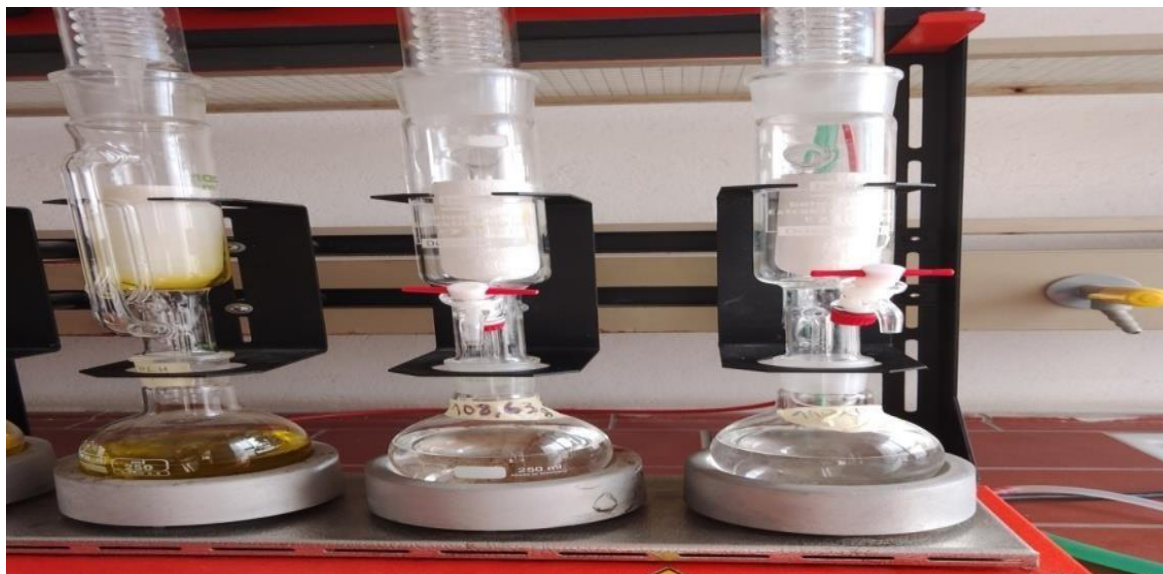


Figure 3 : Soxhlet (photo originale).

- **Détermination du rendement de l'extraction**

Le rendement d'extraction, de l'huile et de l'extrait hydro méthanolique de *P. lentiscus*, a été calculé par la formule suivante (Falleh et al., 2008).

$$\text{Rendement (\%)} = [(P_1 / P_0)] \times 100, \text{ avec :}$$

P₁: Poids de l'extrait après l'élimination du solvant

P₀: Poids de la poudre avant extraction

Dosage des composés phénoliques

Dosage des polyphénols totaux (PPT)

Ce dosage est fondé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans le blanc d'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu consiste en une solution jaune, acide, contenant un complexe polymérique d'ions (hétéropolyacides). En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéropolyacides d'où la formation d'un complexe bleu (Cadmieș Moldovan et al., 2021).

Dans cette étude, un volume de 20 µl d'extraits a été mélangé avec 100µl du réactif de Folin, et après 5 min d'incubation, 80µl de Na₂CO₃ (7,5 %) ont été additionnés au milieu réactionnel. Le mélange a été agité et incubé dans l'étuve à une température de 37°C pendant 30 min. En fin, l'absorbance a été mesurée à 765 nm. La concentration des polyphénols

totaux a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique et elle a été exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES).

Dosage des flavonoïdes

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits de fruit de *P. lentiscus* a été réalisée par la méthode de trichlorure d'aluminium AlCl₃ de (Djeridane et al., 2006). Les flavonoïdes ont une capacité à former un complexe avec le chlorure d'aluminium qui donne à la solution une coloration jaunâtre.

Dans cette étude, un volume de 100µl d'extrait a été additionné à 100µl de chlorure d'aluminium, le mélange a été incubé pendant 15 min à température ambiante et à l'obscurité. L'absorbance a été lue à 430 nm contre un blanc contenant le méthanol à la place de l'extrait. Les concentrations des flavonoïdes ont été déduites à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent de la quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ / g ES).

Etude de l'activité antimicrobienne des extraits de *P. lentiscus*

Souches microbiennes

Les germes qu'ont été testés pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits de *P. lentiscus*, ainsi que leur origine, sont résumés dans le **tableau VI**.

Revivification des souches

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive. Ces boîtes ont été incubées pendant 18h-24h à 37 °C pour les bactéries, alors que pour les champignons, une incubation de 7jours 25°C a été établie.

Préparation de l'inoculum

Pour préparer les suspensions microbiennes, le prélèvement de quelques colonies, à l'aide d'une anse de platine, a été effectué. Ce prélèvement a été dissout dans 40 ml d'eau physiologique puis a été homogénéisé à l'aide d'un vortex. La turbidité des suspensions a été mesurée à l'aide d'un densitomètre et elle a été ajustée à 0.5 du standard de Mc Farland (DO = 0.08 à 0.1 mesurée à une longueur d'onde $\lambda = 630$ nm), ce qui correspond à $1-2 \times 10^8$ UFC/ml (Yala et al., 2016).

Tableau VI: Origine et type de souches testées.

Souches	Gram	Origine
<i>Escherichia coli</i>		La clinique mère-enfant Aite Mokhtar de
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	Targa Ouzmmour de Béjaia
<i>Enterobacter cloacae</i>		
<i>Protieus mirabilis</i>	Négatif	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Positif	Laboratoire d'Ecologie Microbienne
<i>Botrytis cinerea</i>		
<i>Penicillium sp</i>		
<i>Fusarium oxysopum</i>		
<i>Aspergillus niger</i>		
<i>Alternaria sp</i>		

Tests antimicrobiens

A. Test de diffusion sur milieu solide

Des boites de Pétri contenant, le milieu Mueller Hinton (MH) pour les bactéries et le milieu Sabouraud pour Champignons, ont étéensemencées avec par écouvillonnage. Des disques, en papier, stériles de 9mm de diamètre ont été ensuite placés sur les milieux gélosés. Puis, un volume de 50µL d'extrait, ou de DMSO, ou de l'agent antimicrobien synthétique, a été déposé sur chaque disque. Les boites, ensuite, ont été incubées à l'étuve à 37°C pendant 24h pour les souches bactériennes et pendant 7 jours à 25°C pour les souches fongiques. L'activité antimicrobienne est obtenue en mesurant le diamètre d'inhibition autour des disques. Chaque expérience a été établie en duplicate et les valeurs ont été exprimées en moyenne ± écart type. Selon **Fertout-Mouri et al., (2016)**, les résultats sont exprimés selon la sensibilité des souches vis-à-vis des substances testées : résistant ($\emptyset < 08$ mm), sensible ($09 < \emptyset < 14$ mm), très sensible ($15 < \emptyset < 19$ mm), extrêmement sensible ($\emptyset > 20$ mm).

Dans cette étude, l'antibiotique utilisé est la Tétracycline (TE 30 µg) pour les bactéries à Gram négatif et positif, alors que pour les champignons le Fluconazole a été utilisé.

B. Test de micro-dilution sur milieu liquide

La CMI, définie comme la plus faible concentration de l'échantillon qui inhibe la croissance visible d'un microbe, a été déterminée par la méthode de micro-dilution sur microplaque (**Ousmane Niass et al., 2022**).Le milieu liquide utilisé est constitué de bouillon

Mueller Hinton pour bactéries et de bouillon Sabouraud pour champignons. La détermination de la CMI a été réalisée seulement pour les bactéries et les champignons ayant représenté un diamètre d'inhibition supérieur à 10 mm.

Dans chaque puits, 160µl de l'extrait (échantillon) ou de DMSO (contrôle négatif), ont été mélangées avec 160 µl de milieux de culture appropriée pour chaque souche. Un blanc d'extrait a été préparé en parallèle, composé de 160µl d'eau physiologique et 160 µl d'extrait. Ensuite, des dilutions en série ont été effectuées, pour avoir des concentrations de (32mg/ml, 16mg/ml, 8mg/ml, 4mg/ml, 2mg/ml, 1mg/ml, 0.5mg/ml, 0.25mg/ml). En fin, 40µl de la suspension microbienne ont été ajoutées au puits, excepté ceux du blanc de l'extrait, ou 40µl de l'eau physiologique ont été additionnées. Les microplaques ainsi préparées ont été incubées, à la température optimale de croissance du microorganisme, à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 7 jours pour les champignons.

Les tests ont été réalisés deux fois à raison de 4 puits/échantillon lors de chaque essai et le pourcentage d'inhibition de la croissance microbienne a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{(\text{Abs contrôle} - (\text{Abs échantillon} - \text{Abs du blanc}))}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

La concentration minimale inhibitrice de 50% de la population microbienne (IC₅₀) a été déterminée par un logiciel statistique en utilisant les pourcentages d'inhibitions calculés.

Analyse statistique

Les résultats en été exprimé en Moyenne± écart-type. Ces résultats ont été analysés en utilisant le Graph Pad prism 8 par la méthode de « Standard cuve calculations » : pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits testées. Les valeurs de CMI et d'IC₅₀ ont été exprimées en mg/ml.

Dans cette étude, notre choix s'est porté sur *P. lentiscus* qui est une source très riche en polyphénols. Elle est largement utilisée dans le bassin méditerranéen pour ses nombreuses vertus thérapeutiques (Bouyahya et al., 2019, Brahmi et al., 2020).

A travers cette étude, l'activité antimicrobienne de l'huile végétale et de l'extrait méthanolique des grains de *P.lentiscus* a été effectuée. Deux différents procédés d'extraction ont été réalisés ; le premier c'est l'extraction par Soxhlet qui a été réalisée pour extraire l'huile végétale des grains de *P. lentiscus*. Le deuxième, c'est l'extraction par ultrason qui a été effectué pour récupérer les molécules bioactifs de type polyphénols de cette plante. Ensuite, un dosage a été fait pour la détermination de la teneur des polyphénols totaux et les flavonoïdes. En fin, l'activité de ces composés a été testée vis-à-vis les souches microbiennes suivantes : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria sp*, *Fusarium oxysopum*, *Aspergillus niger*.

Extraction et dosage des polyphénols

Rendement de l'extraction

Le rendement représente la masse de l'huile et de l'extrait méthanolique, déterminée après évaporation du solvant, et exprimée en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction. Le taux d'extraction de fruit de *P. lentiscus* a été calculé et répertorié dans le **Tableau VII**, ci-dessous.

Tableau VII : Rendements et les caractéristiques de l'huile végétale et de l'extrait méthanolique de fruit de *P. lentiscus*.

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement
Huile végétale	Huileux	Vert clair	44,171%
Extrait méthanolique	Poudre	Violet	25,39%

- **Rendement de l'huile végétale**

L'extraction des huiles végétales des plantes par Soxhlet est une méthode efficace et la technique la plus actuelle. Son efficacité dépend de plusieurs facteurs tels que la taille moyenne des particules, le temps d'extraction et l'utilisation de solvants polaires et apolaires (**Danlami et al., 2015**). Dans cet méthode d'extraction, l'hexane est le plus utilisé comme un solvant organique (**Boukeloua et al., 2012**). En effet, l'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du

solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première (**Penchev, 2010**), et elle ne nécessite aucune filtration après l'extraction (**Amor, 2008**).

Dans cette étude, une extraction du fruit de *P. lentiscus* par Soxhlet, en utilisant l'hexane comme solvant d'extraction, a été réalisée. Le rendement obtenu était de 44.17%. Ce rendement est supérieur à celui de l'huile végétale de fruit de *P. lentiscus* d'Algérie (ouest de Skikda) enregistré par **Boukeloua et al., (2012)**, et qui est de 20.25%. Des rendements inférieurs ont été rapportés par d'autres études ; celle de **Dhifi et al., (2013)**(35.37%), dont la plante a été récoltée de Sidi Thabet (Ariana, Tunisie) et celle de **Benrokia et al., (2015)**, (40,5 %), dont *P. lentiscus* a été traitée par méthodes traditionnelles au niveau de la wilaya de Jijel.

Le rendement de l'huile végétale de *P. lentiscus* se rapproche de celui de certains fruits oléagineux, comme l'arachide, l'olive et le tournesol dont le rendement varier de 30 à 45 % (**Benrokia et al., 2015**). En effet, et d'après **Arab et al., (2014)**, le rendement d'extraction peut dépendre de plusieurs facteurs, il varie en fonction de l'origine de la plante, la nature de ses parties utilisées, la taille des particules, le nombre d'extractions, la période de récolte et la méthode d'extraction.

- **Rendement de l'extrait méthanolique**

L'extraction par Ultrasons est largement utilisée ces derniers temps pour ses avantages, sa capacité à utiliser moins ou pas de solvant organique, sa nature en tant que méthode d'extraction physique, sa simplicité d'opération, son efficacité d'extraction, sa capacité à préserver l'activité biologique des composés extraits, moins de dépendance au temps, et sa capacité à être mis en œuvre au niveau industriel, entre autres. Il est nécessaire d'optimiser le protocole d'extraction pour s'assurer que les meilleurs résultats sont obtenus en termes de rendements d'extraction et de préservation des activités biologiques (**Dzah et al., 2020**).

D'après les résultats obtenus dans cette étude, le rendement de l'extrait méthanolique du fruit de *P.lentiscus* noté était de 25,39 %. En outre, ce rendement est supérieur à celui de l'extrait éthanolique de fruit de la même plante récoltée de la même région et rapporté par l'étude de **Remila et al., (2015)** qui est de l'ordre de 3,07%.

D'après ces résultats, on peut déduire que l'extraction méthanolique donne un rendement maximal. Les différences observées entre les taux d'extraction sont dues probablement à différents facteurs notamment les méthodes d'extraction utilisées, la nature chimique des

composés (solubilité dans les solvants), la granulométrie, le temps d'extraction, les conditions de stockage, les différentes parties du végétal utilisé (feuille et fruit) et la présence de substances interférentes (Cowan, 1999).

Dosage des composés phénoliques

Les analyses quantitatives des phénols totaux, ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée en utilisant l'acide gallique comme molécule standard (Annexe 1). Les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait brut (mg EAG/g) (Tableau VIII).

La teneur en flavonoïdes a été déterminée selon la méthode de trichlorure d'aluminium. Les résultats ont été exprimés au µg équivalent de quercétine par gramme de l'extrait brut (mg EQ/g), on utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la quercétine (Annexe 2). Les résultats du dosage des flavonoïdes dans les extraits de fruit de *P. lentiscus* sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau VIII : Résultats du dosage des flavonoïdes et des phénols totaux.

Extrait	Teneur en Phénols totaux (mg E/g)	Teneur en flavonoïdes (mg E/g)
Extrait méthanolique	324,91±26.02	11.07±0.42
Huile végétale	Trace	Trace

D'après le **tableau VIII**, la concentration en phénols totaux de l'extrait méthanolique de fruit de *P. lentiscus* est d'environ 324,91±26.02 mg EAG/g d'extrait, contrairement à l'extrait huileux dont les phénols totaux sont insignifiants. En effet, la teneurs de l'extrait méthanolique de *P. lentiscus* en phénols totaux est supérieure à celle des travaux menés par **Remila et al., (2015)** et **Yemmem et al., (2017)** sur les extraits éthanoliques de la même partie de la plante et qui sont de 205,97 ±6,51 et 41,8 ±1,03 mg EGA /g d'extrait, respectivement.

Ces résultats sont encore meilleurs que ceux obtenus par les travaux de **Barbouchi et al., (2018)**, qui ont étudié des extraits méthanoliques des feuilles de *P.lentiscus* et dont la valeur en phénols totaux était de 146,08 ± 0,67 mg GAE/g d'extrait.

Concernant la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique de *P. lentiscus*, qui est de $11,069 \pm 0,426$ mg EQ/g d'extrait, est largement supérieure à celles trouvées sous forme de trace dans l'extrait de l'huile végétale. Ces résultats sont confirmés par **Aissatet al., (2022)**, et qui ont rapportés dans leurs études que l'extrait méthanolique de *P. lentiscus* est riche en composés phénoliques notamment les flavonoïdes (catéchine, quercétine, naringénine 7-O-glucoside, naringénine, et taxifoline...etc).

Les résultats obtenus de cette recherche nous laisse suggérer que l'extrait de fruit de *P. lentiscus* est plus riche en composés phénoliques qui peuvent englobés plusieurs classes. Une grande différence a été trouvée en comparant nos résultats de composés phénoliques et de flavonoïdes avec ceux d'autres auteurs. Cette différence est expliquée par plusieurs facteurs : les méthodes d'extraction et les solvants utilisés, la partie utilisée de la plante, la période de récolte et les facteurs climatiques (**Lee et al., 2005**).

Par manque de données portant sur les composés phénoliques de l'huile de *P. lentiscus*, nous n'avons pas pu comparer nos résultats avec autres travaux. Par contre, la très faible teneur en polyphénols de l'huile de lentisque par rapport à l'extrait méthanolique, est probablement due, à la polarité du solvant d'extraction et aux propriétés des polyphénols qui sont généralement solubles dans les solvants polaires (éthanol, méthanol) et les solutions aqueuses et peu solubles dans les solvants organiques apolaires (chloroforme et hexane) (**Macheix et al., 2005**).

Effet antimicrobiens des extraits de fruit de *P. lentiscus*

Test de diffusion sur milieu solide

Dans la présente étude, le pouvoir antimicrobien des extraits de *P. lentiscus* a été étudié. Ce pouvoir a été testé vis-à-vis des bactéries ; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* et sur des champignons phytopathogènes ; *Botrytis cinerea*, *Penicillium sp*, *Fusarium oxysopum*, *Alternaria sp*, *Aspergillus niger* par la méthode de diffusion sur milieu solide. Actuellement, cette méthode est la plus connue et la plus utilisée. Elle consiste en l'ensemencement sur un milieu gélosé (Mueller Hinton), d'une suspension bactérienne, qui peut exprimer l'activité antimicrobienne en indiquant directement la zone d'inhibition en millimètre (Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand plus la souche est sensible, et plus le diamètre est petit, plus la souche est résistante). Les disques ont une capacité d'absorption limitée, il est donc important de ne pas dépasser cette capacité afin de connaître le volume exacte déposé. La

méthode de diffusion est une technique permettant d'avoir une idée préliminaire sur la capacité d'un extrait à inhiber la croissance microbienne (Couriera, 2017).

L'activité antimicrobienne de l'huile végétale et l'extrait de *P. lentiscus* a démontré une inhibition de croissance des souches cibles par une variation des diamètres d'inhibition qui sont représentés dans le **Tableau IX**.

Tableau IX: Diamètres de zone d'inhibition de l'huile et de l'extrait méthanolique ainsi que l'antibiotique de référence(en mm) des souches testées.

Souches testées	Huile végétale	Extrait méthanolique	Tétracycline
<i>Escherichia coli</i>	16 ± 0,0	26 ± 0,0****	30
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13 ± 0,0	19,5 ± 0,7****	35
<i>Enterobacter cloacae</i>	11,5 ± 0,7	19,5 ± 0,7****	32
<i>Proteus mirabilis</i>	23,5 ± 0,7****	19,5 ± 0,7	29
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	20 ± 0,0****	8 ± 0,0	30

Les résultats sont exprimés en moyenne ±SD, et les valeurs sont significativement différentes à *P <0.05, **P <0.01, et ***P <0.001, ****P<0,0001).

Les résultats du test de sensibilité a montré un effet inhibiteur significatif de l'huile végétale de *P. lentiscus* vis-à-vis *E. coli* (16 ± 0,0mm). En effet, l'extrait méthanolique de la même plante a exhibé un effet très hautement significatif (26 ± 0,0mm) vis-à-vis la même souche.

Concernant *Pseudomonas aeruginosa*, un diamètre d'inhibition significatif de l'huile a été révélé mais inférieur à celui exprimé par l'extrait méthanolique, avec des valeurs de 13 ± 0,0 et 19.5 ± 0,7 mm, respectivement.

L'huile des graines de *P. lentiscus* a montré un effet inhibiteur significatif contre *Enterobacter cloacae* (11,5 ± 0,7mm). En revanche, un effet hautement significatif (P<0,0001) de l'extrait méthanolique vis-à-vis de la même souche a été remarqué (19,5 ± 0,7 mm).

Proteus mirabilis est significativement sensible à l'extrait de l'huile mais très hautement sensible à l'extrait méthanolique de *P. lentiscus*, avec des diamètres de 23,5 ± 0,7 et 19,5 ± 0,7 mm, respectivement.

Pour *Staphylococcus epidermidis*, une zone d'inhibition d'un diamètre de $8 \pm 0,0$ mm a été obtenue, ce qui signifie que cette souche est résistante à l'extrait méthanolique de lentisque. Cette même souche demeure très significativement sensible à l'extrait de l'huile ($20 \pm 0,0$ mm).

L'antibiotique de référence, Tétracycline, est efficace sur toutes les souches testées ce qui est dû au fait que cette antibiotique possède un large spectre d'activité. Les Tétracyclines inhibent de manière réversible la synthèse des protéines bactériennes en se liant au complexe ribosomal, empêchant l'association d'aminocyl-ARNt avec le ribosome bactérien (**Marilyn, 2023**).

Plusieurs études ont rapporté l'effet antimicrobien des extraits de différentes parties de *P. lentiscus*. L'étude de **Debbabi et al., (2017)** a résumé un nombre important de travaux indiquant la forte activité antibactérienne de *P. lentiscus* vis-à-vis *Helicobacter pylori*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes* CECT 935, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* sp., *Enterococcus faecalis*, *Mycobacterium aurum*, et *Mycobacterium smegmatis*.

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre (**Ponce et al., 2003**). D'après nos résultats, l'huile végétale de fruit de *P. lentiscus* est plus efficace vis-à-vis des souches bactériennes à Gram positif (*S. epidermidis*) contrairement aux bactéries à Gram négatif qui sont plus sensibles à l'extrait hydro méthanolique. Ceci est dû à la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif constituée par une seule couche alors que celle des Gram négatif a une structure multicouche liée à une membrane cellulaire externe ce qui forme une barrière imperméable aux substances qui peuvent pénétrer et inhiber la croissance bactérienne (**Ali-Shtayeh et al., 1998**). Il a été signalé aussi par **Wen et al., (2003)** que le contact direct des composés phénoliques avec les peptidoglycanes de la paroi des bactéries à Gram (+) conduit à la perte de leur rigidité ce qui provoque la lyse de ces dernières sous la pression osmotique provoquant ainsi l'altération de leur membrane cellulaire.

Cette variabilité de l'efficacité des extraits de plantes peut aussi dépendre de leur composition chimique qui peut-être liée à la polarité des substances biologiquement actives. Un composé moins polaire comme les flavonoïdes, sans groupe hydroxyle OH, est plus efficace que les agents antimicrobiens avec hydroxyle (**Cowan, 1999**).

L'huile de *P. lentiscus* a montré une activité antibactérienne significative. Ces résultats peuvent être liés à l'effet inhibiteur des acides gras. Dans ce contexte, il a été rapporté que

l'acide oléique et linoléique, qui sont les majors constituant de l'huile fixe des graines de *P. lentiscus*, possèdent un potentiel antibactérien puissant (Mezni et al., 2014).

Concernant l'effet antifongique des extraits de *P. lentiscus* sur milieux solide, les résultats sont représentés dans le **tableau X**. L'analyse de ces résultats montre un effet antifongique significatif de l'extrait de l'huile vis-à-vis *Botrytis cinerea* et *Penicillium sp*, avec des diamètres de $14 \pm 0,0$ et $12 \pm 0,0$ mm, respectivement. Les souches de *Fusarium oxysopum*, *Alteraria sp* et *Aspergillus niger* n'ont représenté aucune zone d'inhibition, ce qui indique leur résistance à l'extrait de l'huile de *P.lentiscus*.

Tableau X: Diamètres de zone d'inhibition de l'huile et de l'extrait méthanolique ainsi que l'antifongique de référence (en mm) des souches testées.

Souches testées	Huile végétale	Extrait méthanolique	Fluconazole
<i>Botrytis cinerea</i>	$14 \pm 0,0$ ****	$2 \pm 0,0$	0
<i>Penicillium sp</i>	$15 \pm 0,0$	$20 \pm 0,0$ ****	20
<i>Fusarium oxysopum</i>	$0 \pm 0,0$	$16,5 \pm 0,7$ ****	13
<i>Alternaria sp</i>	$0 \pm 0,0$	$21.5 \pm 0,7$ ****	18
<i>Aspergillus niger</i>	$0 \pm 0,0$	$20 \pm 0,0$ ****	15

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD, et les valeurs sont significativement différentes à *P <0.05, **P <0.01, et ***P <0.001, ****P<0,0001).

A propos de l'extrait hydro méthanolique de *P. lentiscus*, les résultats ont dévoilé un effet inhibiteur très hautement significatif vis-à-vis les souches fongiques testées à l'exception de *Botrytis cinerea* qui est résistante à l'effet de cet extrait.

Nos résultats confirment que l'huile végétale et l'extrait hydro méthanolique de *P. lentiscus* possède un effet antifongique puissant vis-à-vis *Botrytis cineria* et *penicillium sp*. Ces résultats sont comparables à ceux de **Debbabi et al., (2017)** qui a annoncé un effet antifongique de l'huile de fruit de *P. lentiscus* vis-à-vis *Penicilium sp* (35%). **Kordali et al., (2003)** ; **Barra et al., (2007)** et **El Idrissi et al., (2016)** reportant une activité antifongique de l'huile essentielle du lentisque, respectivement vis-à-vis de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium sambucinum* et *Candida albicans*, mais pas vis-à-vis de *Penicillium commune*, activité attribuée à l' α -terpinéol et au terpinèn-4-ol (**Kordali et al., 2003**). L'activité antifongique de nos extraits peut être liée aussi à la capacité largement répandue des flavonoïdes à inhiber la germination des spores des agents pathogènes des plantes. Un autre mécanisme par la préservation en fer est impliqué. De nombreux microbes peuvent surmonter les défenses végétales à base de tanins. Ils peuvent détoxifier les tanins parla synthèse de polymères en les

complexant, ou par la synthèse des sidérophores (Debbabi et al., 2017). Ces résultats sont en faveur de l'utilisation de *P. lentiscus* dans la lutte biologique contre les champignons phytopathogènes provoquant des pertes de récoltes importantes et qui influencent sur l'économie et l'écologie.

Test de micro-dilution sur milieu liquide

Afin de déterminer l'efficacité de nos extraits, on a procédé à la détermination de la CMI et de l'IC₅₀ des extraits. Les résultats des CMI et d'IC₅₀ des extraits de *P.lentiscus* vis-à-vis les souches microbiennes testées sont exprimés dans les **tableaux XI**.

Tableau XI : CMI et IC₅₀ des extraits *P. lentiscus*.

Souches testées	Huile végétale		Extrait méthanolique	
	CMI (mg/ml)	IC ₅₀ (mg/ml)	CMI (mg/ml)	IC ₅₀ (mg/ml)
<i>Escherichia.col I</i>	32	12,33	4 – 8	1 ,96
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	/	6,00	2 – 4	0,95****
<i>Enterobacter Cloacae</i>	>32	6,04	2 – 4	0,78****
<i>Proteus mirabilis</i>	16 – 32	0,15	1 – 2	0,24
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4 – 8	0,28	0,25-1	0,32
<i>Botrytis cinerea</i>	2 – 4	1,95	4 – 8	1,20
<i>Penicillium sp</i>	4 – 8	0,00	8 – 16	0,00

Les résultats sont exprimés en moyenne ±SD, et les valeurs sont significativement différentes à *P <0.05, **P <0.01, et ***P <0.001, ****P<0,0001).

Les valeurs des concentrations minimales inhibitrices ont été déterminées dans une large gamme de concentration allant de 0,25 à 32 mg/ml. L'extrait le plus actif, avec les concentrations les plus faibles (0,25-1 mg/ml), est celui de l'extrait méthanolique de *P. lentiscus* vis-à-vis *Staphylococcus epidermidis* suivi par celui de l'huile végétale de *P. lentiscus* contre *Botrytis cinerea* (2 – 4mg/ml).

D'après le **tableau XI**, la meilleure valeur d'IC₅₀ est celle de l'extrait huileux de *P. lentiscus* vis-à-vis de *P. mirabilis*, et qui est de 0,15 mg/ml, suivie de celle de l'extrait méthanolique contre la même souche qui est de l'ordre de 0,24 mg/ml. La comparaison des résultats de l'analyse qualitative (diamètres d'inhibition sur milieu solide) et l'analyse quantitative (CMI et IC₅₀) de l'activité antimicrobienne des extraits de *P. lentiscus*, a souligné que les souches présentant les plus grandes zone d'inhibition ne sont pas toujours ceux qui présentent les valeurs de CMI et IC₅₀ les plus basses. Ces observations suggèrent que la taille de la zone d'inhibition ne reflète pas nécessairement l'efficacité réelle d'un composé antibactérien. Des valeurs d'IC₅₀ élevées ne signifient pas que tous les extraits testés sont inactifs (**Mezni et al., 2014**).

L'intérêt de l'étude scientifique du pouvoir thérapeutique des plantes médicinales n'a cessé d'augmenter durant ces dernières années, afin de rechercher de nouvelles alternatives aux drogues chimiques, qui sont sans effets néfastes pour la santé humaine et pour l'environnement.

Parmi les plantes en cours d'étude, nous trouvons en particulier *P.lentiscus*, qui est la plante la plus répandue dans le bassin méditerranéen et qui a été sélectionnée dans le but de rechercher de nouveaux composés antimicrobiens naturels à intérêt thérapeutique.

Le fruit de *P. lentiscus*, a fait l'objet d'une étude détaillée, commençant par l'extraction de son huile végétale avec l'hexane par un extracteur Soxhlet et l'extraction des composés phénoliques avec le méthanol par ultrason. Ensuite, le dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes) présents dans ces extraits a été fait par des méthodes colorimétriques suivi de l'évaluation de leur activité antimicrobienne, *in vitro*. Cet activité a été évaluée par deux méthodes ; la diffusion sur milieu solide et la méthode de micro-dilution, vis-à-vis : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* et vis-à-vis aussi des champignons phytopathogène : *Botrytis cinerea*, *Penicillium sp*, *Fusarium oxysopum*, *Alternaria sp*, *Aspergillus niger*.

Les résultats obtenus nous a permis de mettre en évidence la richesse de fruit de lentisque en polyphénols et en flavonoïdes (324,91±26.02 mg EAG/g, 11.07±0.42 mg Eq /g, respectivement). Ces composés actifs ont attribué à cette plante une activité antimicrobienne significative. La meilleure activité enregistrée en termes de zone d'inhibition est celle de l'extrait méthanolique vis-à-vis d'*Escherichia coli* et qui est de 26 mm. Alors que, en termes de CMI, l'extrait méthanolique a exhibé la valeur la plus faible de 0,25-1 mg/ml, vis-à-vis *S.epidermidis*. En effet, la valeur d'IC₅₀ la plus significative (0,24 mg/ml) est celle de l'extrait huileux de *P. lentiscus*, contre *Proteus mirabilis*.

Des études complémentaires approfondies sont nécessaires pour mieux comprendre les molécules impliquées dans l'activité antimicrobienne de *P. lentiscus* et les mécanismes par lesquels ces composés agissent. Ces expertises peuvent être récapitulées dans les points suivants :

- Etude de l'activité antimicrobienne d'autres extraits de *P. lentiscus*
- Etude de l'effet inhibiteur de *P. lentiscus* vis-à-vis d'autres souches comme les virus

- Etude de l'activité antimicrobienne de *P. lentiscus in vivo*.

Références bibliographiques

- Antonio, F.Z., Marcelo, C., Priscila, j. C., Luciana, I.M., Alessandro, N. (2017). Distribution of phenolic compounds and antioxidant capacity in apples tissues during ripening. Food Scientific Technologie. Journale of Food Science Technologie, 54, 1511–1518.
- Aljaafari, MN, AlAli, AO, Baqais, L., Alqubaisy, M., AlAli, M., Molouki, A., ... & Lim, SHE (2021). Tour d'horizon des applications thérapeutiques potentielles des huiles essentielles. Molécules, 26 (3), 628
- Al-Sghir M.G. (2006). Phylogenetic Analysis of Genus Pistacia (Anacardiaceae). Thèse de doctorat, Blacksburg, Virginia, 37p.
- Arab, K., Bouchenak, O., Yahiaoui, K. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle et des composés phénoliques du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.). J Fundment Appl Sci., (2014). 6(1), 79-93.
- Ali-Shtayeh MS., Yaghmour RMR., Faidi YR., Salem K., Al-Nuri MA, 1998. Antimicrobial Activity of 20 Plants Used in Folkloric Medicine in the Palestinian Area. Journal of Ethnopharmacology : Vol. 60, No. 3, 265-271.
- Amor, B. B. (2008). Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs : texturation par détente instantanée contrôlée (DIC), p.178-187.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Paris : Technique et Documentation-lavoisier, 3 ème édition. 1120 p.
- Baba-Aissa, F. (1999). Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, p : 1-218.
- Barra A, Coroneo V, Dessi S, Cabras P, Angioni A (2007). Characterization of the volatile constituents in the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from different origins and its antifungal and antioxidant activity. - Journal of Agriculture and Food Chemistry, 55(17): 7093-7098.
- Boukeloua, A. Belkhiri, Z. Djerrou, L. Bahri, and N. Boulebda, "Acute toxicity of *Opuntia ficus indica* and *Pistacia lentiscus* seed oils," African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, vol. 9, pp. 607– 611, 201.
- Benrokia et Aouar. (2015). Etude de l'activité Antibactérienne des extraits de *Pistacia lentiscus* Mémoire de Master en analyses Biologiques et Biochimiques. Isolés à partir d'une

plante médicinale. Mémoire de Master en Toxicologie et Santé, Université des Frères Mentouri Constantine 2.

- Boukeloua, A. (2009). Caractérisation botanique et chimique et évaluation pharmacotoxicologique d'une préparation topique à base d'huile de *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae). Mémoire de Magister en biologie Spécialité : Biotechnologie végétale. Université Mentouri de Constantine, Algérie. PP ; 79.
- Barbouchi, M.; Elamrani, K.; El Idrissi, M, and Choukrad, M. (2018). A comparative study on phytochemical screening, quantification of phenolic contents and antioxidant properties of different solvent extracts from various parts of *Pistacia lentiscus* L. Journal of King Saud University - Science 12p.
- Brown, E.D.; Wright, G.D. Chemical Reviews. American Chemical Society, 2005.
- Bouyahya, A., Abrini, J., Dakka, N., & Bakri, Y. (2019). Essential oils of *Origanum compactum* increase membrane permeability, disturb cell membrane integrity, and suppress quorum-sensing phenotype in bacteria. Journal of Pharmaceutical Analysis, 9(5), 301-311.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2017). Resistance to antibiotics and mechanisms of action of essential oils against bacteria. *Phytothérapie*, 3, 1-11.
- Brahmi, F.; Haddad, S.; Bouamara, K.; Yalaoui-Guellal, D.; Prost-Camus, E.; Pais de Barros, J.P.; Prost, M.; Atanasov, A.G.; Madani, K.; Boulekbache Makhoul, L.; Lizard, G. (2020).
- Bensegueni, A. (2007). Les onguents traditionnels dans le traitement des plaies et des brûlures. Thèse d'Etat en sciences vétérinaires. Université Mentouri Constantine. PP : 21-22.
- Benabderrahmane M., Benali M., Aouissat H., et Jordan, M.J. (2009). Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. de l'Algérie. *Phytothérapie*. 7 (6) :304-308.
- Chia, J.W., Gow, C.Y. (2012). Chemopreventive effects of dietary phytochemicals against cancer invasion and metastasis: Phenolic acids, monophenol, polyphenol, and their derivatives journal of Science Direct ,38 , 76–87.
- CONTRIBUTION AL'ANALYSE DES PARAMETRES PHYSICOCHIMIQUES DE L'IIIaE RAFFINEE "SAVOR" ; KDNKDBD Frédéric AndersDn, RAPPORTDEFIN DE CYCLE Pour obtenir la LICENCE PROFESSIONNELLE DE GENIE BIOLOGIQUE ; UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBQ..DIOULASSO 2015.

- Contribution à l'analyse physico-chimique de l'huile d'arachides, d'amandes et de leur mélange. Détermination de leurs pouvoirs antimicrobiens, BENAMMAR C., Diplôme de MASTER En Sciences des aliments, UNIVERSITE de TLEMCEM 2017,p17-4.
- CHAIB F., KHENFER A., 'Synthèse de biodiesel par la transestérification des huiles commercialisées', Ouargla, Algérie, pages 4-5, 2013.
- comparison of chemical composition and biological activities of Algerian seed oils of Pistacia lentiscus L.,Opuntia ficus indica (L.) mill. And Argania spinosa L. Skeels. Industrial crops and products .151:112-456.
- Couriera M. (2017). Étude in vitro de la potentialisation d'antibiotiques contre les souches d'E.coli O78K80 multiresistantes isolées en élevage aviaire par des huiles essentielles. Thèse de doctorat : vétérinaire. Lyon : Université Claude Bernard Lyon1 ,205p.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agent. Clinical Microbiology Reviews, 12 (4) :565,568-571.
- Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. Journal of AOAC International, 88: 1269-1277.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. and Vidal N. (2006). Antioxydant activity of some Algerian medicinal plant extract containing phenolic compounds. Food Chemistry, 97: 654-660.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Maamri, S., Djireb, F., & Stocker, P. (2006). Phenolic extracts from various Algerian plants as strong inhibitors of porcine liver carboxylesterase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 21(6), 719- 726.
- Dzah, Courage Sedem et al. 2020. « The Effects of Ultrasound Assisted Extraction on Yield, Antioxidant, Anticancer and Antimicrobial Activity of Polyphenol Extracts: A Review ». Food Bioscience 35 : 100547.
- Debbabi, H., Nemri, K., & Riahi, H. (2017). *Antimicrobial Effects of Pistacia lentiscus L. Foliar Extracts on fresh turkey breast cutlets*. 40.
- Danlami, J. M., Arsad, A., & Zaini, M. A. A. (2015). Characterization and process optimization of castor oil (Ricinus communis L.) extracted by the soxhlet method using polar and non-polar solvents. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 47, 99-104.
- Détermination de la capacité antioxydante des huiles végétales : Huile Afia, Chekroun Nabila, MEMOIRE DU MASTER EN CHIMIE,UNIV Abou Bekr Belkaide ,2013 p13-12-14.

- Doron S, Gorbach SL. Bacterial Infections: Overview. Published online 2008:11.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. et Vidal N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97 (4): 654-660.
- DUVAL, J.; SOUSSY, C.J. (1990). *Antibiothérapie*, 4e édition, MASSON, p11-12
- Extraction et caractérisation physico-chimique d'une huile végétale ; Dahamna Siham & Chergui Nesrine; Diplôme de Master, Biochimie ; Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A. 2021p1.
- 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.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes rendus biologiques*, 331(5), 372- 379.
- FARINES.M, SOULIER.J, CHARROUF.M et CAVE.A. Etude de l'huile des graines d'arganiaspinosa(L), spotaceae. Il stérols, alcool triterpénique et méthylsterols de l'huile d'argan. *Rev.Fr des corps gras* Vol 31n°11, novembre. 1984. pp. 443-448.
- FAO. (1992) *Minor Oil Crops*, édition FAO, Intermediate technology development UK, pp 3-9.
- Fertout-Mouri, N., Latreche, A., Mehdadi, Z., & Bengherraz, Z. (2016). Activité antibactérienne de quatre extraits de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Antibacterial activity of four extracts of Teucrium polium* L. of Tessala mount (western Algeria). *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège*.
- González LV. Human Pathogenic Enterobacteriales. In: Rezaei N, ed. *Encyclopedia of Infection and Immunity*. Elsevier; 2022:628-636. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818731-9.00160-9>.
- Guichard C., (1967) *Elements de Pharmacie et de Technologie Pharmaceutique (Pharmacie Galénique)*, Flammarion.
- Garnier, G. ; Bézanger-Beauquesne, L. et Debraux, G. (1961). *Ressources médicinales de la flore française*. Edition, Vigot Frères Editeurs, p : 665-666 .

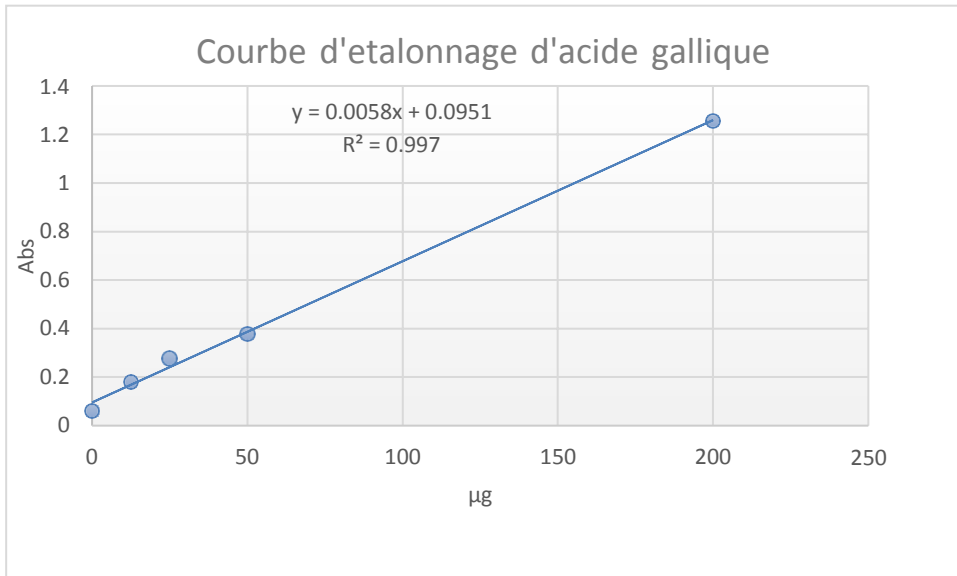
- Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in microbiology*, 3, 12.
- Husain, N., Gupta, S. (2015). A Critical Study on Chemistry and Distribution of Phenolic Compounds in Plants, and Their Role in Human Health. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 3, 57-60.
- Hart T. et Shears P., 1999. Atlas de poche de microbiologie, Médecine-Sciences Flammarion, Paris, 310 p.
- Harborne, J. B. et Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992-a review. *Phytochemistry*, 55: 481-504.
- Irving, W., Ala'Aldeen, D. & Boswell, T. (2005). *Medical Microbiology*. Collection Instant Notes. Taylor et Francis. 350p.
- Igor, O.M., Hector A.G., Chung, Y O.C., Giuseppina, P.P. (2016). Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability. *Biological Activity*, 10, 5772-66368.
- Iserin P., (2001) *Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soins* 2ième édition Ed Larousse/VUEF, pp13-16, p 250, pp291-296.
- Julien, K. (2013). *Les huiles végétales c'est malin*. Leduc.s Éditions, 22 août 2013 - 256 pages. p.13, 19, 20, 21, 35.
- Kayser, M.D. F. H., Bienz, K. A., Eckert, Ph.D. J. & Zinkernagel, M.D. M. R. (2005). *Medical Microbiology*. Edition Thieme. 698p.
- Khiari, M.b., Kechrid, Z., Klibet, F., Elfeki, A., Shaarani, M.d.S. et Krishnaiah, D. (2018). Preventive effect of Pistacia lentiscus essential oil. *Toxicology reports*. 549: 1-29.
- Kordali S, Cakir A, Zengin H, Duru ME (2003). Antifungal activities of the leaves of three Pistacia species grown in Turkey. *Fitoterapia*, 74(1-2): 164-167.
- Lecerf J. M. (2011). Les huiles végétales particularités et utilités. *Médecine des maladies Métaboliques*. (5) 3 : 257-262.
- Lee, J.; Barnes, K.W.; Eisele, T.; Giusti, M.M.; Haché, J.; Hofsommer, H.; Koswig, S.; Krueger, D.A.; Kupina, S.; Martin, S.K.; Martinsen, B.K.; Miller, T.C.; Paquette, F.; Ryabkova, A.; Skrede, G.; Trenn, U, and Wightman, J.D. (2005). Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment.
- Lev, E.; Amar, Z. (2000). Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in Israel at the end of the 20th century. *Journal of Ethnopharmacology* 72 : 191-205.

- Lee, J.; Koo, N.; Min, D.B. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 3: 21-33.
- Lepoivre P. (2003). Les bactéries phytopathogènes. La phytopathology. Edition De Boeck. Bruxelles.
- Lev-Yadun, S. et Gould, K. S. (2009). Role of Anthocyanins in Plant Defence. Science, Business Media, LLC. Pp: 22-48.
- Mezni, F., Aouadhi, C., Khouja, M. L., Khaldi, A., & Maaroufi, A. (2015). *In vitro* antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* L. edible oil and phenolic extract. *Natural Product Research*, 29(6), 565- 570. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.952232>.
- Mohtadji, C. (1989). Les aliments. Edition Maloine. Paris, PP : 94. ISBN 2- 224-□018894.
- Mann J., (1987) Secondary Metabolism 2ième edtion, Clarendon Press, Oxford p133.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1451-1474.
- Moldovan, C., Frumuzachi, O., Babotă, M., Menghini, L., Cesa, S., Gavan, A., Sisea, C. R., Tanase, C., Dias, M. I., & Pereira, C. (2021). Development of an Optimized Drying Process for the Recovery of Bioactive Compounds from the Autumn Fruits of *Berberis vulgaris* L. and *Crataegus monogyna* Jacq. *Antioxidants*, 10(10), 1579.
- Macheix, J. J., Fleuriet, A., Jay- Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, p: 192.
- Nauciel, C. & Vildé, J.L. (2005). Bactériologie médicale, 2èmeEd. Masson . Paris. 5- 10.
- Nasraoui B. (2008). Principales maladies fongiques des céréales et des légumineuses en Tunisie. Main Fungal diseases of cereals in Tunisia. Centre de publication universitaire. Tunisie.
- Ozcan, T. , Akpınar, B.A. , Yılmaz, E.L., Delikanlı, B. (2014). Phenolics in Human Health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications* ,5, 393 -396.
- Orhan, I.; Özcelik, B. et Şener, B. (2007). Antiviral and antimicrobial evaluation of some heterocyclic compounds from Turkish plants. *Top Heterocycl Chem*, 11: 303-323.
- Penchev, P. I. (2010). Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions, 129-218 .

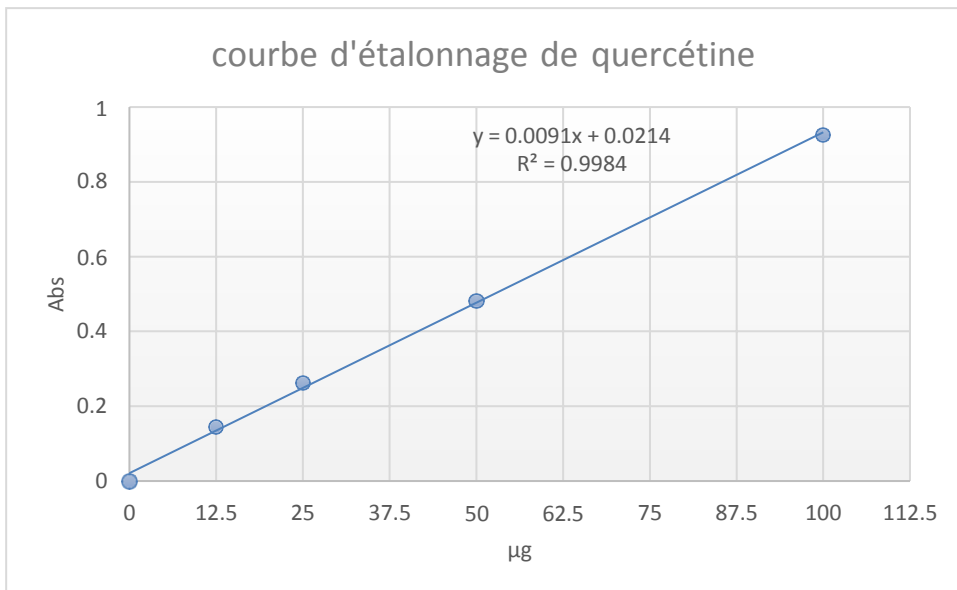
- Ponce A. G., Fritz R., Del valle C. et Roura S.I., (2003). Antimicrobial activity of oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Society of Food Science and Technology (Elsevier)*.36: 679-684).
- Peer, W. A. et Murphy, A. S. (2006). Flavonoids as Signal Molecules: Targets of Flavonoid Action, Pp : 239-257. In : *The Science of Flavonoids*, The Ohio State University Columbus, Ohio, USA.
- Remila, Saliha et al. 2015. « Antioxidant, Cytoprotective, Anti-Inflammatory and Anticancer Activities of Pistacia lentiscus (Anacardiaceae) Leaf and Fruit Extracts ». *European Journal of Integrative Medicine* 7(3) : 274 86.
- Regnault. (2002). *Eléments de microbiologie et de l'immunologie*. Decarie Canada,
- 601pp.
- Ramsey, J. T., Shropshire, B. C., Nagy, T. R., Chambers, K. D., Li, Y., & Korach, K. S. (2020). Focus: Plant-based medicine and pharmacology: Essential oils and health. *The Yale journal of biology and medicine*, 93(2), 291.
- Samy, R. P. et Gopalakrishnakone, P. (2008). Therapeutic potential of plants as anti-microbials for drug discovery—a review. *eCAM*, 1-12.
- Shah, A.; Cross, R.F.; Palombo, E. *Phytotherapy Research*. 2004,18, 615-618.
- Sharma, A.; Patel, V. K. et Ramteke, P. (2009). Identification of vibriocidal compounds from medicinal plants using chromatographic fingerprinting. *World J Microbiol Biotechnol*, 25: 19-25.
- Trabelsi, H ;Olfa, A ; Cherif, F ;Sakouhi, P ; Justin, R ; Nathalie, B ; Paul, M. (2011). Total lipid content, fatty acids and 4- desmethylsterols accumulation in developing fruit of Pistacia lentiscus L. growing wild in Tunisia. *Food Chemistry*. Epub.
- Valorisation des arachides (*Arachis hypogea* L.) cultivées à la Wilaya D'ElOued, AGUIEB Zineb et MESSAI BELGACEM Messaouda ,mémoire master , Sciences biologiques, UNIVERSITE ECHAHID HAMMA LAKHDAR D'EL-OUED juin 2015 p6.
- Vermirris, W., et Nicholson, R. (2006). *Phenolic compound biochemistry*. Edition Springer, pp 1-3.
- Wen AM, Delaquis P, Stanich K, Toivonen P. 2003. Antilisterial activity of selected phenolic acids. *Food Microbiol*,20:305–311.
- Yala, J.-F., Ntsameso-Mve-Mba, V., Issembe, Y. A., Lepengue, N. A., & Souza, A. (2016). Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'Eryngium foetidum récolté dans la ville de Franceville. *Journal of Applied Biosciences*, 103, 9886- 9893.

- Yahiaoui –Zaidi R., Jouan B., et Andrivon D. 2000. Biochemical and molecular variability among *Erwinia* isolates from potato in Algeria. *Plant Pathology*, 52: 28-40.
- Yemmen, M.; Landolsi, A.; Ben Hamida, J.; Mégraud, F, and Trabelsi Ayadi, M. (2017). Antioxidant activities, anticancer activity and polyphenolics profile, of leaf, fruit and stem extracts of *Pistacia lentiscus* from Tunisia. *Cellular and Molecular Biology* 63(9): 87-95.
- Zaidi–Yahiaoui, R. ; Zaidi, F. et Ait Bessai, A. (2008). Influence of gallic and tannic acids on enzymatic activity and growth of *Pectobacterium chrysanthemi* (*Dickeya chrysanthemi* bv. *chrysanthemi*). *African Journal of Biotechnology*, 7 (4): 482-486.

Annexes



Annexe 1 : courbe d'étalonnage d'acide gallique



Annexe 2 : courbe d'étalonnage d'acide quercétine

Résumé

Pistacia lentiscus est une plante de la famille des Anacardiaceae, utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement de plusieurs pathologies (inflammatoires, infectieuses, diarrhée, la pharyngite, et les maladies respiratoires). Cette étude a pour but d'extraire les composés actifs existants dans l'huile végétale et l'extrait méthanolique de fruit de *P. lentiscus*, déterminer la teneur de ces extraits en polyphénols totaux et en flavonoïdes et d'évaluer l'activité antimicrobienne *in vitro* via deux méthodes ; méthode de diffusion sur disque et la micro-dilution, vis-à-vis : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis*; *Botrytis cinerea*, *Penicillium sp*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria sp*, *Aspergillus niger*. Les résultats obtenus nous ont permis de mettre en évidence la richesse de fruit de lentisque en polyphénols et en flavonoïdes de l'ordre $324,91 \pm 26,02$ mg EAG/g, $11,07 \pm 0,42$ mg Eq /g. En effet, cette richesse a été aussi liée à la forte activité antimicrobienne observée dans cette étude.

Mots clés : *P. lentiscus*, huile végétale, composés phénoliques, activité antimicrobienne

Abstract

Pistacia lentiscus is a plant of the Anacardiaceae family, used in traditional medicine in the treatment of several pathologies (inflammatory, infectious, diarrhea and pharyngitis, and respiratory diseases). This study aims to extract vegetable oil and phenolic compounds from the fruits of *P. lentiscus*, determine its content of polyphenols and flavonoïds and evaluate the anti-antimicrobial activity *in vitro* via two methods (method of disk diffusion and micro-dilution) against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* and; *Botrytis cinerea*, *Penicillium sp*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria sp*, *Aspergillus niger*. The results obtained allowed us to highlight the richness of mastic tree fruit in polyphenols and flavonoïds of the order of 324.91 ± 26.02 mg EAG / g, 11.07 ± 0.42 mg Eq / g. Indeed, this richness was also linked to the strong antimicrobial activity observed in this study.

Keywords: *P.lentiscus*, vegetable oil, phenolic compound, antimicrobial activity