

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane Mira Bejaia

Faculté des sciences de la Nature et de la Vie

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE

# *Mémoire de Fin de Cycle*

En vue de l'obtention du Diplôme d'ingénieur d'Etat

En

Génie Biologique

*Thème*

*Activité antibactérienne des extraits des écorces des racines et des feuilles de Pistacia lentiscus L. et leurs fractions chromatographique par Bioautographie*

*Réalisé par :*

Mr: BENREZKALLAH Lamine

Mr: KHELLAF Abdel Malek

*Membres de Jury :*

Président : Mr ADJAUD. A

Examineur: Mlle TAHIRI. O

Promoteur: Mme RAHMANI. M

Co-promoteur : Mlle AYOUNI. K

Invite : Mlle SEBAIHI. S

*Promotion 2011/ 2012*

## **Remerciements**

*Avec une rigueur et un intérêt constant, Mme Rahmani a dirigé ce travail avec beaucoup d'enthousiasme en nous faisant bénéficier de ses compétences scientifiques. On tient à lui exprimer notre très grande reconnaissance et le témoignage de notre profond attachement pour l'attention qu'elle a porté à cette thèse, pour les encouragements, pour la confiance qu'elle nous a toujours témoignée, sa constante disponibilité et la gentillesse dont elle a fait preuve à notre égard.*

*Merci à Mlle Ayouni pour sa disponibilité et ses précieux conseils, qu'elle trouve ici l'expression de nos plus vifs remerciements pour l'intérêt constant porté à notre travail.*

*Sans oublier aussi Mlle SEBAIHI pour sa disponibilité, sa gentillesse et la qualité de ses conseils. Qu'elle trouve ici l'expression de notre plus profond respect et de notre sincère reconnaissance.*

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

*Merci pour les membres du jury d'avoir accepté d'examiner ce travail. Qu'il trouve ici le témoignage de notre sincère gratitude et l'expression de notre profond respect.*

*Merci pour Tinhinane pour avoir fait équipe avec nous.*

*Finalement, il nous est agréable de remercier toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Lamine et Malek*



*J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail à*

- ◆ Mes chers parents qui ont tout sacrifié pour moi et dont les mots sont insuffisants pour exprimer toute ma gratitude et mon profond amour qu'ils trouveront ici. Je les remercie pour leur confiance et « que Dieu leurs accordent une très longue vie ».
- ◆ Mes adorables frères **youcef** et **khiredin** qui m'ont donné le courage et le soutient tout au long de mon parcours universitaire.
- ◆ A mes très chères sœurs **salima**, **zahira**, **habiba** et **yassemina**, et leurs maris.
- ◆ Mon cher binôme **Lamine** pour le parcours que nous avons fait ensemble ainsi qu'à toute sa famille.
- ◆ Mon chers amis **Djamel**, **Lemnouar** et sa femme **Ouahiba** ainsi toute leurs famille.
- ◆ Tous mes amis (es) (**Fateh**, **Fouad**, **Racim**, **maci**, **Salah**, **Elkaid**, **brahim**, **Mourad**, **Lakhedar**, **Lyace**, **Mebrouk**, **Dahbia**, **Nadjoi**, **Fatima**, **Habiba**, **Nadjate**, **Sabah**, **Mokhtar**, **Feroudja**, **Massi**, **Samou**, **Farou**, **Habou**, **Kahina**, **Fousia**, **Lamia**...
- ◆ Mon cousins **Foudil** et a toutes mes cousines ainsi à toute leurs **familles**.
- ◆ A toutes mes oncles et tantes, et leurs **familles**.
- ◆ Mes chères nièces (**Mouhamad**, **Hossam**, **Bilal**, **Imane** et **Ikram**)
- ◆ Mes proches et Toutes les habitants d'Ighzer-ouftis **Darguina**.
- ◆ Toute la promotion de **GENIE BIOLOGIQUE (2012)**.
- ◆ A Tous les résidents d'aamriw (**ITE**).
- ◆ Tout le personnel de laboratoire de génétique.

Enfin, à tous ceux de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail, en guise de reconnaissance.

*Malek, K*

## Dédicaces

A mes chers parents qui m'ont tout donné sans rien en retour pour leur soutien, encouragements, disponibilité.

A mes frères et sœurs.

A ma grand-mère.

A ma bien-aimée Thinhinane (Latin).

A tous mes amis et amies (la liste est longue).

A tous ceux qui luttent pour la liberté, l'égalité, l'émancipation et défendent l'identité Amazigh.

Que ce travail soit une reconnaissance envers eux.

Lamine.

<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Introduction.</b>	<b>1</b>
<b>Partie I : Synthèse bibliographique</b>	
<b>I.1. Les antibiotiques.</b>	<b>2</b>
I.1.1. Définition.	2
I.1.2. Classification et mode d'action des antibiotiques	2
I.1.3. La résistance bactérienne aux antibiotiques	4
I.1.4. Mécanismes de résistance	4
<b>I.2. Généralités sur <i>Pistacia lentiscus</i></b>	<b>6</b>
I.2.1. Systématique	6
I.2.2. Habitat et répartition géographique	7
I.2.3. Noms vernaculaires de <i>Pistacia lentiscus</i>	7
I.2.4. Description morphologique	7
I.2.5. Utilisation de <i>Pistacia lentiscus</i>	8
I. 2.6. Métabolites secondaires de <i>Pistacia lentiscus</i>	9
<b>I.3. Activités biologiques de <i>Pistacia lentiscus</i></b>	<b>15</b>
<b>I.4. Activité antimicrobienne des composés phénoliques</b>	<b>17</b>
I.4.1. Acides phénoliques	17
I.4.1.1. Mode d'action	17
I.4.2. Flavonoïdes	18
I.4.2.1. Mode d'action	18
I.4.3. Tannins	19
I.4.3.1. Mode d'action	19
<b>Partie II : Partie pratique</b>	
<b>II.1. Matériel végétal</b>	<b>20</b>
II.1.1. Collecte	20
II.2.2. Séchage, broyage et tamisage	20
II.2.3. Extraction	21
<b>II.2. Souches bactériennes utilisées</b>	<b>23</b>
<b>II.3. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles et les écorces des racines de <i>P. lentiscus</i>.</b>	<b>23</b>
II.3.1. Repiquage des souches bactériennes	23
II.3.2. Préparation de l'inoculum bactérien	23

II.3.3. Déterminations de l'activité antibactérienne	24
II.3.3.1. Méthode de diffusion sur disques	24
<b>II.4. Fractionnement sur colonne LH20</b>	<b>24</b>
<b>II.5. Séparation des extraits et des fractions des écorces des racines et des feuilles de <i>P. lentiscus</i> par CCM.</b>	<b>25</b>
II.5.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)	25
II.5.2. Plaques CCM utilisées et mode opératoire	25
<b>II.6. Détermination de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles et des écorces des racines et les fractions chromatographiques de <i>P. lentiscus</i>, par la méthode de bioautographie.</b>	<b>26</b>
II.6.1. Souches testées par la bioautographie	26
II.6.2. Bioautographie	27
<b>III.1. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles et les écorces des racines de <i>P. lentiscus</i>.</b>	<b>28</b>
III.1.1. Activité antibactérienne vis-à-vis la souche <i>Vibrio cholerae</i> (ATCC)	28
III.1.2. Activité antibactérienne vis-à-vis la souche <i>Salmonella typhimurium</i> NCCB 1808.	29
III.1.3. Activité antibactérienne vis-à-vis la souche <i>Shigella flexneris</i> (NCCB 1406)	30
III.1.4. Activité antibactérienne vis-à-vis la souche <i>Klebsiella pneumoneae</i> E47 (résistante aux quinolones).	30
III.1.5. Activité antibactérienne vis-à-vis la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	31
III.1.6. Activité antibactérienne vis-à-vis les souches <i>Staphylococcus aureus</i>	32
III.1.7. Activité antibactérienne souche <i>Bacillus subtilis</i>	33
III.1.8. Activité antibactérienne souche <i>Listeria innocua</i> E47 (résistante aux quinolones).	33
III.1.9. Activité antibactérienne souche <i>Escherichia Coli</i> .	34
<b>III.2. Etude chromatographique sur couche mince des extraits aqueux du chloroforme des écorces de racines et des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i>, ainsi que leurs fractions chromatographiques.</b>	<b>35</b>
III.2.1. Etude phytochimique de l'extrait aqueux de chloroforme des écorces de racines ainsi que ses fractions chromatographies sur gel de Sephadex LH-20 et les molécules de références après révélation à la vanilline sulfurique.	35

III.2.2. Etude phytochimique de l'extrait aqueux du chloroforme des feuilles ainsi que ses fractions chromatographique de <i>Pistacia lentiscus</i> et les molécules de référence révélés à la vanilline sulfurique.	37
III.2.3. Etude phytochimique de l'extrait aqueux de chloroforme des écorces de racines ainsi que leurs fractions chromatographique de <i>Pistacia lentiscus</i> et les molécules de références révélés à l'ansaldehyde.	38
III.2.4. Etude phytochimique de l'extrait aqueux de chloroforme des feuilles ainsi que ses fractions chromatographique de <i>Pistacia lentiscus</i> et les molécules de référence révélés à l'ansaldehyde.	39
<b>III.3. Etude de l'activité antibactérienne des extraits et des fractions chromatographiques des racines des écorces et des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> par la méthode bioautographie.</b>	<b>40</b>
III.3.1. Bioautographie sur la souche <i>Staphylococcus aureus</i> NCCB 89163.	40
III.3.1.1. Bioautographie sur la souche <i>Staphylococcus aureus</i> NCCB 89163 des extraits et fractions chromatographique des écorces de racines.	40
III.3.1.2. Bioautographie sur la souche <i>Staphylococcus aureus</i> NCCB 89163 des extraits et fractions chromatographique des feuilles.	42
III.3.2. Bioautographie sur la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.	44
III.3.2.1. Bioautographie sur la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 des extraits et fractions chromatographique des écorces de racines.	44
III.3.2.2. Bioautographie sur la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 des extraits et fractions chromatographique des feuilles.	45
<b>Conclusion et perspectives.</b>	<b>46</b>

## Références bibliographiques

### Annexes

## Liste des abréviations

ATCC : American Type Culture Collection.

Bc : *Bacillus subtilis*.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

Ec : *Escherichia coli*.

HE : Huiles essentielles.

INT : iodonitrotétrazolium.

K-3-G : Kaempferol-3-glucoside.

My-3-G : Myricetine-3-glucoside.

NCCB : Netherlands Culture Collection of Bacteria.

*P. lentiscus* : *Pistacia lentiscus*.

Q-3-G : Quercetine-3-glucoside.

Q-3-Rut : Quercetine-3-rutinoside.

Sp : Spot.

St : *Staphylococcus aureus*.



## Liste des figures

<b>Figure N°1</b> : L'acide gallique.....	9
<b>Figure N°2</b> : 1.2.3.4.6-Pentagalloyglucose.....	9
<b>Figure N°3</b> : Structure des tannins condensés.....	12
<b>Figure N° 4</b> : Structure de lignine.....	13
<b>Figure N°5</b> : l'acide ursolique (3 $\beta$ -hydroxy-urs-12-en-28-oic acid).....	13
<b>Figure N°6</b> : l'acide oleanolique (3 $\beta$ -hydroxy-olea-12-en-28-oic acid).....	13
<b>Figure N°7</b> : Photographie de la plante de <i>Pistacia lentiscus</i> .....	20
<b>Figure N°8</b> : Schéma du protocole d'extraction.....	22
<b>Figure N°9</b> : Photographie d'une chambre de chromatographie.....	26
<b>Figure N°10</b> : Chromatogramme de l'extrait aqueux de chloroforme des écorces de racines et ses fractions pulvérisés à la vanilline sulfurique.....	33
<b>Figure N°11</b> : Chromatogramme des standards pulvérisés à la vanilline sulfurique.....	33
<b>Figure N°12</b> : Chromatogramme de l'extrait aqueux de chloroforme des feuilles et ses fractions pulvérisés à la vanilline sulfurique.....	34
<b>Figure N°13</b> : Chromatogramme de l'extrait aqueux de chloroforme d'écorce de racines et ses fractions pulvérisés à l'anisaldehyde.....	35
<b>Figure N°14</b> : Chromatogramme des standards pulvérisés à l'anisaldehyde des molécules de référence.....	35
<b>Figure N°15</b> : Chromatogramme de l'extrait aqueux de chloroforme des feuilles et ses fractions de <i>Pistacia lentiscus</i> pulvérisés l'anisaldehyde.....	36
<b>Figure N°16</b> : Chromatogramme des extraits de l'écorce de racines de <i>Pistacia lentiscus</i> , obtenus par CCM.....	37
<b>Figure N°17</b> : Chromatogramme des molécules de référence, obtenus par CCM, après culture bactérienne et révélation au INT.....	37
<b>Figure N°18</b> : Chromatogramme de l'extrait aqueux du chloroforme de l'écorce de racines de <i>Pistacia lentiscus</i> et ses fractions, obtenus par CCM, après culture bactérienne et révélation au INT.....	38
<b>Figure N°19</b> : Chromatogramme de l'extraits aqueux de chloroforme de feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> et ses fractions, obtenus par CCM, après culture bactérienne et révélation au INT.....	39
<b>Figure N°20</b> : Chromatogramme des extraits de feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> et ses fractions, obtenus par CCM, après culture bactérienne et révélation au INT.....	39
<b>Figure N°21</b> : Chromatogramme de l'extraits aqueux de chloroforme de feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> et ses fractions, obtenus par CCM, après culture bactérienne et révélation au INT.....	39

<b>Figure N°22 :</b> Chromatogramme des standards, obtenus par CCM. après culture bactérienne et révélation au INT.....	41
<b>Figure N°23 :</b> Chromatogramme des extraits des écorces de racine de <i>Pistacia lentiscus</i> , obtenus par CCM. Après culture bactérienne et révélation au INT.....	41
<b>Figure N°24 :</b> Chromatogramme de l'extrait aqueux de chloroforme des écorces de racine de <i>Pistacia lentiscus</i> , et ses fractions chromatographiques obtenus par CCM. Après culture bactérienne et révélation au INT.....	41
<b>Figure N°25 :</b> Chromatogramme de l'extrait aqueux de chloroforme de feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> et ses fractions chromatographique, obtenus par CCM. Après culture bactérienne et révélation au INT.....	42
<b>Figure N°26 :</b> Chromatogramme des extraits de feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> , obtenus par CCM. Après culture bactérienne et révélation au INT.....	42
<b>Figure N°27 :</b> Chromatogramme de l'extrait aqueux de chloroforme de feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> et ses fractions chromatographique, obtenus par CCM. après culture bactérienne et révélation au INT.....	42

## Liste des Tableaux

<b>Tableau I:</b> Classification des antibiotiques selon leur structure et leur mode d'action.....	2
<b>Tableau II:</b> La systématique du lentisque.....	6
<b>Tableau III:</b> Noms vernaculaires de <i>Pistacia lentiscus</i> .....	7
<b>Tableau IV:</b> Structure de différents flavonoïdes présent dans <i>Pistacia lentiscus</i> .....	10
<b>Tableau V:</b> Structure des anthocyanes retrouvé dans <i>Pistacia lentiscus</i> .....	11
<b>Tableau VI:</b> Diamètre des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces des racines et des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> vis-à-vis <i>Vibrio cholerea</i> . ....	26
<b>Tableau VII:</b> Diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces des racines et feuille de <i>Pistacia lentiscus</i> vis-à-vis <i>Salmonella typhimurium</i> .....	27
<b>Tableau VIII:</b> Diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces des racines et feuille de <i>Pistacia lentiscus</i> vis-à-vis <i>Shigella flexneris</i> .....	28
<b>Tableau IX:</b> Diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces de racines et feuilles des <i>Pistacia lentiscus</i> vis-à-vis <i>Klebsiella pneumoneae</i> .....	28
<b>Tableau X:</b> Diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces des racines et feuille des <i>Pistacia lentiscus</i> vis-à-vis <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	29
<b>Tableau XI:</b> Diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces des racines et feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> .....	30
<b>Tableau XII :</b> Diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces de racines et feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> vis-à-vis <i>Bacillus subtilis</i> .....	30
<b>Tableau XIII :</b> Diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces des racines et feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> vis-à-vis <i>Listeria innocua</i> .....	31
<b>Tableau XIV :</b> Diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces de racines et feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> vis-à-vis <i>Escherichia Coli</i> .....	32

# *Introduction*

## Introduction

L'histoire des médecines naturelles remonte aux origines de l'humanité. Depuis toujours l'Homme a consommé les plantes, non seulement pour se nourrir, mais aussi pour soulager ses maux. Ce savoir s'est transmis de génération en génération pour parvenir jusqu'à nous.

La phyto-aromathérapie est la plus vieille thérapeutique du monde. Par opposition aux drogues obtenues par synthèse chimique ou par extraction de principes actifs, la phyto-aromathérapie est la médecine naturelle par excellence.

En Afrique, la médecine traditionnelle constitue le support fondamental pour la pratique de la médecine dans les zones rurales. L'usage des extraits des plantes contenant des constituants bioactifs est devenu une approche très importante de la médecine préventive. **(Keita et al., 2004).**

En effet, l'OMS (2002) estime que, pour se soigner, 80% de la population africaine recourt toujours à la médecine traditionnelle, pour laquelle la majeure partie des thérapies implique l'exploitation des principes actifs des plantes médicinales. Ces espèces végétales d'aussi grande importance pour la santé des populations méritent d'être étudiées scientifiquement pour leur meilleure utilisation. **(Biyiti et al., 2004).**

La problématique de la résistance aux antibiotiques rappelle cependant, qu'il est important de trouver de nouvelles molécules possédant une activité antibactérienne, 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 **(Shah et al., 2004; Lev et al., 2000)**.

L'Algérie est l'un des pays disposant d'un important réservoir de plantes médicinales et phytothérapeutiques qui doivent être valorisées pour leur exploitation dans différents usages, notamment la fabrication de médicaments. Plus de 3164 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 7,9% endémiques restent très peu explorées sur le plan phytochimiques, comme sur le plan pharmacologique. **(Krishnaiah et al., 2011)**.

L'objectif de ce travail est l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits et des fractions chromatographiques des feuilles et de l'écorce des racines de *Pistacia lentiscus*, une plante médicinale locale appelée *Amadhagh*, utilisée dans le traitement des infections de la gorge, de l'hypertension et les diarrhées.

***Chapitre I***  
***Synthèse Bibliographique***

## I.1. Les antibiotiques

### I.1.1. Définition

Les antibiotiques sont des substances chimiques qui ont pour effet de détruire les bactéries de façon ciblée (antibiotique dit "bactéricide") ou d'empêcher leur multiplication (antibiotique "bactériostatique") (**Regnault, 2002**). Avec la découverte des antibiotiques, l'humanité a disposé d'un moyen et d'un remède extrêmement efficace contre les bactéries (**DUVAL, 1999**).

### I.1.2. Classification et mode d'action des antibiotiques

La diversité et la complexité des molécules antibactériennes rendent nécessaire leur classification (**Regnault, 2002 ; Yala et al., 2001**). Les antibiotiques peuvent être classés selon leurs modes d'action sur les agents infectieux, en fonction des microorganismes qu'ils inhibent ou bien selon leurs structures chimiques (Tableau I) (**Medizin et al., 1995 ; Yala et al., 2001**).

**Tableau I** : classification des antibiotiques selon leur structure et leur mode d'action. (**Medizin et al., 1995 ; Yala et al., 2001**).

Famille d'antibiotique	Principales molécules	Action sur la bactérie (mode d'action)
<b>Pénicillines</b> (béta-lactame)	Amoxicillin Ampicilline Pénicilline G Pénicilline v Pénicilline	Fixation aux PLP « Protéines Liant la Pénicilline », enzymes (transpeptidase) de la membrane cytoplasmique impliquées dans la phase terminale de l'assemblage du peptidoglycane.
<b>Céphalosporines</b> (béta-lactame)	<b>1ère génération</b> - Céfaclor - Cefazoline	Inhibition de la transpeptidation.
	<b>2ème génération</b> - Céfamandole - Céfuroxime	Activation des autolysines (élimination ou inactivation d'un inhibiteur de ces enzymes, qui sont des hydrolases).
	<b>3ème génération</b> - Céfixime - Céfopodoxime	Bactéricides

<p><b>Aminosides</b> (Aminoglycosides)</p>	<p>Streptomycine Neomycine Amikacine</p>	<p>Fixation sur la sous-unité 30S du ribosome. À concentration subthérapeutique: erreurs de lecture ; à concentration thérapeutique: inhibition de l'élongation de la chaîne peptidique en bloquant le complexe d'initiation  Bactéricides</p>
<p><b>Macrolides</b></p>	<p>Azitromycin Roxithromycine Clarithromycine</p>	<p>Liaison de façon réversible à la sous-unité 50S des ribosomes (site P) inhibant la transpeptidation et la translocation.  Bactériostatiques</p>
<p><b>Tétracyclines</b></p>	<p>Doxycycline Minocycline Tétracycline</p>	<p>Fixation réversible à la sous-unité 30S des ribosomes empêchant l'attachement des Aminoacyl-tRNA au site A du ribosome  Bactériostatiques</p>
<p><b>Quinolones (Fluoro)</b></p>	<p>Ciprofloxacine levofloxacine ofloxacine</p>	<p>Inhibition de la réplication de l'ADN en antagonisant la sous-unité de la gyrase A  Bactéricides</p>
<p><b>Sulfamides</b></p>	<p>sulfaméthoxazole et cotrimoxazole sulfazalazine</p>	<p>Inactivation d'enzymes impliqués dans la synthèse des purines et de certains acides aminés essentiels  Bactéricide</p>
<p><b>Autres (divers)</b></p>	<p>clindamycine métronidazole vancomycine</p>	<p>Inhibition de la synthèse du peptidoglycane en formant des complexes avec les résidus peptidyl D Ala-D Ala des précurseurs du PG lorsqu'ils émergent de la membrane cytoplasmique.  Bactéricides</p>
<p><b>Antituberculeux</b></p>	<p>Isoniazide Rifampicine Streptomycine</p>	<p>Bloque la transcription par la liaison à la sous-unité <math>\beta</math> de l'ARN-polymérase bactérienne  Bactéricide</p>



### I.1.3. La résistance bactérienne aux antibiotiques

Pour échapper à l'action létale des antibiotiques, les bactéries ont développé de très nombreux mécanismes biochimiques de résistance, associés à une grande ingéniosité génétique pour les acquérir et les diffuser (**Duval *et al.*, 1990**).

Les bactéries peuvent être résistantes à certains antibiotiques de manière innée. C'est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Elle fait, donc, partie du patrimoine génétique normal du germe (**Yala *et al.*, 2001**).

L'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare soit par transfert d'ADN de plasmides conjugatifs ou de transposons (mécanisme le plus fréquent) (**Lozniewski *et al.*, 2010**).

**Plasmides** : la résistance plasmidique est liée à la synthèse de protéines additionnelles et non à une modification des constituants normaux de la bactérie (**Lozniewski *et al.*, 2010**). L'information génétique est portée par des plasmides, transférables à d'autres bactéries par conjugaison, transduction ou transformation.

**Transposons** : Ce sont des fragments d'ADN qui peuvent s'intégrer soit dans le chromosome soit dans des plasmides, en allant de l'un à l'autre (**Yala *et al.*, 2001**).

### I.1.4. Mécanismes de résistance

La résistance bactérienne se fait par différents mécanismes de défense (**Yala *et al.*, 2001**).

- **Certaines bactéries ont la capacité de produire des enzymes** : qui modifient ou clivent la molécule d'antibiotique, en assurent son inactivation. Ce mécanisme de résistance est très fréquent, très important et très varié. Actuellement, des centaines d'enzymes ont été identifiées, à savoir les  $\beta$ -lactamase, les pénicillinases, les acétylases, et les céphalosporinases, agissant sur les  $\beta$ -lactamines, les pénicillines, le chloramphénicol et céphalosporines, respectivement.

- **La bactérie est capable de croître en présence de l'antibiotique non modifié** : ceci recouvre ces différents mécanismes principaux :

- Non pénétration de l'antibiotique dans la bactérie. Le dysfonctionnement ou la perte de l'une des trois molécules de protéines constituant un pore qui laissent diffuser diverses molécules de faible masse moléculaire, comme des substrats ou encore des antibiotiques, peut

entraîner une imperméabilité. Plusieurs familles d'antibiotiques sont concernées par ce mécanisme de résistance, notamment  $\beta$ -lactamines, acide nalidixique, cotrimoxazole, fosfomycine, tétracycline ou chloramphénicol.

- Modification de structure du site d'action. Qui se traduit par un manque d'affinité pour l'antibiotique, qui ne se fixe pas sur le site. Exemples: *Staphylococcus aureus* : résistant à la méthicilline : mutation des protéines liant les pénicillines (PLP). Cette mutation rend la souche résistante à toutes les  $\beta$ -lactamines. *Streptococcus pneumoniae*: modification de PLP ce qui laisse la sensibilité diminuée aux Pénicillines. Entérobactéries résistantes aux quinolones: mutation de l'ADN gyrase.

- Interférence avec le mécanisme de transport de type efflux. Les bactéries résistantes produisent une pompe dite d'efflux localisée dans la membrane cytoplasmique permettant d'expulser l'antibiotique vers l'extérieur (**Yala et al., 2001**).

- Développement d'une autre voie métabolique. Suppléant la voie métabolique inhibée par l'antibiotique, par activation d'une autre voie métabolique empêchant la synthèse de radicaux libres qui peut être favorisée par l'antibiotique (**Youk et , 2010**).

L'Algérie bénéficie d'un climat très diversifié avec une hétérogénéité des conditions écologiques qui ont permis le développement d'une flore très riche et hautement variée. La flore algérienne comporte environ 3164 espèces de plantes vasculaires, dont 7,9% sont endémiques, appartenant à la quasi-totalité des familles botaniques. L'une de ces espèces à usage très fréquent, par les populations rurales en Algérie est *Pistacia lentiscus* (Krishnaiah et al., 2011).

## I.2. Généralités sur *Pistacia lentiscus*

Le genre *Pistacia L.* appartient à une famille assez nombreuse qui comporte 875 espèces, distribuées dans 70 genres. Il s'agit de la famille des Anacardiaceae (Alvarez et al., 2008). Ce genre apparu, il y a plus de 80 millions d'années, au centre d'Asie est l'un des genres le plus important dans le règne végétal du point de vue horticulture, économique et commercial (Ahmadi Afzadi et al., 2007; Al Saghir et al., 2010; Ozden-Tokatli et al., 2010).

Les principaux centres de diversité se situent, d'une part, dans les régions méditerranéennes du sud de l'Europe, le nord de l'Afrique et le moyen orient et d'une autre part, entre l'est et le centre d'Asie. Neuf espèces et cinq sous-espèces découlent de deux groupes monophylétiques, selon la morphologie, dont le premier groupe (section *Pistacia*) inclue les espèces suivantes : *P. atlantica*, *P. chinensis*, *P. eurycarpa*, *P. falca*, *P. integerrime*, *P. khinjuk*, *P. mutica*, *P. palaestina*, *P. terebinthus* et *P. vera*, tandis que l'autre groupe (section *Lentiscella*) contient *P. aethiopica*, *P. lentiscus*, *P. mexicana*, *P. texana* et *P. weinmanifolia* (Al Saghir et al., 2010).

### I.2.1. Systématique

Tableau II : la systématique du lentisque est décrite ci-dessous (Baba-Aissa, 1999 ; Garnier et al., 1961).

<b>Règne :</b>	Plantae, (végétal)
<b>Sous-règne :</b>	Tracheobionta
<b>Embranchement :</b>	Spermaphyte
<b>Sous-embranchement :</b>	Angiosperme
<b>Division :</b>	Magnoliophyta
<b>Classe :</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe :</b>	Rosidae
<b>Ordre :</b>	Sapindales
<b>Famille :</b>	Anacardiaceae
<b>Genre :</b>	<i>Pistacia</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Pistacia lentiscus</i>

### I.2.2. Habitat et répartition géographique

*Pistacia lentiscus* est largement distribuée dans les écosystèmes extrêmes du bassin méditerranéen, qui sont caractérisés par la pénurie d'éléments nutritifs et d'eau et sont exposés à de longues périodes, aux rayons solaires et des températures élevées (Caravaca et al., 2002 ; Montserrat-Martí et al., 2002; Palacio et al., 2005; Green et al., 2005; Abdelwahed et al., 2007; Nikiforou et al., 2010 ; Yildırım Hakan, 2012).

En Algérie, le lentisque est très répandu dans tout le littoral et les régions sublittoral, jusqu'au Sahara (Hamalat et Hassani, 2008; Krishnaiah et al., 2011).

### I.2.3. Noms vernaculaires de *Pistacia lentiscus*

Le tableau suivant énumère les différentes appellations de la plante *Pistacia lentiscus* :

**Tableau III** : Noms vernaculaires de *Pistacia lentiscus*.

Langue	Noms	Références
Kabyle	Tidekth Amadagh	Baba-Aissa, 1999
Arabe	Edharw Sareys	Baba-Aissa, 1999
Français	Arbre au mastic Pistachier lentisque Restringue Lentisque d'Espagne	Garnier et al., 1961.
Anglais	Mastic ou Mastick Tree	Garnier et al., 1961
Espagnol	Lentisquo, Charneca comun	Garnier et al., 1961
Allemand	Mastix Baum	Garnier et al., 1961.
Italien	Lentischio, Sondrio.	Garnier et al., 1961.

### I.2.4. Description morphologique

Il s'agit d'un arbuste ou arbrisseau buissonnant et touffu, toujours vert, de 1 à 3m de hauteur, mais capable d'atteindre 5 à 6m dans les stations protégées. Il est toujours beaucoup embranché et tortueux. Le feuillage est à feuilles persistantes et denses, habituellement 6 à 10 paires de feuillets, durs, brillants, avec le rachis et le pétiole étroitement ailées. Les fleurs unisexuées d'environ 3 mm de large se présentent sous forme de grappe, elles apparaissent au printemps et sont très aromatiques, forment des racèmes de petite taille à l'aisselle des feuilles (Flexas et al., 2001; Nikiforou et al., 2010).

### I.2.5. Utilisation de *Pistacia lentiscus*

*Pistacia lentiscus* est communément utile pour son développement dans les terres semi-aride, ainsi, elle travaille dans la restauration des sols contaminés des régions méditerranéennes, est cela sans l'aide artificiel et aussi le développement rapide de nourriture dans des écosystèmes semi-naturels. (Moreno-Jiménez et al., 2009).

D'après Seigue A. (1985), les principaux produits dérivés du *P. lentiscus* et leur utilisation sont décrites :

Bois : pour sa robustesse et la finesse de sa texture, le bois de cette espèce est très apprécié en ébénisterie.

Résine : des branches et du tronc exsude naturellement ou par incision une résine jaune claire fortement aromatique, qui durcit au contact de l'air, qui est appelée mastic ou gomme mastic, d'où son nom commun d'arbre à mastic. Le mastic entraine dans la confection de liqueurs, aromatiser certaines confitures, confectionner des pâte ou des gommes à mâcher parfumées ou pastilles car elle avait entre autre la propriété de purifier l'haleine, blanchir les dents et traiter les problèmes de gingivites. Aujourd'hui encore, le mastic est employé dans l'industrie agro-alimentaire évidemment comme agent masticatoire, dans l'industrie photographique et dans les soins dentaires.

Essence de Mastic: après distillation du mastic une essence est récupérée qui entre dans la confection de parfums, produits cosmétologiques et pharmaceutiques, de vernis de grande qualité recherché par les peintres œuvrant à la peinture à l'huile et aussi dans l'industrie photographique.

Essence des feuilles et rameaux : de ces parties est extraite une huile essentielle qui est utilisée en aromathérapie et phytothérapie pour ses propriétés décongestionnantes, prescrite aussi pour traiter les problèmes veineux dont les hémorroïdes.

Huile de lentisque : du fruit comestible est extraite une huile, qui autrefois était couramment utilisée pour l'alimentation, l'éclairage et elle entraine aussi dans la confection de savons. L'huile est produite à l'Est de l'Algérie, dans les zones notamment côtière (El Milia, Skikda), où l'espèce abonde. Un procédé traditionnel est utilisé à cet effet : Les fruits atteignent leur maturité vers la fin d'été début de l'automne. Les baies prennent alors une coloration noire au lieu du rouge. Les baies sont récoltées à la main, macérées dans de l'eau chaude et puis écrasées à l'aide d'une presse. Des baies s'exultent un liquide épais de couleur jaune vert. L'huile est récupérée par décantation.

### I. 2.6.Métabolites secondaires de *Pistacia lentiscus*

De nombreux travaux ont été réalisés sur le genre *Pistacia* aboutissant à l'identification de la structure d'un nombre considérable de métabolites secondaires, appartenant à une série chimique extrêmement variée.

Dans une étude menée sur le fruit de cette plante, deux polyphénols, l'acide gallique et le 1.2.3.4.6-pentagalloylglucose ont pu être isolés des fractions d'éthyle acétate du fruit de *P.lentiscus* chromatographie au Sephadex LH-20. (Abdelwahed et al., 2007). La structure de l'acide gallique dans les feuilles a pu être déterminé par RMN-H, RMN-C et HPLC-MS. (Romani et al., 2002).

L'acide gallique (acide 3, 4, 5-trihydroxybenzoïque) est issu du métabolisme de l'acide shikimique est classé parmi les acides hydroxybenzoïques, qui sont dérivés de l'acide benzoïque (non phénolique) et ont une formule de base de type C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>. Ils existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides et peuvent également être intégrés dans des structures complexes comme certains tanins (Guignard 1996) et c'est le cas du 1.2.3.4.6- pentagalloylglucose qui est un ester de l'acide gallique et du glucose, classé parmi les tanins hydrolysables (Bruneton, 2005.p. 444).

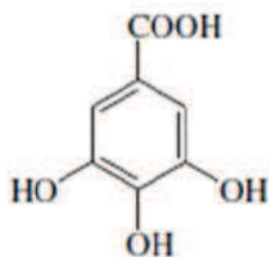


Figure N°1 : Acide gallique

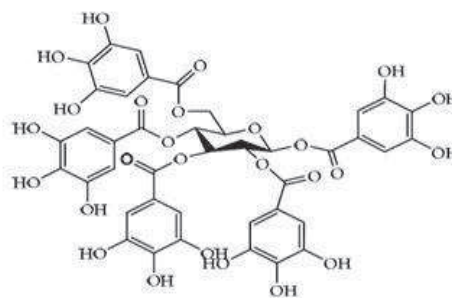
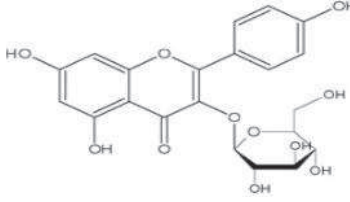
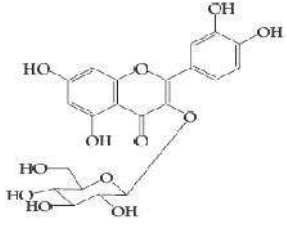
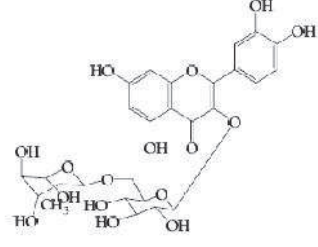
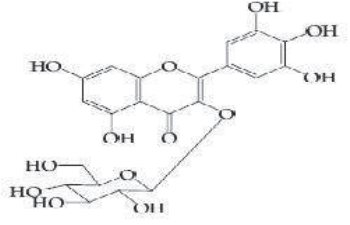
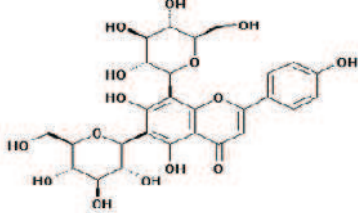


Figure N°2 : 1.2.3.4.6-Pentagalloylglucose

L'étude chimique des parties aériennes de *Pistacia lentiscus* (Feuilles et branches) a révélé selon l'étude (Kawashty et al., 2000) la présence de 5 espèces de flavonoïdes, notamment le Kaempferol-3-glucoside (K-3-G), la Quercétine-3-glucoside (Q-3-G), la Quercétine-3-rutinoside (Q-3-Rut), la Myricétine-3-glucoside (My-3-G) et Vicénine-2. La structure de ces flavonoïdes a pu être déterminée par l'étude de Romani et ses collaborateurs (2002), à l'aide des méthodes RMN-H, RMN-C et HPLC-MS (Voir le Tableau III).

Tableau IV : structure de différents flavonoïdes présent dans *Pistacia lentiscus*.

La molécule	Structure	Référence
Kaempferol-3-glucoside (K-3-G)		Lansky <i>et al.</i> , 2007
Quercetine-3-glucoside (Q-3-G)		Romani <i>et al.</i> , 2002
Quercetine-3-rutinoside (Q-3-Rut)		Romani <i>et al.</i> , 2002
Myricetine-3-glucoside (My-3-G)		Romani <i>et al.</i> , 2002
Vicenin-2		Marrassini <i>et al.</i> , 2011.

Les molécules K-3-G, Q-3-G et My-3-G appartiennent aux flavonoïdes glycosylés, nommés aussi, les C-glycosylflavonoïdes, qui sont les formes les plus abondantes dans les plantes supérieures, dont la liaison s'établit entre le carbone anomérique du sucre (souvent le glucose, mais peut être le galactose ou le pentose) et le carbone C-6 ou C-8 du flavonol (**Bruneton, 2005.p.372**). Par contre la Q-3-Rut appartient aux flavonoïdes rutinosides, formé à partir d'un flavonol (Quercétine) avec un disaccharide le rutinose (**Bruneton, 2005.p.32 ; Pietta, 2000; Rijke et al., 2006**).

Plusieurs composés de la classe des anthocyanes ont été identifiés, notamment, cyanidine 3-O-glucoside, delphinidine 3-O-glucoside et cyanidine 3-O-arabinoside dans les extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* (**Romani et al., 2002; Longo et al., 2007**) et leurs structure mise en évidence (Tableau IV) (**Romani et al., 2002**).

Ces anthocyanes, molécules appartenant à la famille des flavonoïdes, sont des pigments qui participent à la coloration de certaines parties des plantes (fleurs, fruits, feuilles, tiges, racines ou graines) en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Le cyanidine 3-O-glucoside est un pigment rouge ce qui permet de donner une couleur rouge au fruit au départ (**Cheyrier et al., 1998**).

**Tableau V** : Structure des anthocyanes retrouvé dans *Pistacia lentiscus* (**Romani et al., 2002**).

Les anthocyanes	Structure
Cyanidine 3-O-glucoside	
Delphinidine 3-O-glucoside	
Cyanidine 3-O-arabinoside	



D'une autre part, de grande quantité de tannins et de lignines ont été révélés dans *P. lentiscus* (Decandia et al., 2000; Gasmi-Boubaker et al., 2005; Ammar et al., 2005; Chryssavgi et al., 2008).

Les tannins condensés sont de structure plus complexe, les plus rencontrés dans les plantes vasculaire, ils sont solubles dans les solutions polaires et ils se distinguent des autres polyphénols, par leurs capacités à faire précipiter les protéines (Silanikove et al., 2001).

Ils sont appelés également proanthocyanidines, car ils produisent des anthocyanidines, quand on les chauffe dans l'acide. Ce sont des polymères de flavan-3-ols (appelés aussi catéchines) et de flavan-3,4-diols (appelés leucoanthocyanidines), ou un mélange des deux. (Khanbabaee et al., 2001).

Les tannins soit condensés ou hydrolysables sont synthétisés à partir de la phénylalanine par la voie dite de l'acide shikimique (Khanbabaee et al., 2001).

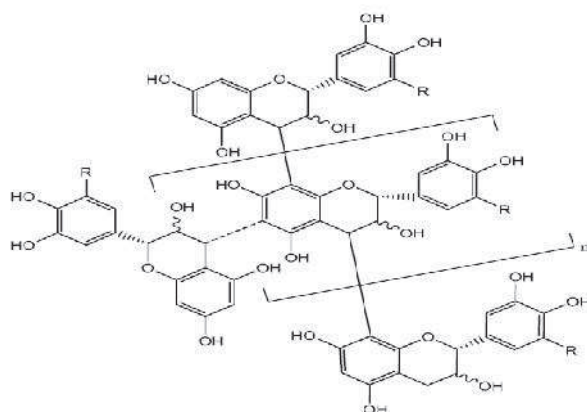


Figure N°3 : Structure des tannins condensés

Les tannins sont généralement considérés comme inhibiteur de la croissance des microorganismes et cela par précipitation des protéines (Abdel Monein, et al., 2007; Ayepola, et al., 2008) ou par chélation des métaux (Cowan, 1999).

Les lignines, de leur part, constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal et seraient formées par polymérisation oxydative de monolignols (monomères) qui sont les alcools *p*-coumarique, coniférique et sinapique (Jutiviboonsuk et al., 2005; Tejado et al., 2007; Chakar et al., 2004).

On les voit d'habitude comme les déchets de pulpe et l'industrie de papier et utilisé souvent comme le carburant pour le bilan énergétique du processus de fabrication de papier. En 1998, seulement 1 % du lignine produit a été utilisé dans des processus industriels de valeur (Pouteau et al., 2003).

Bianchi et ses collaborateurs (1968) cité dans **Jutiviboonsuk et al., 2005** ont rapporté l'activité anti tumoral des lignines présent dans le genre *Bursera*.

### Les trois composantes de lignines (Chakar et al., 2004).

Coniferyl alcohol/guaiacyl: R1=OMe, R2=H

Sinapyl alcohol/ syringyl: R1=R2=OMe

*p*-Coumaryl alcohol: R1=R2=H

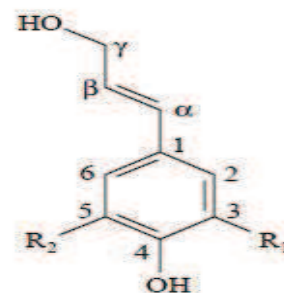


Figure N° 4 : Structure de lignine.

A coté de toutes ces substances, appartenant aux composés phénoliques, s'ajoutent les triterpenoides qui ont été caractérisés dans les différentes parties de *P.lentiscus* (**Monaco et al., 1973; Marner et al., 1991; Kordali et al., 2003; Dedoussis et al., 2004; Chryssavgi et al., 2008**) notamment, l'acide ursolique (3β-hydroxy-urs-12-en-28-oic acid) et son isomère l'acide oleanolique (3β-hydroxy-olea-12-en-28-oic acid) dans la résine (**Figures N° : 5 et 6**) (**Assimopoulou et al., 2005**). Ils sont le groupe chimique commun pour tout le genre *Pistacia* (**Orhan et al., 2006 ; Chryssavgi et al., 2008**).

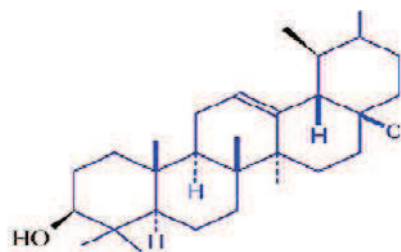


Figure N°5 : l'acide ursolique (3β-hydroxy-urs-12-en-28-oic acid).

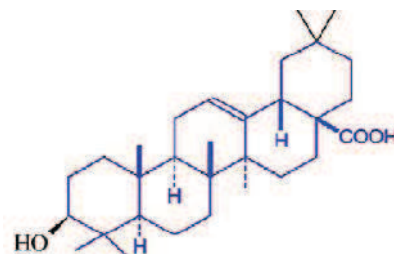


Figure N°6: l'acide oleanolique (3β-hydroxy-olea-12-en-28-oic acid).

Plusieurs études ont rapporté la richesse de *P.lentiscus* en huiles essentielles, dont les composés les plus répétés sont :  $\beta$ -myrcene, limonene, terpinen-4-ol,  $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -pinène,  $\alpha$ -hellandrene, sabinene, *para*-cymene and  $\gamma$ -terpinene (Castola et al., 2000; Duru et al., 2003; Orhan et al., 2006; Chryssavgi et al., 2008).

Les huiles essentielles connues sous le nom d'huiles étherées ou essences aromatiques sont des substances liquides ou, plus rarement, semi-solide, ayant des odeurs aromatiques et parfumées, parfois aussi de saveur agréable, de formule générale (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) (Fabrocini, 1999). Ce sont des mélanges de composés aromatiques des plantes, qui sont extraites par distillation à l'eau ou «hydro distillation», à l'eau et à la vapeur ou «distillation à la vapeur humide» ou à la vapeur ou «distillation à la vapeur sèche» (Kone, 2001).

L'utilisation des HE est liée à leurs différentes activités biologiques reconnues (Kanko et al., 2004). En effet, dans la littérature, plusieurs travaux de recherche ont prouvé leurs propriétés aromatisantes, antimicrobienne, antivirale, insecticide et leur toxicité réduite (Castola et al., 2000; Kordali et al., 2003; Bakkali et al., 2008; Aidi Wannas et al., 2009; Derwich et al., 2010; Gourine et al., 2010).

Les HE font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative aux traitements des maladies infectieuses d'origine bactérienne et fongique (Castola et al., 2000; Derwich et al., 2010).

Par ailleurs, plusieurs études ont rapporté la richesse des feuilles du genre Pistacia, en  $\alpha$ -Tocopherol (vitamine E) et dans l'espèce *Pistacia lentiscus* en particulier (Kivçak et al., 2005; Chryssavgi et al., 2008). La vitamine E, essentielle pour l'être humain, est un lipide omniprésent dans les membranes biologiques. Sa présence dans la bicouche est utilisée largement comme antioxydant naturel (Wang et al., 2006). Dans la plante, elle se localise dans l'enveloppe du chloroplaste et dans les membranes des thylakoides (Hincha, 2008)

En outre, une étude récente (Trabelsi et al., 2012) a révélé la présence de trois acides gras : acide oléique, linoléique, linolénique ce qui permet de comprendre mieux les inters conversions et la synthèse des molécules analysées, et aussi pour identifier le seuil de concentration en lipides désirée par le consommateur et l'industrie. Les acides gras ont une importance dans l'inhibition de la croissance tumorale, et les cas d'un affaiblissement (Reddy et al., 2003).

### I.3. Activités biologiques de *Pistacia lentiscus*

*Pistacia lentiscus* est connue pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité et plusieurs activités biologiques ont été rapportées sur cette espèce.

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* sont utilisées dans le traitement des eczéma, les diarrhées, les infections de la gorge et les cailloux dans les reins (Lev et al., 2000 ; Lev et al., 2002 ; Kordali et al., 2003). De même, une décoction de feuilles de *Pistacia lentiscus* est utilisée contre la jaunisse (Janakat et al., 2002 ; Bomzon, 2005).

La consommation des feuilles de *Pistacia lentiscus*, après une infection coccidiale naturelle de la jeune chèvre diminue les excréments fécaux des oocystes (kystes) et des nématodes. Ceci est relié à la présence des tannins (Landau et al., 2010 ; Azaizeh et al., 2010 ; Markovics et al., 2011).

En 2002, Janakat et Al Merie, cité in Ljubuncic et al., (2005) ont rapporté, que des décoctions bouillies et non-bouillies aqueuses préparées des feuilles de *Pistacia lentiscus* possèdent une action de hépato-protectrice, en inhibant les activités de l'alanine aminotransférase (ALT) du sérum et de l'aspartate aminotransférase (AST). Mais cet effet devient hépatotoxique, quand elle est administrée quotidiennement pendant 5 semaines.

Dans une autre étude menée par Balan et ses collaborateurs (2007), la résine (Chios Mastic Gum) de *Pistacia lentiscus*, de la région sud de la Grèce, induit la mort apoptotique des cellules HCT116 humaines, dans le cas d'un cancer de colon, *in vitro*.

De nombreuses études ont testé l'activité antibactérienne des extraits de plantes médicinales, ainsi que des substances pures d'origine végétales sur de nombreuses souches bactériennes pathogènes pour l'Homme (Cottiglia et al., 2001 ; Kunle et al., 2003 ; Tim Cushnie et al., 2003).

On attribue, généralement, à l'activité antibactérienne de la plante plusieurs principes actifs, tels les huiles essentielles (Delaquis et al., 2002 ; Tepe et al., 2006) les alcaloïdes (Pennacchio et al., 2005 ; Nenaah, 2010) et les composés phénoliques (Rios et al., 2005 ; Zhang et al., 2010).

L'activité antibactérienne, vis-à-vis, des souches *Staphylococcus aureus*, *Candida albican*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* et *Proteus mirabilis*, des extraits éthanoliques des feuilles de *Pistacia lentiscus*, a été rapporté par Benhammou et ses collaborateurs, (2008).

Les tannins ont des activités biologiques anti-cancer et antioxydant, par contre les flavonoïdes exhibent des activités anti-inflammatoires et une protection contre les maladies cardiovasculaires. Le fruit de *Pistacia lentiscus* est caractérisé par la présence de ses

composés à savoir les flavonols et leurs dérivés glycosylés, ainsi que des tannins (**Bhouri et al., 2010**).

Aussi, les Huilles Essentiels (HE) de *Pistacia lentiscus* constituent un système de défense, contre les insectes ravageurs (**Bachrouch et al., 2010**), un agent antimicrobien (**Derwich et al., 2010**) et aussi comme anti-inflammatoire (**Orhan et al., 2006 ; Duru et al., 2003**).

*Pistacia lentiscus* est importante pour l'écosystème parce qu'elle protège le sol contre l'érosion, et favorise la biodiversité, en facilitant d'autres plantes vasculaires, de ce fait fournissant l'abri et la nourriture pour la faune (**Cortina et al., 2008**).

#### **I.4. Activité antimicrobienne des composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont la source de substances qui servent comme moyens de défense contre la prédation par les micro-organismes et les insectes (Cowan, 1999 ; Amarowicz et al., 2008). En effet, le site et le nombre de groupements hydroxyle augmentent la toxicité contre les micro-organismes (Cowan, 1999 ; Lin et al., 2005).

Il a été démontré que le mécanisme de toxicité se fait, soit par la chélation des ions métalliques (fer, magnésium), soit par des interactions non spécifiques, telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires (les adhésines), afin d'inactiver l'adhésion des micro-organismes ou bien les enzymes, telles que les enzymes hydrolytiques (protéases et carboxylase) ou autres interactions, pour inactiver des transporteurs protéiques membranaires ou découplage des réactions énergétiques, ce qui conduit à la dénaturation de la membrane cytoplasmique, entraînant une fuite des constituants cellulaires (Cowan, 1999 ; Rivero-Cruz, 2008).

##### **I.4.1. Acides phénoliques :**

Il a été démontré que l'acide gallique et l'acide vanillique présentent une bonne activité inhibitrice, contre *E.coli* et *Klebsiella pneumoniae*, par contre l'acide protocatéchique seulement sur *E.coli*. Cette différence est due la présence d'un groupement hydroxyle en plus chez l'acide gallique (Cowan, 1999 ; Rodriguez-Vaquero et al., 2007a).

Et aussi l'acide gallique a une très bonne activité contre *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* (MRSA) (Rivero-Cruz, 2008).

L'acide caféique est l'un des dérivés de l'acide hydroxycinnamique, il présente un large spectre contre *Serratia marcescens*, *Porteus mirabilis* et *E.coli* et montre une activité antibactérienne plus élevée, que les dérivés d'acide hydroxybenzoïque (Rodriguez-Vaquero et al., 2007a).

##### **I.4.1.1. Mode d'action**

La littérature montre une activité plus élevée des acides hydroxycinnamiques, que les acides hydroxybenzoïques. Cette différence est due à la réduction de la polarité, par la présence de la partie propionique de la chaîne des acides hydroxycinnamiques, ce qui les rend moins polaire que les acides hydroxybenzoïques, ce qui facilite le transport des acides hydroxycinnamiques, à travers la membrane cytoplasmique des bactéries (Rodriguez-Vaquero et al., 2007).

D'un autre côté, les dérivés de l'acide hydroxycinnamique sont reconnus par leurs interactions, avec les lipides membranaires, par la neutralisation du potentiel électrique de la membrane, après la pénétration de la molécule. Un effet similaire peut se produire dans la membrane de la cellule bactérienne affectant son métabolisme énergétique (Rodriguez-Vaquero et al., 2007).

#### I.4.2. Flavonoïdes

Ces molécules ont un rôle important dans la santé humaine, grâce à leurs divers propriétés biologiques importantes (pouvoir antioxydant, inhibition de la peroxydase lipidique, activité anti-inflammatoire, activité antimicrobienne... etc). Ils sont utilisés en bactériologie, pharmacologie et médecine (Alcaraz et al., 2000 ; Rodriguez-Vaquero et al., 2007a).

Une bonne activité inhibitrice de certains flavonoïdes (quercétine, catéchine) est observée sur *Serratia marcescens*, *E.coli* et *Porteus mirabilis* (Rodriguez-Vaquero et al., 2007a).

Une grande activité contre *Staphylococcus aureus* méthycilline résistante et cette activité inhibitrice augmente linéairement avec la concentration de ces composés et varie selon leur structure, telle que l'activité des chalcones, qui est supérieur à celle des flavones et flavanones (Alcaraz, et al., 2000).

Les catéchines inhibent, *in vitro*, *Vibrio cholerae* et *Shigella*, et d'autres bactéries et micro-organismes, ainsi qu'ils inactivent la toxine cholérique de *Vibrio* et inhibent la glucosyltransférase bactériennes, isolées de mutants de *Streptococcus*. Ces propriétés inhibitrices sont dues probablement à leurs capacités de se complexer avec des molécules biologiques (Cowan, 1999).

##### I.4.2.1. Mode d'action

Le groupement hydroxyle a la capacité d'augmenter, d'inactiver ou d'éliminer l'activité antimicrobienne de ces composés, par exemple ceux qui n'ont pas de groupement hydroxyle dans leur noyau B, sont plus actifs contre les micro-organismes que ceux qui ont le groupement OH, ce qui suggère que leur cible est la membrane cytoplasmique. Inversement, plus le composé est hydroxylé plus il y a une activité microbienne (Cowan, 1999 ; Alcaraz et al., 2000).

La présence de groupement OCH<sub>3</sub> dans la structure des flavonoïdes réduit ou élimine l'activité antibactérienne de ces composés (Alcaraz, et al., 2000).

Les flavonoïdes lipophiles peuvent également perturber la membrane microbienne, et leur activité antimicrobienne est due, probablement, à leur capacité de se complexer avec des protéines extracellulaires et solubles, ainsi qu'avec la paroi bactérienne (Cowan, 1999 ;Samy et al., 2008).

Pour la sous classe du Kaempferol et ses dérivés l'activité antibactérienne n'est pas associée, au Gram + ou Gram -. Dans les deux cas, un groupement hydroxyle est requis au C-7 pour une activité antibactérienne, et un hydroxyle est requis au C-4' pour une activité contre *Pseudomonas aeruginosa* (Teffo et al., 2010).

### **I.4.3. Tannins**

Les tannins possèdent des propriétés, qui permettent leur utilisation naturelle en médecine traditionnelle et d'autres domaines. Parmi ses activités : l'activité antibactérienne, antifongique (champignons filamenteux), antivirale (inhibition de la reverse transcriptase), antimutagenique et antitumorale (Cowan, 1999 ; Dosumu, et al., 2006).

Les tannins condensés inhibent la croissance de *Staphylococcus aureus* et de divers germes pathogènes responsables des diarrhées (Abdel Monein et al., 2007).

#### **I.4.3.1. Mode d'action**

Les tannins sont généralement considérés comme inhibiteur de la croissance des bactéries, mais les mécanismes impliqués sont mal compris (Mc Sweeney et al., 2001).

L'activité inhibitrice des tannins est basée sur sa possibilité de s'attacher aux protéines, de cette façon la synthèse protéique est inhibée (Abdel Monein et al., 2007 ; Ayepola et al., 2008).

Parmi ces mécanismes d'action : l'inactivation des adhésines microbiennes, les enzymes, les protéines de transport membranaires. Ils forment aussi un complexe avec les polysaccharides et leurs condensations empêchent la croissance et l'activité protéasique des bactéries (Cowan, 1999 ; Samy et al., 2008).

Ils agissent aussi par élimination du Fer, formation des liaisons d'hydrogène ou par des interactions spécifiques avec les protéines vitales (Cowan, 1999).

L'objectif de notre travail est l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits et des fractions chromatographiques, de *Pistacia lentiscus*, par la méthode de bioautographie.



***Chapitre II***  
***Matériels et méthodes***

## II.1. Matériel végétal

### II.1.1. Collecte

La plante sélectionnée sur la base de son utilisation en médecine traditionnelle locale, a été collectée dans son habitat ou elle se développe d'une manière sauvage. Les feuilles et les écorces des racines de *Pistacia lentiscus* ont été récoltées dans un endroit naturel loin de tout impact de pollution, de la forêt d'Azru n Bechar, située à l'Est de Bejaia.

Les feuilles ont été récoltées en mois de juin, alors que les écorces des racines en octobre. La plante a été identifiée au niveau du laboratoire de la FSNV, Université de Bejaia. Il s'agit bien de l'espèce *P. lentiscus* (fig. N°7), Appelée localement «*Amadhagh*».



Figure N° 7 : Photographie de la plante de *Pistacia lentiscus*. (Originale).

### II.2.2. Séchage, broyage et tamisage

Les feuilles et les écorces des racines de *P. lentiscus* ont été séchées, à température ambiante dans un endroit aéré et ombragé, pendant deux mois. Ensuite, la matière séchée a été broyée à l'aide d'un broyeur électrique et les poudres obtenues ont été tamisées, afin de récupérer une poudre fine, d'un calibre inférieur à 63 $\mu$ m. Cette dernière a été conservée à l'abri de la lumière.

### II.2.3. Extraction

La méthode d'extraction choisie est celle de Chiang et ses collaborateurs (1994), avec quelques modifications. C'est une extraction solide/liquide (macération) en utilisant un solvant polaire (éthanol), puis une partition de l'extrait éthanolique dans différents solvants, à polarités variables (Figure N°8).

En effet, 200 g de la poudre des deux parties de la plante ont été extraits avec de l'éthanol (1/4, p/v), pendant 24h, sous agitation à température ambiante et à l'abri de la lumière. Ensuite, la suspension éthanolique a été transférée dans des éprouvettes et laissée décanter (12h), puis centrifugée et le surnageant a été récupéré dans des cristallisoirs, et laissé sécher à température ambiante, sous hotte.

L'extrait éthanolique a été repris dans un mélange d'acétate d'éthyle / eau (3 :1, v/v) et laissé décanter douze heures (12 heures). Les phases organique et aqueuse ont été séparées et laissées évaporer, à l'air libre.

Après évaporation totale du solvant, une partie de la phase organique de l'acétate d'éthyle a été reprise dans un mélange chloroforme/ eau (3 :1, v/v). Après douze heures de décantation, les phases organique et aqueuse ont été séparées, pour subir une évaporation à l'air libre.

A chaque étape d'extraction, une petite quantité de l'extrait est retenue pour des tests ultérieurs d'activités antibactériennes.

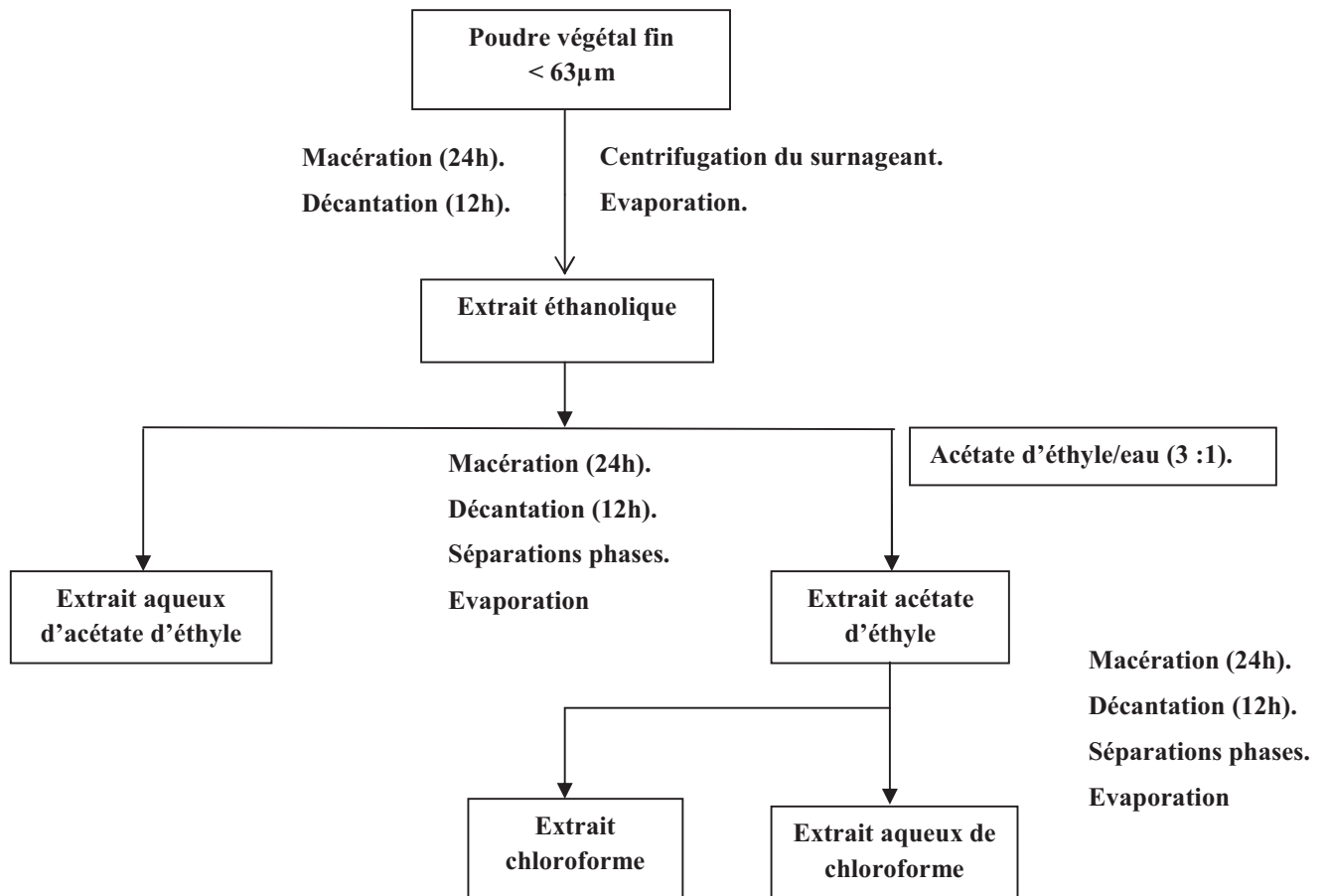


Figure N° 8 : Schéma du protocole d'extraction (Chiang *et al.*, 1994).

## II.2. Souches bactériennes utilisées

Treize (13) souches ont été sélectionnées dont 5 Gram positif (+) à savoir : *Staphylococcus aureus* 1 (St1) : NCCB 89163, *Staphylococcus aureus* 2 (St2) : ATCC 43300 (SARM), *Bacillus subtilis* 1 (Bc1) : NCCB 1090, *Bacillus subtilis* 2 (Bc2) : ATCC 6633, *Listeria innocua* : CLIP 74915. Et 8 Gram négatif (-) à savoir : *Vibrio cholerea* : ATCC , *Salmonella typhimurium* : NCCB 1808, *Shigella flexneris* : NCCB 1406, *Klebseilla pneumonia* : E47 (résistante au quinolones), *Pseudomonas aeroginosa* : ATCC 27853, *Escherichia coli* 1 (Ec1) : NCCB 1, *Escherichia coli* 2 (Ec2) : NAR, *Escherichia coli* 3 (Ec3) : ATCC 25922.

## II.3. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles et les écorces des racines de *P. lentiscus*

### II.3.1. Repiquage des souches bactériennes

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries ou par inondation, puis incubées à l'étuve à 37°C, pendant 18 à 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune, qui servira à préparer l'inoculum bactérien.

### II.3.2. Préparation de l'inoculum bactérien

La densité de l'inoculum bactérien est un élément primordial et elle doit être ajustée à l'aide d'une mesure spectroscopique ou par comparaison avec un étalon de turbidité.

L'étalon recommandé est celui de Mc Farland, car l'activité de tout agent antimicrobien est dépendante de la densité de la suspension cellulaire de la souche cible utilisée.

A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures, sur milieu Mueller-Hinton, non sélectif adapté aux exigences de la souche, une suspension inoculum est préparée dans de l'eau physiologique, équivalente au standard Mc Farland 0,5 (**Annexe 1**) ( $\sim 10^8$ UFC / ml).

D'après le Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**2004**), l'inoculum est standardisé à  $10^8$ UFC/ml, ainsi pas de dilution pour les souches *Salmonella typhimurium* , *Shigella flexneris* et *Listeria Innucua*. Pour toutes les autres souches utilisées l'inoculum est standardisé à  $10^6$ UFC/ml, donc une dilution de 1/100, a été réalisée, de la suspension inoculum à 0,5 McF ( $\sim 10^6$ UFC / ml).

### II.3.3. Déterminations de l'activité antibactérienne

#### II.3.3.1. Méthode de diffusion sur disques

L'activité antibactérienne des extraits des feuilles et les écorces des racines ont été évaluées, à l'aide de la méthode de diffusion sur disque, décrite par Gutierrez-Lug et ses collaborateurs (1996) et utilisés par plusieurs auteurs (Ahmad *et al.*, 2001 ; Penna *et al.*, 2001). Les bactéries ont étéensemencées sur un milieu Mueller-Hinton (MH), à partir de la dilution obtenue, en utilisant des écouvillons stériles, préalablement trempé dans cette solution en stries serrés.

Les disques de papier wattman (6mm de diamètre) stériles ont été déposés sur la gélose, chaque disque est imprégné de 20µl de la solution de l'extrait (5mg/ml), à l'aide d'une micropipette (Ali-emmanuel *et al* 2002). Un disque imprégné de méthanol (20 ul) sert comme témoin négatif. Les boîtes de Pétris ont ensuite été incubés à 37 °C, pendant 18 heures. Un extrait est considéré actif, lorsqu'on mesure une zone d'inhibition autour du disque d'un diamètre supérieur à 6 mm et à l'intérieur de laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée.

Le test a été répété, trois fois pour chaque souche bactérienne utilisée et le calcul du diamètre des zones d'inhibition se fait à deux ou trois fois et à chaque fois en tournant la boîte à différents angles. Le résultat final est la moyenne des trois répliques, pour chaque souche.

### II.4. Fractionnement sur colonne LH20

Des travaux antérieurs aux niveaux du laboratoire de Biochimie Appliqué ont rapporté des résultats pour différentes activités biologiques, en plus de l'activité antibactérienne, notamment l'activité antioxydant, anti-radicalaire et anti-enzymatique. L'extrait aqueux du chloroforme exhibait toujours les meilleurs résultats, par conséquent son fractionnement a été réalisé pour caractériser ces différentes activités.

Les extraits aqueux chloroforme des écorces des racines et des feuilles de *P. lentiscus* ont fait l'objet d'un fractionnement sur colonne de gel de Sephadex LH20. Un échantillon de 200 mg d'extrait préparé dans du méthanol a fait l'objet d'une élution, à travers cette colonne, préalablement préparé, avec du méthanol.

Des fractions de 10ml ont été récupérées, séchées, puis dissoutes dans du méthanol. Des chromatographies sur couche mince de gel de Silice, ont été réalisées pour ces fractions, afin de combiner celles présentant les même profils chromatographiques, aussi bien sous UV (254, 366nm), révélation par la vanilline sulfurique, ainsi les mêmes vis-à-vis du DPPH<sup>•</sup>, donnant ainsi 16 fractions pour l'extrait des écorces des racines et 20 fractions pour celui des feuilles.

Toutes ces fractions ont été séchées pour des tests ultérieurs, notamment une étude phytochimique sur CCM et activité antibactérienne par la méthode de bioautographie.

## **II.5.Séparation des extrais et des fractions des écorces des racines et des feuilles de *P. lentiscus* par CCM**

La chromatographie est une méthode physique de séparation de mélanges, en leurs constituants ; elle est basée sur les différences d'affinité des substances, à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Elle est effectuée surtout, en vue d'une analyse d'un mélange, pour la détection de ces différents constituants ou bien les séparées (**Eloff et al., 2005**).

### **II.5.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)**

Chromatographie sur couche mince, ou sur plaque (CCM) est la plus utilisée pour la séparation des extrais végétales. La phase stationnaire solide qui est à base de gel de silice est fixée sur une plaque, et la phase mobile liquide, nommée éluant, est un solvant.

### **II.5.2. Plaques CCM utilisées et mode opératoire**

La chromatographie sur couche mince est effectuée sur des plaques de silice préfabriquée (20×20 cm). Les plaque ont été coupées en quatre (10×10 cm), puis sont tracées pour limiter le distances de migrations, des extrais et les fractions chromatographiques.

Une chambre de chromatographique avec l'éluant choisi, qui un mélange solvants acétate d'éthyle : acide formique : acide acétique: eau (100/11/11/26 ml) a été préparée et laisser saturer, pendant une heure de temps.

Un trait horizontal à 1 cm environ du bord inférieur est tracé avec un crayon sur la plaque chromatographique et à l'aide d'une micropipette, 20µl ont été déposées, à partir de solutions correspondant, à la concentration de 5mg/ml, pour les extrais et les fractions chromatographiques. Ensuite, la plaque est placée, en position légèrement inclinée dans la cuve chromatographique, de telle sorte qu'elle soit immergée à environ 0,5cm, dans la phase mobile

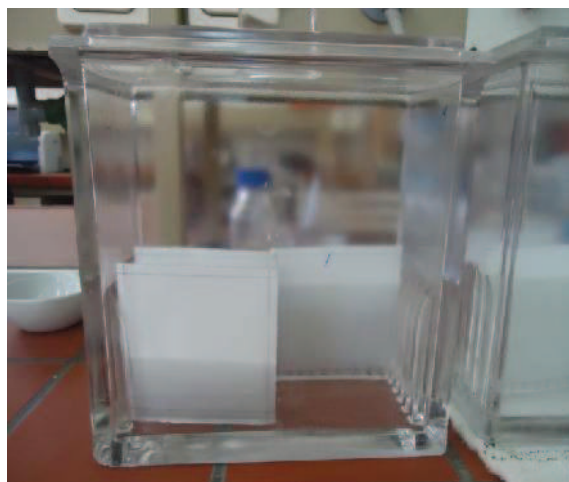


Figure N° 9 : Photographie d'une chambre de chromatographie

Les plaques ont été observées à la lumière du jour et sous une lampe UV (254nm et 360nm). Ensuite, elles ont été révélées, par la vanilline sulfurique et l'anisaldéhyde, préparées selon la méthode de Stahl (1969) in Eloff et *al.*, (2005). Après pulvérisation, avec les deux révélateurs, les plaques de CCM ont été chauffées à 105°C : jusqu'au développement optimal de la couleur (Eloff et *al.*, 2005). Plusieurs colorations apparaissent en fonction du type de composés.

## II.6. Détermination de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles et des écorces des racines et les fractions chromatographiques de *P. lentiscus*, par la méthode de bioautographie

Afin d'identifier quelles sont les molécules responsables de l'activité antibactérienne dans les différents extraits et fractions chromatographiques de *P. lentiscus*, nous avons adaptée la méthode de bioautographie.

### II.6.1. Souches testées par la bioautographie

Après avoir vue l'effet antibactérien des extraits des écorces des racines et des feuilles de *P. lentiscus* sur les treize souches testé, on a choisi deux souches pour la bioautographie. Une a Gram- qui est *Pseudomonas aeruginosa* : ATCC 27853, et une autre à Gram+, notamment *Staphylococcus aureus* : NCCB 89163.



### II.6.2. Bioautographie

Les plaques des différents extraits et les fractions chromatographiques obtenues, après une séparation sur CCM, décrite précédemment ont été séchées dans une étuve à 37°C, pendant une nuit. 10 ml d'une suspension bactérienne de 10<sup>6</sup> UFC/ml a été ajoutée à 100 ml du milieu Mueller-Hinton, stérilement (**Schmourlo et al., 2005**). Par la suite, une couche de 1 mm d'épaisseur, de Mueller-Hinton, a été déposée sur la plaque CCM. Les plaques ont été, ensuite, incubées pendant 18 h, à 37°C, dans des boîtes de pétri de 15cm de diamètre. Enfin, les différentes plaques de CCM ont été pulvérisées, avec une solution de chlorure de para-iodonitrotétrazolium (INT) (2 mg/mL) et incubées, à nouveau pendant quatre heures. L'INT est alors transformée par une déhydrogénase bactérienne, en un composé d'une couleur rouge foncé. L'inhibition de la croissance bactérienne est révélée par la présence de zones claires (**Buwa et al., 2007**).

***Chapitre III***  
***Résultats et discussion***

### III.1. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles et les écorces des racines de *P. lentiscus* :

Cette partie du travail vise à montrer la présence ou l'absence d'une activité antibactérienne, sur les 5 extraits des écorces des racines et des feuilles de *Pistacia lentiscus*, à savoir l'extrait éthanolique, extrait acétate d'éthyle, extrait aqueux acétate d'éthyle, extrait chloroforme et aqueux du chloroforme, et le témoin qui est le méthanol pure, dont les extraits ont été préparés. Alors nous avons opté pour la méthode de diffusion sur disques, une méthode qualitative et quantitative, décrite par Gutierrez-Lug et ses collaborateurs (1996) et utilisés par plusieurs auteurs (Ahmad *et al.*, 2001 ; Penna *et al.*, 2001).

Dans chaque disque 20 µl de l'extrait on été introduit, de façon à avoir 100 µg d'extrait par disque, soit une concentration de 5 mg/ml. Par la suite les boites sont mises au réfrigérateur, pour une durée de 2h à 3h, afin de favoriser la diffusion de l'extrait, pour incuber, par la suite, à une température de 37°C, pendant 24h.

La taille de l'inoculum est un paramètre déterminant de la fiabilité et de la reproductibilité du résultat. Alors nous avons choisi un inoculum d'environ  $10^6$  UFC/cm<sup>3</sup>. Cette charge nous a permis d'avoir un tapis de colonies uni et assez denses.

Certains extraits ont montré des zones d'inhibition non homogènes qui peuvent être attribuées, à un problème de diffusion des d'extraits sur la gélose.

D'autres extraits ont montré une croissance de colonies autour des disques d'aspect identique au reste du tapis bactérien, suivi d'une nette zone d'inhibition. Ces extraits ont été considérés comme actifs, et les colonies c'est des mutants.

#### III.1.1. Activité antibactérienne vis-à-vis la souche *Vibrio cholerea*: ATCC

Les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces de racines et feuilles de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Vibrio cholerea* sont indiqués dans le tableau VI.

**Tableau VI** : diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces des racines et feuilles de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Vibrio cholerea*. Les résultats en mm.

Extraits	Ecorce de racines	Feuilles
éthanolique	11 ±2	14±1
acétate d'éthyle	9,33±0,58	<b>17,75±0,35</b>
aqueux éthyl acétate	10±1,73	<b>15,33±0,58</b>
chloroforme	9,67±1,15	14,67±1,15
aqueux Chloroforme	9,33±0,58	<b>17±2</b>
Méthanol	9,67±0,58	13±1,73

Les résultats du tableau VI indiquent que les extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus* exhibent une activité antibactérienne, contrairement aux extraits de l'écorce des racines, qui se sont avérés inactifs.

Les extraits d'acétate d'éthyle et du chloroforme des feuilles ont donné une activité importante, avec une zone d'inhibition de  $17,75 \pm 0,35$  mm et  $17 \pm 2$  mm, respectivement. Quant aux restes des extraits, l'effet antibactérien est modéré, avec des zones d'inhibition allant de  $14 \pm 1$  mm à  $15,33 \pm 0,58$  mm.

Les résultats de Muhammad et ses collaborateurs (2011) ont révélé une légère sensibilité de la souche *Vibrio cholerae* : ATCC 14035, vis-à-vis des extraits éthanoliques de fruit de *Spondias pinnata* (Anacardiaceae). De ce fait, les feuilles de *P.lentiscus* pourraient être une source importante de composés inhibiteur de cette souche.

### III.1.2. Activité antibactérienne vis-à-vis la souche *Salmonella typhimurium* NCCB 1808 :

Les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces des racines et feuille des *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Salmonella typhimurium* sont indiqués dans le tableau VII.

**Tableau VII** : diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces des racines et feuille de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Salmonella typhimurium*. Les résultats sont indiqués en mm.

Extraits	Ecorce de racines	Feuilles
éthanolique	$10 \pm 1,41$	$12,33 \pm 1,15$
acétate d'éthyle	$12,67 \pm 0,58$	$12,67 \pm 0,58$
aqueux acétate d'éthyle	$12 \pm 1,73$	$11,67 \pm 1,53$
chloroforme	$12,33 \pm 1,53$	$13,50 \pm 0,71$
aqueux Chloroforme	$12,67 \pm 2,52$	<b><math>17,50 \pm 2,12</math></b>
Méthanol	$11,33 \pm 1,53$	$11,67 \pm 1,53$

D'après le tableau VII, les extraits chloroforme et aqueux du chloroforme ont une activité contre *Salmonella typhimurium*, avec un diamètre d'inhibition de  $13,50 \pm 0,71$  et  $17,50 \pm 2,12$  mm, respectivement.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de Benhammou et ses collaborateurs (2008) qui ont démontré que *Salmonella typhi*:404540 est sensible aux extraits éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*.

L'acide gallique présent dans les extraits éthanolique de *Caesalpinia mimosoides* (Leguminosae) exhibe une forte activité contre *Salmonella typhi*, rapporté par Chanwitheesuk et ses collaborateurs (2007), nous laisse lier cette activité à la présence de l'acide gallique dans les feuilles de *P.lentiscus*, rapporté par la littérature (Romani et al., 2002).

Les extraits de l'écorce des racines du lentisque, par contre, n'ont révélé aucun effet antibactérien contre *Salmonella typhimurium*.

Cette résistance de la souche *Salmonella typhimurium* a été démontrée par Rangasamy et ses collaborateurs (2007), sur les extraits méthanoliques des feuilles de *Magifera indica*, une plante médicinale appartenant à la même famille du lentisque (Anacardiaceae).

### III.1.3. Activité antibactérienne vis-à-vis la souche *Shigella flexneris* : NCCB 1406 :

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits des écorces de racines et feuilles de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Shigella flexneris* ont indiqués dans le tableau VIII.

**Tableau VIII** : diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces des racines et feuille de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Shigella flexneris*.

Les extraits	Ecorce de racines	Feuilles
Ethanolique	11,33 ±0,58	13,67±1,53
Acétate d'éthyl	<b>18±1,41</b>	<b>14,33±1,15</b>
Aqueux éthyl acétate	12,67±1,53	13±1,41
Chloroforme	<b>17±1,41</b>	12,50±0,71
Aqueux Chloroforme	<b>15±1</b>	<b>15±2</b>
Methanol	13,83±0,29	12,33±1,15

Les résultats énumérés dans le tableau VIII indiquent que les extraits organiques, notamment l'acétate d'éthyle et du chloroforme d'écorce de racines, ont exhibé d'importantes zones d'inhibition, à savoir 18±1,41 et 17±1,41mm, respectivement. Par contre, ce sont les extrait organique de l'acétate d'éthyle et aqueux du chloroforme des feuilles, qui se sont démontrés actifs sur la souche *Shigella flexneris* (14,33±1,15 et 15±2mm, respectivement).

Ces résultats sont intéressants, par rapport aux résultats obtenus avec un extrait éthanolique du fruit d'une plante appartenant à la même famille du lentisque, notamment *Spondias pinnata* (Anacardiaceae), à une concentration de 500µg/disc, contre la souche *Shigella boydii* : ATCC 9361, avec une d'inhibition de 7±0,64 mm (Muhammad et al., 2011).

### III.1.4. Activité antibactérienne vis-à-vis la souche *Klebsiella pneumoneae* E47(résistante au quinolones):

Le tableau IX énumère les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces de racines et feuille de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Klebsiella pneumoneae*.

**Tableau IX :** diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces de racines et feuilles des *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Klebsiella pneumoniae*. Les résultats en mm.

Extraits	Ecorce de racines	Feuilles
Ethanolique	13,67 ±2,08	<b>14±1</b>
Acétate d'éthyle	13,67±0,58	<b>14,67±1,15</b>
Aqueux éthyl acétate	13,33±1,53	<b>14,33±1,53</b>
Chloroforme	<b>14±1,73</b>	13±1
Aqueux Chloroforme	<b>14,67±1,15</b>	<b>15,67±0,58</b>
Méthanol	12,50±2,12	10,67±0,58

Seul l'extrait aqueux du chloroforme des feuilles de *Pistacia lentiscus* qui a montré un effet antibactérien très important (15,67±0,58mm), tandis que le reste des extraits des feuilles et des écorces des racines de *Pistacia lentiscus* présentent des zones d'inhibition avoisinant 13 à 14 mm de diamètre, contre *Klebsiella pneumoniae*.

Ces résultats paraient très intéressants, par rapport aux résultats obtenus par Benhammou et ses collaborateurs (2008), avec les extraits éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* et ce avec une concentration 0,316g/mL, contre *Klebsiella pneumoniae* : 5215773.

### III.1.5. Activité antibactérienne vis-à-vis la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 :

Les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces des racines et feuilles des *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* ont indiqués dans le tableau X.

**Tableau X :** diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces des racines et feuille des *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*.

Les extraits	Ecorce de racines	Feuilles
Ethanolique	11,67±1,53	<b>15,5±0,71</b>
Acétate d'éthyl	11,33±1,15	<b>14,00±1,41</b>
Aqueux éthyl acétate	11,67±1,53	12,67±1,15
Chloroforme	12,67±1,53	11,5±0,71
Aqueux Chloroforme	<b>16,50±0,71</b>	<b>18±1</b>
Methanol	11,50±0,71	10±1

A l'exception de l'extrait aqueux du chloroforme des extraits des écorces des racines de *Pistacia lentiscus* (16,50±0,71mm), tous les extraits n'ont présenté aucun effet inhibiteur vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*. Par contre cette dernière s'est montrée sensible à tous les extraits des feuilles du lentisque. La plus importante activité est enregistrée avec l'extrait aqueux

du chloroforme, avec un diamètre de zone d'inhibition de  $18 \pm 1$  mm, suivie de celle de l'extrait éthanolique qui est de  $15,5 \pm 0,71$  mm.

### III.1.6. Activité antibactérienne vis-à-vis les souches *Staphylococcus aureus* :

Les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces de racines et feuilles de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Staphylococcus aureus* sont indiqués dans le tableau XI.

**Tableau XI** : diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces de racines et feuilles de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Staphylococcus aureus*. Les résultats sont indiqués en mm. St1 : *Staphylococcus aureus* : NCCB 89163. St2 : *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (SARM).

Les extraits	Ecorce de racines		Feuilles	
	St1	St2	St1	St2
Ethanolique	$12,67 \pm 2,08$	$11,33 \pm 1,15$	<b><math>14 \pm 1,41</math></b>	<b><math>16,50 \pm 0,71</math></b>
Acétate d'éthyl	<b><math>17,17 \pm 1,26</math></b>	$11,50 \pm 0,71$	$11 \pm 1,41$	<b><math>14,5 \pm 0,71</math></b>
Aqueux éthyl acétate	<b><math>15,75 \pm 0,35</math></b>	$11,67 \pm 0,58$	<b><math>14,50 \pm 0,71</math></b>	$12,33 \pm 1,53$
Chloroforme	$11 \pm 1,73$	$11 \pm 1,41$	$13,50 \pm 0,71$	$12,33 \pm 0,58$
Aqueux Chloroforme	<b><math>14,50 \pm 0,71</math></b>	$10 \pm 1,41$	$11,50 \pm 2,12$	$10,50 \pm 0,71$
Methanol	$11,50 \pm 0,71$	$10 \pm 1,41$	$12,33 \pm 0,58$	$11,33 \pm 0,58$

Les extraits organique, aqueux d'acétate éthylique et aqueux du chloroforme des écorces des racines de *Pistacia lentiscus* ont présenté des zones d'inhibition importante, vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* 1 (St1), dont les diamètres des zones d'inhibition de  $17,17 \pm 1,26$  mm,  $15,75 \pm 0,35$  et  $14,50 \pm 0,71$  mm, respectivement. Par contre la souche *Staphylococcus aureus* 2 (St2) s'est montrée résistante, vis-à-vis de tous les extraits des écorces des racines du lentisque.

D'une autre part, seul l'extrait éthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus*, ayant démontré une activité importante inhibitrice, contre *Staphylococcus aureus* 2 (St2) ( $16,50 \pm 0,71$  mm).

En revanche, c'est la souche *Staphylococcus aureus* 1 (St1) qui s'est montrée moins sensible, vis-à-vis des extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus*.

Les études de Bag et ses collaborateurs (2012) ont démontré que la souche *Staphylococcus aureus* est sensible pour les extraits éthanolique des fruits de la plante *Eugenia jambolana* (Myrtaceae), comparativement à celle des extraits acétoniques et des extraits aqueux. Et la même étude a démontré l'effet inhibiteur de l'extrait d'acétate d'éthyle, contre la même souche. Aussi une forte activité contre *Staphylococcus aureus*: ATCC 601 a été enregistrée avec l'extrait éthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus* (Benhammou et al., 2008).

### III.1.7. Activité antibactérienne souche *Bacillus subtilis*:

L'activité antibactérienne des extraits des écorces de racine et feuilles de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Bacillus subtilis* est indiquée dans le tableau XII.

**Tableau XII :** les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces de racines et feuilles de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Bacillus subtilis*. Les résultats sont indiqués en mm. Bc1 : *Bacillus subtilis* NCCB 1090. Bc2 : *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

Extraits	Ecorce de racines		Feuilles	
	Bc1	Bc2	Bc1	Bc2
Ethanolique	11,67 ±1,15	10,33±1,15	13±2	14±2
Acétate d'éthyl	10,67±1,15	10,33±0,58	12,67±2,52	14,67±1,15
Aqueux éthyl acétate	10,33±1,53	11,33±0,58	13±1	12,67±1,15
Chloroforme	11,67±1,53	9±1,41	11,67±2,08	12±1
Aqueux Chloroforme	<b>13,33±2,31</b>	10±1	14,50±2,12	13,67±0,58
Methanol	9,33±1,53	10,33±1,53	12,33±1,53	12±1

Les extraits de feuilles et des écorces de racines de *Pistacia lentiscus* testés n'ont démontré aucun effet antibactérien contre *Bacillus subtilis* 1 (Bc1) et *Bacillus subtilis* 2 (Bc2), à l'exception de l'extrait aqueux du chloroforme des écorces des racines, qui a présenté une activité modérée, vis-à-vis *Bacillus subtilis* 1, avec un diamètre de zone d'inhibition de 13,33±2,31 mm, en comparaison à celui obtenu avec le témoin négatif, qui est de 9,33±1,53 mm.

Une étude menée par Sanchez-Medina et ses collaborateurs (2001) ont démontré la sensibilité de *Bacillus subtilis* : ATCC6633, aux extraits de racines de *Jatropha gaumeri* (Euphorbiaceae) et la même étude révèle leur teneur en Pyrrolizidinic et alkaloides, responsable, probablement de cet effet.

D'une autre part, il a été rapporté que la teneur en quercetin-3-O-glycoside et la kaempferol-3-O-glycoside, sont responsable de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques, de l'espèce *Mentha longifolia* (Lamiacées) (Akroum et al., 2009). Donc on peut attribuer cette activité à la présence de ces composés dans *P.lentiscus* révélés dans la littérature (Romani et al., 2002).

### III.1.8. Activité antibactérienne souche *Listeria innocua* E47 (résistante au quinolones) :

Les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces de racines et feuilles de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Listeria innocua* sont indiqués dans le tableau XIII.



**Tableau XIII** : diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces des racines et feuilles de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Listeria innocua*.

Extraits	Ecorce de racines	Feuilles
Ethanolique	13±1	13±1
Acétate d'éthyl	12,33±1,53	13±1,41
Aqueux éthyl acétate	13,67±1,53	13,50±2,12
Chloroforme	11,67±1,15	11,33±2,08
Aqueux Chloroforme	<b>14,67±1,53</b>	<b>14±1</b>
Méthanol	12,33±0,58	12,67±0,58

Une activité plus ou moins importante des extraits aqueux du chloroforme des écorces de racines et des feuilles, contre *Listeria innocua*, avec des diamètres de zones de 14,67±1,53 mm et 14±1 mm, respectivement.

Le même résultat a été obtenu avec les extraits éthanoliques de feuilles de *Pistacia lentiscus* a été obtenue, contre *Listeria monocytogenes* : ATCC 1911 (Benhammou et al., 2008).

### III.1.9. Activité antibactérienne souche *Escherichia Coli*

Les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces de racines et feuilles de *Pistacia lentiscus*, vis-à-vis, *Escherichia Coli* sont indiqués dans le tableau XIV.

**Tableau XIV** : diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits des écorces de racines et feuilles de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis *Escherichia Coli*. Les résultats sont indiqués en mm. Ec1 : *Escherichia Coli* NCCB 1. Ec2 : *Escherichia Coli* NAR. Ec3 : *Escherichia Coli* ATCC 25922.

Extraits	Ecorce des racines			Feuilles		
	Ec1	Ec2	Ec3	Ec1	Ec2	Ec3
Ethanolique	13,33 ±0,58	9,50±0,71	12±1,63	<b>17±1</b>	11,33±0,58	11,67±1,70
Acétate d'éthyle	13,67±1,53	10,25±0,35	11,67±0,94	<b>16±1</b>	11,67±1,53	11,67±0,47
Aqueux acétate d'éthyle	13±1	10,67±2,08	10±1,41	13±1	12,67±2,31	12,67±1,70
Chloroforme	<b>15,33±0,58</b>	10±1,73	11±0,82	13,17±0,29	11,67±1,53	12±2,16
Aqueux Chloroforme	13,67±1,53	9±1,41	11,33±0,94	<b>16,33±0,58</b>	14±1,73	13±2,16
Méthanol	11,67±0,58	9,33±1,53	11±0,82	12±1	12,33±2,08	11,67±0,47

Les résultats du tableau N° montrent que les extraits testés ont des activités antibactériennes variables sur les différentes souches d'*Escherichia Coli*.

L'extrait du chloroforme des écorces des racines a présenté une activité importante sur *Escherichia Coli* 1 (Ec1), traduite par un diamètre de zone d'inhibition de 15,33±0,58 mm, comparativement à celui du méthanol, qui est de 11,67±0,58 mm.

Par contre, ce sont les extraits éthanolique, acétate d'éthyle de feuilles de *Pistacia lentiscus*, ainsi que l'aqueux du chloroforme, qui ont présenté d'importantes zones

d'inhibition, vis-à-vis, de *Escherichia Coli* 1 (Ec1), avec des diamètres de zones d'inhibition de  $17 \pm 1$  mm,  $16 \pm 1$  mm et  $16,33 \pm 0,58$  mm, respectivement.

Les extraits des deux parties de plante n'ont pas présenté une activité, vis-à-vis, *Escherichia Coli* 2 (Ec2) et *Escherichia Coli* 3 (Ec3).

Ces résultats sont en accord avec les résultats de Benhammou et ses collaborateurs (2008), sur *Escherichia coli* 5044172, qui s'est montrée résistante, vis-à-vis, de l'extrait éthanolique de feuilles de *Pistacia lentiscus*.

### **III.2. Etude chromatographique sur couche mince des extraits aqueux du chloroforme des écorces de racines et des feuilles de *Pistacia lentiscus*, ainsi que leurs fractions chromatographiques :**

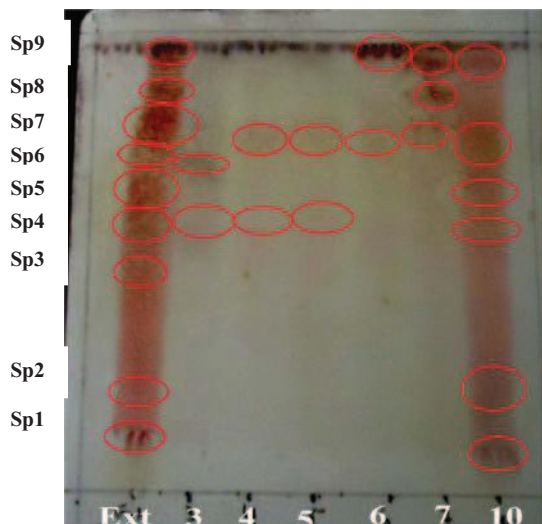
Des chromatographies sur couche mince (CCM) des extraits aqueux de chloroforme ainsi que leurs fractions chromatographique sur gel de Sephadex LH-20 des deux parties de la plante collectée, ainsi que quelques molécules de références ont été réalisées. une pulvérisation de la vanilline sulfurique ainsi qu'avec le *p*-Anisaldehyde ont permis de visualiser les différentes bandes.

#### **III.2.1. Etude phytochimique de l'extrait aqueux de chloroforme des écorces de racines ainsi que ses fractions chromatographies sur gel de Sephadex LH-20 et les molécules de références après révélation à la vanilline sulfurique :**

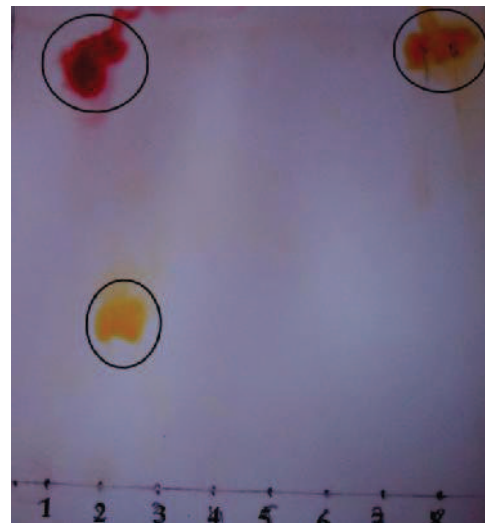
Une certaine polarité, ainsi qu'une hydrolyse acide sont nécessaire pour une meilleurs séparation, pour les composés complexes existants, afin d'avoir une meilleure séparation, en comparaison avec plusieurs systèmes qu'on a testé au niveau du laboratoire, notamment l'acétate d'éthyle/méthanol/eau;chloroforme/méthanol;chloroforme/méthanol/eau;chloroforme/méthanol/ acide formique..... etc. avec différents rapports volumiques, entre les solvants de chaque système.

Le système polaire, acide : Acétate éthyl / Acide formique / Acide acétique / Eau :(100/11/11/26) a été choisi pour la séparation des différents extraits et fractions chromatographiques.

La figure N° : 10 montre le chromatogramme de l'extrait aqueux du chloroforme des écorces de *Pistacia lentiscus* et ses fractions chromatographiques.



**Figure N°10 :** Chromatogramme de l'extrait aqueux de chloroforme des écorces de racines et ses fractions pulvérisés à la vanilline sulfurique. Ext : Extrait aqueux du chloroforme. 3, 4, 5, 6, 7, 10 : fractions chromatographiques. Sp : Spot.



**Figure N°11 :** Chromatogramme des standards pulvérisés à la vanilline sulfurique. 1 : Catéchine. 2 : Rutine. 3 : Acide Gallique. 4 : Acide Tannique. 5 : Acide cinnamique. 6 : Acide Caféique. 7 : Acide p-coumarique. 8 : Quercitine.

D'après la figure N°11, nous constatons que trois molécules de référence ont été révélées, par la vanilline sulfurique, à savoir : catéchine, rutine et quercitine, avec de différents rapports frontaux et différentes couleurs, rouge, jaune et orange, respectivement. Par contre, les autres molécules de référence utilisées, notamment les acides gallique, tannique, cinnamique, caféique et *p*-coumarique, n'ont pas été mis en évidence par la vanilline sulfurique. Cela pourrait être expliqué par le seuil de détection du révélateur (vanilline sulfurique), qui nécessite une concentration minimale pour le colorer (Sharma *et al.*, 1998).

L'extrait aqueux du chloroforme, après révélation par la vanilline sulfurique possède neuf spots de divers rapports frontaux, illustrant sa richesse en composés.

La fraction N° 10 de cet extrait a montré six spots, la fraction N° 7 a présenté trois spots et les fractions N° 3, 4, 5 et 6 ont montré que deux spots. Cette différence en nombre de spots et leurs rapports frontaux dans les différentes fractions chromatographiques, démontre clairement une élution de composés différents, au fur et à mesure de la récolte des fractions.

Le spot 6 (Sp 6) a été observé dans l'extrait et toutes ses fractions testées, ainsi pour le spot4, qui est révélé dans l'extrait et les fractions N° 3, 4, 5 et 10, avec le même rapport frontal, mais avec des intensités de couleurs différentes, expliquant sa concentration dans les différentes fractions.

Par contre les spots 1 et 2 ne sont présents que dans l'extrait aqueux et la fraction N° 10.

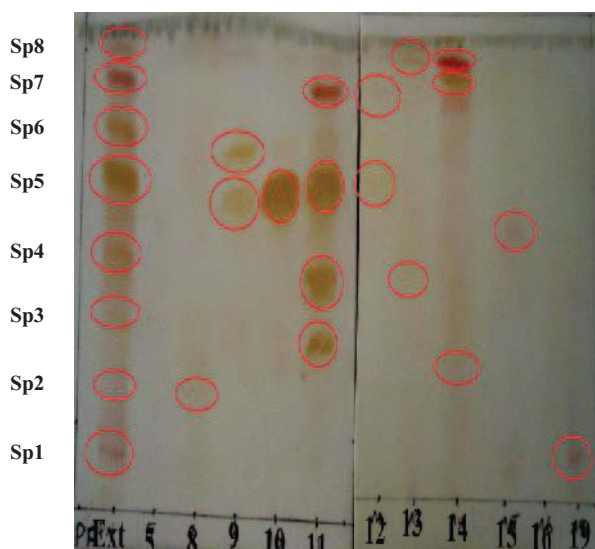
Le spot 7 quant à lui, il est présent dans l'extrait et la fraction N° 7 avec le même rapport frontal et la même couleur (rouge), qui sont similaire à la molécule de référence, catéchine, ce

qui nous laisse suggérer sa présence dans l'extrait des écorces des racines de *P.lentiscus* et son élution dans la fraction N°7.

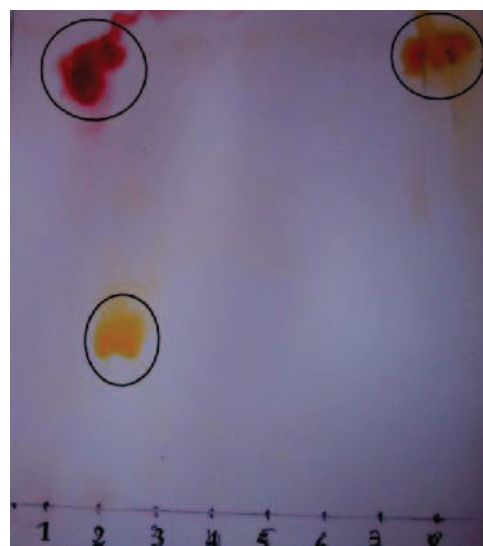
La présence de catéchine pourrait être expliquée par l'hydrolyse acide de tannins condensés présents dans *P.lentiscus*, rapportés par la littérature (Azaïzeh et al., 2010).

### III.2.2. Etude phytochimique de l'extrait aqueux du chloroforme des feuilles ainsi que ses fractions chromatographique de *Pistacia lentiscus* et les molécules de référence révélés à la vanilline sulfurique :

Le chromatogramme de l'extrait aqueux du chloroforme des feuilles de *Pistacia lentiscus* et ses fractions chromatographiques sont montrés dans la figure N°



**Figure N°12 :** Chromatogramme de l'extrait aqueux de chloroforme des feuilles et ses fractions pulvérisés à la vanilline sulfurique Ext : extrait aqueux de chloroforme. 5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 19 : Fractions de l'extrait aqueux. Sp : Spot.



**Figure N°11 :** Chromatogramme des standards pulvérisés à la vanilline sulfurique. 1 : Catéchine. 2 : Rutine. 3 : Acide Gallique. 4 : Acide Tannique. 5 : Acide cinnamique. 6 : Acide Caféique. 7 : Acide p-coumarique. 8 : Quercétine.

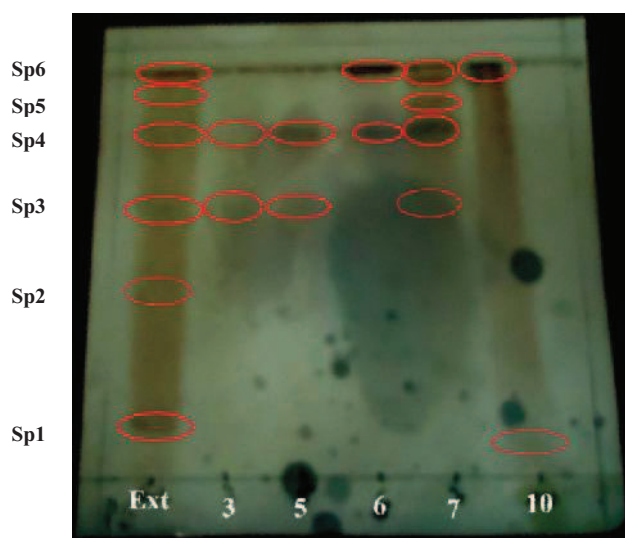
La figure ci-dessus montre que l'extrait aqueux du chloroforme présente huit spots, la fraction N° 11, quatre spots, tandis que les autres fractions exhibent entre un et trois spots uniquement. Les fractions 5 et 16 n'ont donné aucun spot.

Le spot 5 présent dans l'extrait et plusieurs fractions, notamment les fractions N°10 et 11, est de même couleur que la quercétine, révélée dans le chromatogramme des molécules de référence. Ainsi la quercétine est probablement présente dans le spot 5 des fractions 10 et 11.

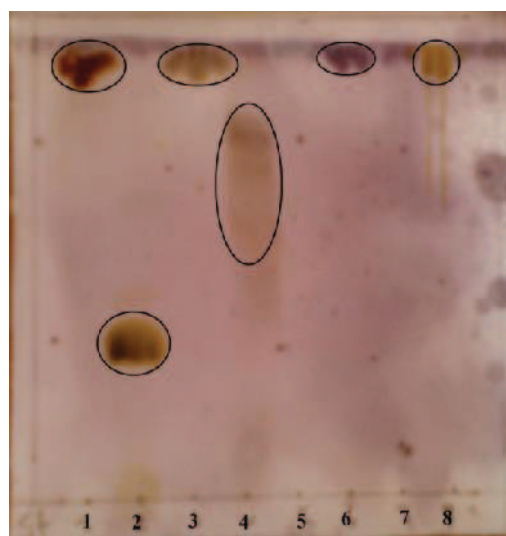
Ce résultat est en concordance avec les données obtenues par plusieurs études qui ont caractérisé la quercétine dans les extraits de *Pistacia lentiscus*, sous une forme glycosylée (Kawashty et al., 2000; Romani et al., 2002).

Le spot 7 de l'extrait aqueux du chloroforme, présent dans les fractions N° 11 et 14, avec le même rapport frontal, est de même couleur et rapport frontal que la catéchine, suggérant la présence probable de la catéchine dans l'extrait et les fractions N°11 et 14.

**III.2.3. Etude phytochimique de l'extrait aqueux de chloroforme des écorces de racines ainsi que leurs fractions chromatographique de *Pistacia lentiscus* et les molécules de références révélés à l'ansaldehyde :** les chromatogrammes sont montrés dans les figures suivantes :



**Figure N°13:** Chromatogramme de l'extrait aqueux de chloroforme d'écorce de racines et ses fractions pulvérisés à l'ansaldehyde. Ext : Extrait aqueux de chloroforme. 3, 4, 5, 6, 7, 10 : fractions chromatographiques. Sp : Spot.



**Figure N°14:** Chromatogramme des standards pulvérisés à l'ansaldehyde des molécules de référence 1 : Catéchine. 2 : Rutine. 3 : Acide Gallique. 4 : Acide Tannique. 5 : Acide cinnamique. 6 : Acide Caféique. 7 : Acide p-coumarique. 8 : Quercitine.

La figure N°14 nous montre que six molécules de référence ont été révélées par l'ansaldehyde, à savoir : catéchine, rutine, acide Gallique, acide Tannique, acide caféique et la quercitine, contrairement à la vanilline qui a révélé que trois.

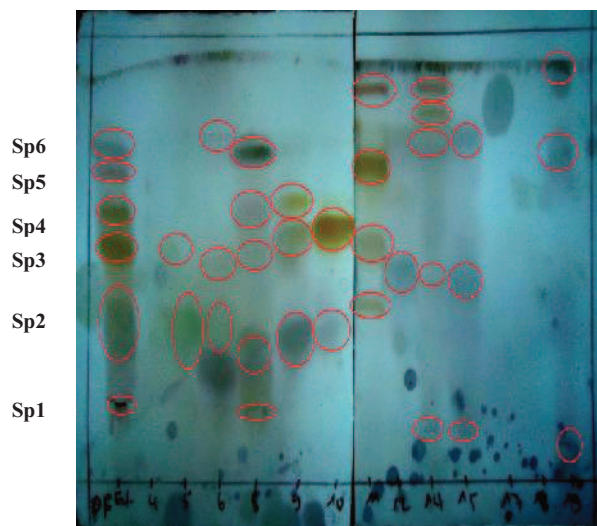
L'extrait aqueux du chloroforme des écorces de racines de *Pistacia lentiscus* après révélation par l'ansaldehyde possède six spots, de divers rapports frontaux. La fraction N° 7 de cet extrait a montré quatre spots, les autres fractions (N° 3, 5, 6 et 10) ont présenté que deux spots chacune.

Le spot 4 s'est montré présent dans l'extrait et toutes les autres fractions testées, sauf la fraction N° 10. Le spot 6 (Sp 6) est observé dans l'extrait et les fractions N° 6, 7 et 10, il est de

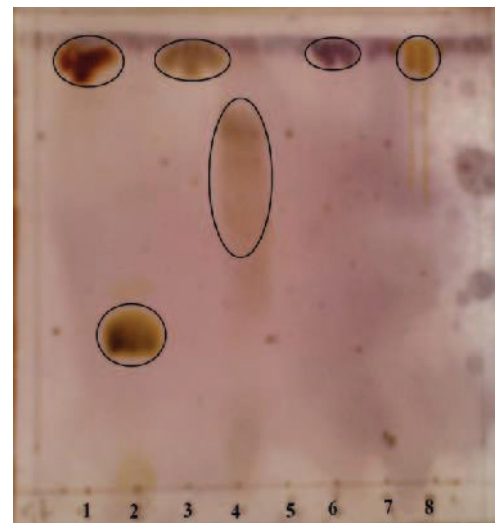


même rapport frontal et de couleur semblable à la catéchine. Cette observation ce qui peut être probablement de la catéchine.

### III.2.4. Etude phytochimique de l'extrait aqueux de chloroforme des feuilles ainsi que ses fractions chromatographique de *Pistacia lentiscus* et les molécules de référence révélés à l'ansaldehyde :



**Figure N°15:** Chromatogramme de l'extrait aqueux de chloroforme des feuilles et ses fractions de *Pistacia lentiscus* pulvérisés à l'ansaldehyde. Ext : extrait aqueux de chloroforme. 5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 19 : Fractions de l'extrait aqueux. Sp : Spot.



**Figure N°14:** Chromatogramme des standards pulvérisés à l'ansaldehyde. 1 : Catéchine. 2 : Rutine. 3 : Acide Gallique. 4 : Acide Tannique. 5 : Acide cinnamique. 6 : Acide Caféique. 7 : Acide p-coumarique. 8 : Quercitine.

On remarque que l'extrait aqueux du chloroforme des feuilles de *Pistacia lentiscus* révélé à l'ansaldehyde, a présenté six spots. La fraction N° 14 et 8 ont montré cinq spots, les fractions N° 5, 6, 9, 10, 11, 15 et 19 ont présenté trois spots, par contre la fraction N°4, 17 et 18 n'ont présenté aucun spot.

Le spot 2 s'est apparu dans l'extrait et presque toutes ses fractions testées sauf les fractions N° 4, 17 et 18.

Le spot 1 est présenté dans l'extrait et les fractions N° 8, 14, 15 et 19 et elle a une couleur rouge comme la catéchine, mais de rapport frontal différent avec cette dernière, ce qui peut suggérer que le spot 1 est de la catéchine.

Le spot 3 est présent dans l'extrait et il est de même couleur (jaune brun) que la quercitine, ce qui nous permet de supposer que c'est de la quercitine. Aussi, ce spot s'est apparu

dans plusieurs autres fractions à savoir les fractions N° 5, 6, 8, 9, 10, 11, 14 et 15 avec de différents rapports frontaux et de couleurs rapprochées.

Le spot 5 est présent dans les fractions N° 8, 11 et 14, il est de même rapport frontal que l'acide tannique, ce qui nous emmène à suggère sa présence dans l'extrait et les fractions.

Le dernier spot de la fraction 19, présente une couleur et un rapport frontal, similaires à ceux de l'acide gallique, alors il est fort probable que ça soit de l'acide gallique.

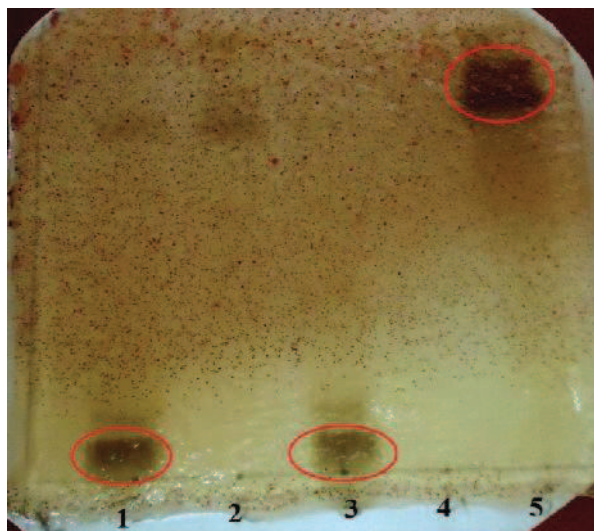
En effet, la teneur en tannins hydrolysables est estimée à 70% des composés phénoliques totaux, au niveau des feuilles de *P. lentiscus*, rapportée par Romani et ses collaborateurs (2002).

De plus, Abdelwaheb et *al.*, (2007) ont isolé le penta-galloylglucose, à partir des feuilles de *P. lentiscus*. un tannin hydrolysable, qui en s'hydrolysant donne de l'acide gallique.

### III.3. Etude de l'activité antibactérienne des extraits et des fractions chromatographiques des racines des écorces et des feuilles de *Pistacia lentiscus* par la méthode bioautographique

#### III.3.1. Bioautographie sur la souche *Staphylococcus aureus* NCCB 89163

**III.3.1.1. Bioautographie sur la souche *Staphylococcus aureus* NCCB 89163 des extraits et fractions chromatographique des écorces de racines** Les figures ci-dessous montrent les profils bioautographiques, avec la souche *Staphylococcus aureus* NCCB 89163.



**Figure N°17:** Chromatogramme des extraits de l'écorce de racines de *Pistacia lentiscus*, obtenus par CCM. après culture bactérienne et révélation au INT. 1 : Extrait éthanolique, 2 : Extrait d'éthyl acétate, 3 : Extrait aqueux d'éthyl acétate, 4 : Extrait de chloroforme, 5 : Extrait aqueux de chloroforme.



**Figure N°18:** Chromatogramme des molécules de référence, obtenus par CCM. après culture bactérienne et révélation au INT. 1: Catéchine, 2: Rutine, 3: Acide Gallique, 4: Acide Tannique, 5: Acide cinnamique, 6: Acide Caféique, 7: Acide *p*-coumarique, 8: Quercitine.



**Figure N°19:** Chromatogramme de l'extrait aqueux du chloroforme de l'écorce de racines de *Pistacia lentiscus* et ses fractions, obtenus par CCM. après culture bactérienne et révélation au INT. Ext : Extrait aqueux du chloroforme, 3, 5, 6, 7, 10 : fraction chromatographiques.

Il ressort de la figure N° 18 que les molécules de référence, catéchine, acide gallique, acide caféique et quercitine exhibent des zones d'inhibition, vis-à-vis *Staphylococcus aureus*.

D'après Bruneton (1999) et Kuete et ses collaborateurs (2008), la catéchine exhibe une importante activité antibactérienne, vis-à-vis d'une large gamme de bactéries. Cette capacité est due à son degré d'hydroxylation, car avec le groupement 5 hydroxy (-OH), la croissance bactérienne est inhibée.

De même, les travaux de Stapleton et ses collaborateurs (2004) ont confirmé l'activité inhibitrice de la catéchine et ses dérivés contre la souche *Staphylococcus aureus* (Oxacilline résistante).

La figure N° 17 nous montre une zone non colorée au révélateur, au niveau de l'extrait 5 (extrait aqueux du chloroforme) qui correspond à une zone d'inhibition. En effet, le sel de tetrazolium, incolore, agit comme un accepteur électronique, il est réduit à un produit le formazan de couleur rouge par des organismes biologiquement actifs, et reste clair là où il n'y pas eu de croissance bactérienne (Buwa et al., 2007).

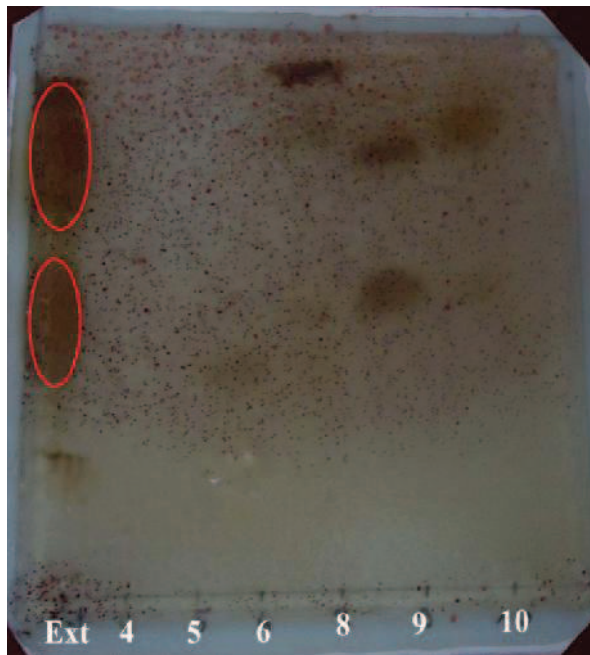
Aucune fraction chromatographiques testées n'a donné d'activité antibactérienne, sur *Staphylococcus aureus*. Ce qui nous laisse supposer que l'activité est due à un effet de synergie entre les différents composés, ou elle est attribué à une fraction non testée.

Après révélation à la vanilline, et à l'ansaldehyde, on a constaté la présence probable de la catéchine dans l'extrait aqueux du chloroforme et les fractions N°6, 7 et 10 et comme ces fractions n'ont pas donné de zone d'inhibition, alors on peut suggérer que la catéchine présente

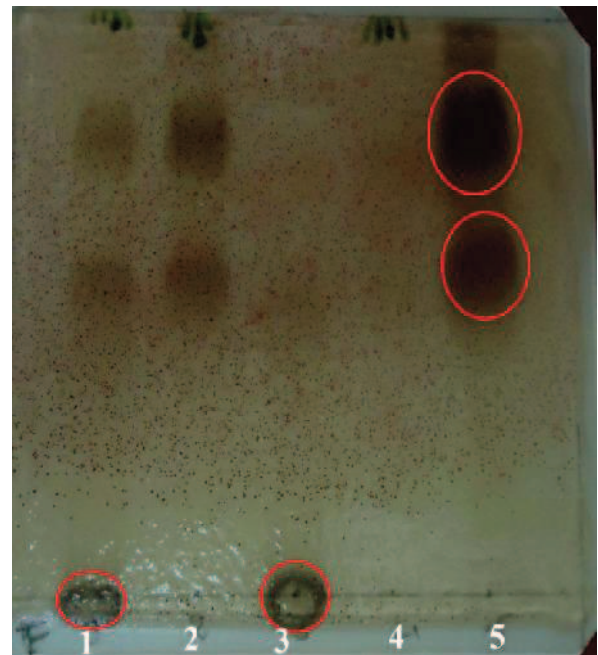


dans cet extrait ou ces fractions est issu de l'hydrolyse acide des tannins condensés présents dans *P. lentiscus*, et de ce fait les groupement responsables de l'effet antibactérien sont altérés.

### III.3.1.2. Bioautographie sur la souche *Staphylococcus aureus* NCCB 89163 des extraits et fractions chromatographique des feuilles

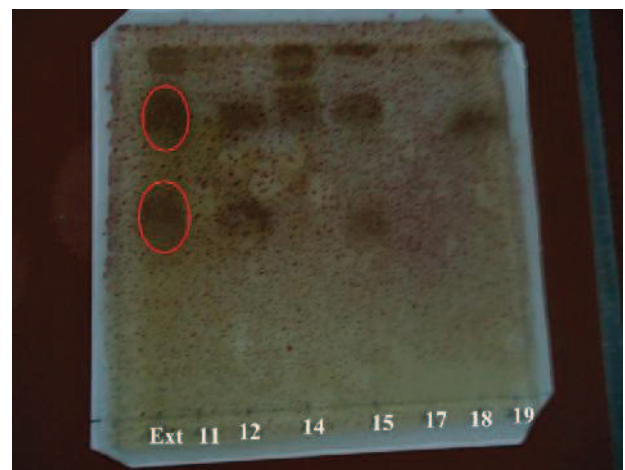


**Figure N°19:** Chromatogramme de l'extrait aqueux de chloroforme de feuilles de *Pistacia lentiscus* et ses fractions, obtenus par CCM, après culture bactérienne et révélation au INT. 4, 5, 6, 8, 9, 10 : fractions testées.



**Figure N°20:** Chromatogramme des extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* et ses fractions, obtenus par CCM, après culture bactérienne et révélation au INT. 1 : extrait éthanolique, 2 : extrait ethyl acétate, 3 : extrait aqueux d'éthyl acétate, 4 : extrait de chloroforme, 5 : extrait aqueux de chloroforme.

**Figure N°21:** Chromatogramme de l'extrait aqueux de chloroforme de feuilles de *Pistacia lentiscus* et ses fractions, obtenus par CCM, après culture bactérienne et révélation au INT. 11, 12, 14, 15, 17, 18, 19 : fractions testées.



D'après la figure N°20 l'extrait éthanolique et aqueux d'acétate éthyle ont donné chacun une seule zone d'inhibition, au niveau des dépôts, et deux zones d'inhibition au niveau de l'extrait aqueux du chloroforme.

Cette activité antibactérienne des extraits 1 et 3, sont liés aux composés de haut poids moléculaires, qui n'ont pas migré dans ce système, probablement les proanthocyanidines, rapportés par la littérature (**Romani et al., 2002**).

Par contre, la bioautographie des fractions testées, n'a démontré aucune zone d'inhibition.

D'après la révélation à la vanilline et l'ansaldehyde, la quercitine était supposée présente dans l'extrait aqueux du chloroforme et les fractions 8, 11, 14 et 19.

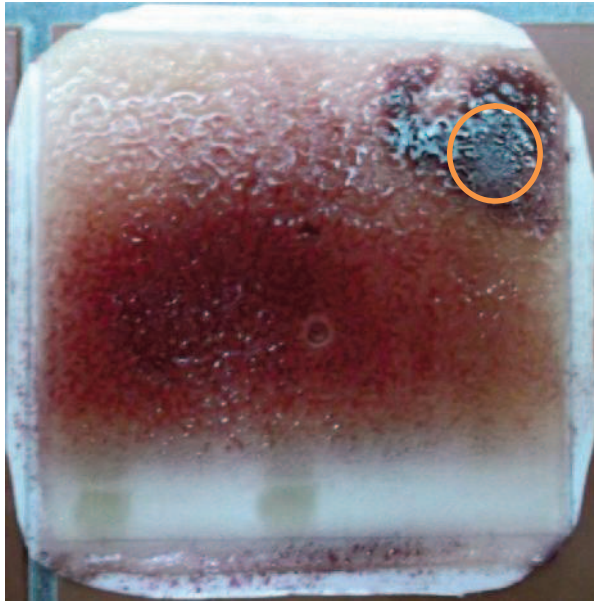
Donc les deux zones d'inhibitions pourraient être dues à la quercitine. Et comme y pas de zone d'inhibition dans ces fractions, alors elles agissent en synergie ou le composé probablement présent agit en complexe ou sous forme d'une dérivés glycosylée, ou carrément la concentration dans le spot en ce composé n'est pas suffisante pour avoir un effet antibactérien.

Benhammou et ses collaborateurs (2008), la présence de certains flavonoïdes glycosylés (Q-3G, K-3-G, My-3-G) ont conduit à une activité antibactérienne notamment contre la souche *Staphylococcus aureus* : ATCC 601.

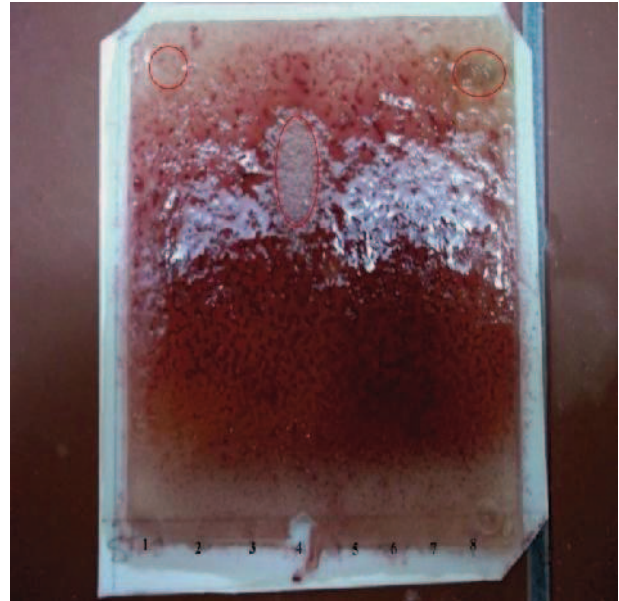
### III.3.2. Bioautographie sur la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

#### III.3.2.1. Bioautographie sur la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 des extraits et fractions chromatographique des écorces de racines

Les résultats de la bioautographie des molécules de référence, des extraits et des fractions de l'extrait aqueux du chloroforme sont indiqués dans les figures suivantes :

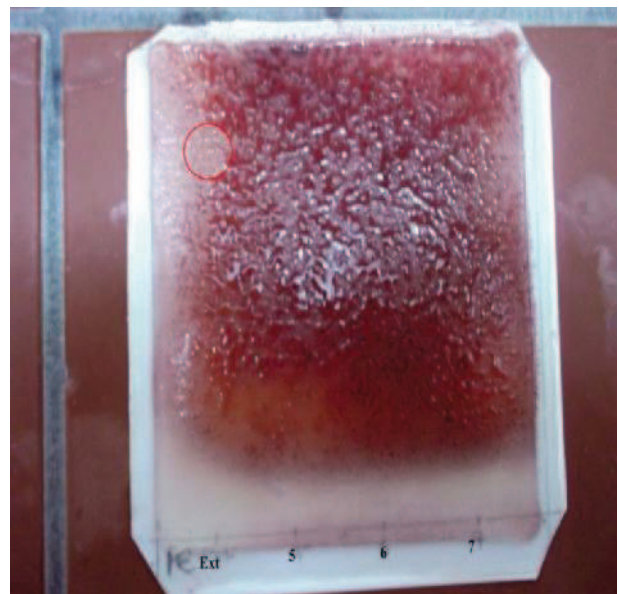


**Figure N°23:** Chromatogramme des extraits des écorces de racine de *Pistacia lentiscus*, obtenus par CCM. après culture bactérienne et révélation au INT. 1 : extrait éthanolique, 2 : extrait d'ethyl acétate, 3 : extrait d'aqueux ethyl acétate, 4 : extrait de chloroforme, 5 : extrait d'aqueuxde chloroforme.



**Figure N°22:** Chromatogramme des standards, obtenus par CCM. après culture bactérienne et révélation au INT. 1:catéchine, 2:Acide Gallique, 3:Acide Caféique, 4:Acide Tannique, 5:Acide cinnamique, 6:rutine, 7: Acide *p*-coumarique, 8: Quercitine.

**Figure N°24:** Chromatogramme de l'extrait aqueux de chloroforme des écorces de racine de *Pistacia lentiscus*, et ses fractions chromatographiques obtenus par CCM. Après culture bactérienne et révélation au INT .5, 6, 7 : fractions chromatographiques testées.



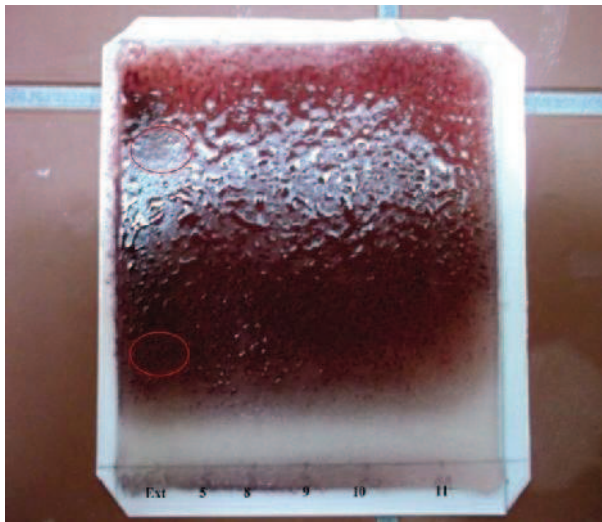
La figure N° nous donne le profil des zones d'inhibition des molécules de références, où la catéchine, l'acide tannique et la quercitine ont donné de zones d'inhibition nettes vis-à-vis de *Pseudomonas aerogenosa*.

Cette activité inhibitrice de ces molécules de références contre *Pseudomonas aerogenosa* est démontrée par les travaux de Redriguez et ses collaborateurs (2007).

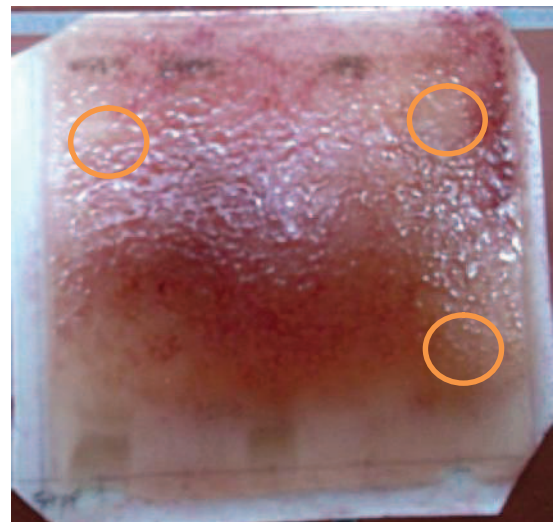
La bioautographie de l'extrait aqueux du chloroforme montre une seule zone d'inhibition, et aucune n'a été constatée au niveau des fractions testées.

Cette activité inhibitrice pourrait être liée à la présence probable de la catéchine à ce niveau, déjà observé par révélation, avec la vaniline sulfurique.

### III.3.2.2. Bioautographie sur la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 des extraits et fractions chromatographique des feuilles

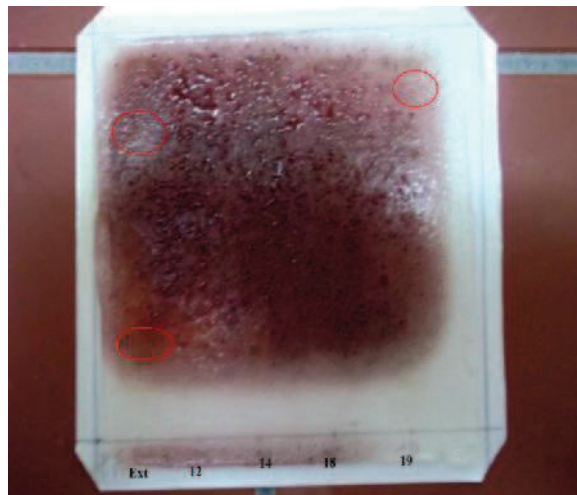


**Figure N°25:** Chromatogramme de l'extrait aqueux de chloroforme de feuilles de *Pistacia lentiscus* et ses fractions chromatographique, obtenus par CCM. Après culture bactérienne et révélation au INT 5, 8, 9, 10 et 11 fractions testées.



**Figure N°26:** Chromatogramme des extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus*, obtenus par CCM. après culture bactérienne et révélation au INT. 1 : extrait ethanologique, 2 : extrait ethyl acétate, 3 : extrait aqueux acétate ethyl, 4 : extrait de chloroforme, 5 : extrait aqueux de chloroforme.





**Figure N°27:** Chromatogramme de l'extrait aqueux de chloroforme de feuilles de *Pistacia lentiscus* et ses fractions chromatographique, obtenus par CCM. Après culture bactérienne et révélation au INT. Ext : extrait d'aqueux de chloroforme. 12, 14, 18 et 19 fractions testées.

La bioautographie contre *Pseudomonas aerogenosa* montre une zone d'inhibition au niveau de l'extrait aqueux du chloroforme, et au niveau la fraction N° 19 qui correspondrait à la quercitine, révélé par la vanilline et l'ansaldehyde, et confirmé par la figure N°.

# *Conclusion*

## Conclusion et perspectives

Ce travail a pour but d'effectuer des tests antibactérien des cinq extraits des écorces des racines et des feuilles à savoir ; éthanolique, acetate ethyle, aqueux ethyle acetate, chloroforme et aqueux de *Pistacia lentiscus* et leurs fractions chromatographiques récupérer par chromatographie sur gel sephadax LH20 par méthode de bioautographie sur *Pseudomonas aeruginosa* : ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* : NCCB 89163.

Des tests de l'activité antibactérienne des cinq (05) extraits des écorces des racines et des feuilles, ainsi que les méthanol, ont été effectuées au premier lieu sur 13 souches *Vibrio cholera* ATCC ; *Salmonella typhimurium* : NCCB 1808 ; *Shigella flexneris* : NCCB 1406 ; *Klebsella pneumonia* : E47 (résistante au quinolones) ; *Pseudomonas aeruginosa* : ATCC 27853 ; *Staphylococcus aureus* 1 (St1) : NCCB 89163, *Staphylococcus aureus* 2 (St2) : ATCC 43300 (SARM) ; *Bacillus subtilis* 1 (Bc1) : NCCB 1090, *Bacillus subtilis* 2 (Bc2) : ATCC 6633 ; *Listeria innocua* : CLIP 74915 ; *Escherichia coli* 1 (Ec1) : NCCB 1, *Escherichia coli* 2 (Ec2) : NAR, *Escherichia coli* 3 (Ec3) : ATCC 25922, par la méthode de diffusion sur disque, a une concentration de 100µg/ disque. Des zones d'inhibition des diamètres variables ont été observées.

L'évaluation quantitative de l'activité antibactérienne de ces tests montre que l'extrais aqueux de chloroforme des deux partie de la plante a montré un bon spectre d'activités sur plusieurs souches.

Par la suit une étude phytochimique de l'extrait aqueux chloroforme des écorces des racines et des feuilles de *Pistacia lentiscus* et ces fractions chromatographiques ont été effectuées, et cela par séparation des extraits par chromatographie sur couche mince. Les plaques CCM obtenues sont ensuit révélées à la vanilline sulfuriques et à l'ansaldihyde.

La comparaison des résultats obtenu par rapport aux molécules de référence testées nous laisse supposer la présence de deux substances dans l'extrait aqueux chloroforme des écorces des racines et des feuilles de *Pistacia lentiscus* et certaines de ces fractions chromatographiques, a savoir la catéchine et la quercitine, qui sont responsable de l'activité antibactérienne. Comme il a été rapporté par la bibliographie.

En fin une étude des activités antibactérienne des extraits des écorces des racines et des feuilles de *Pistacia lentiscus* et les fractions chromatographiques de l'extrait aqueux du chloroforme des parties de la plante a été effectué par la méthode de bioautographie ; une méthode qui consiste à caractérisé la substance responsable de l'activité inhibitrice dans les extraits ou les fractions chromatographiques.

Les zones d'inhibition montrées par la bioautographie sur les deux souches *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* NCCB 89163 sont liées à la présence probable de la catéchine et de la quercétine. Comme il a été suggéré dans l'étude phytochimique.

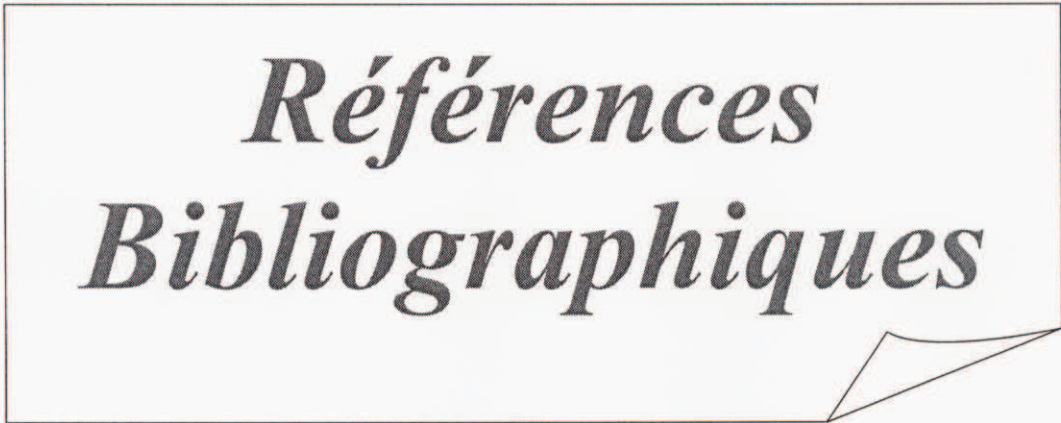
Nous pouvons donc conclure que la présence probable de la catéchine et de la quercétine dans l'extrait aqueux chloroforme des écorces des racines et des feuilles de *Pistacia lentiscus* et certaines de ses fractions chromatographiques est le responsable sur l'activité antibactérienne.

Les résultats obtenus dans ce travail méritent d'être affinés, il serait intéressant :

- De déterminer l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux chloroforme des écorces des racines et des feuilles de *Pistacia lentiscus* et tous ses fractions chromatographiques par bioautographie sur plusieurs autres souches non testées.
- De récupérer les substances actives et de les caractériser.
- De déterminer les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides de ces substances caractérisées.
- De déterminer le spectre d'action de ces substances et de tester leurs activités et toxicité *in vivo*.
- De faire une étude pharmacologique sur ces substances dans le but de mettre en place des traitements naturels de maladies infectieuses mieux tolérés et moins onéreux.



*Références  
Bibliographiques*



### A

**Abdel Monein, E. ; Sulieman, Issat, F. M. ; Elamin, A. E. (2007).** Quantitative determination of tannin content in some sorghum cultivars and evaluation of its antimicrobial activity. *Research Journal of Microbiology* 2(3) : 285.

**Abdelwahed, A.; Bouhlel, I.; Skandrani, I.; Valenti, K.; Kadri, M.; Guiraud, P.; Steiman, R.; Mariotte, A.M.; Ghedira, K.; Laporte, L.; Dijoux-Franca, M. G.; Chekir-Ghedira, L. (2007).** Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1,2,3,4,6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus* Confirmation by microarray expression profiling. *Chemico-Biological Interactions* 165: 1–13.

**Ahmad, I. ; Beg, A. Z. (2001).** Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human Pathogens. *Journal of Ethnopharmacology* 74 : 113–123.

**Ahmadi Afzadi, M. ; Sayed Tabatabei, B.A. ; Abolghasem Mohammadi, S. ; Tajabadipur, A. (2007).** Comparison of genetic diversity in species and cultivars of pistashio (*Pistacia* sp. L.)based on Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) markers. *Iranian Journal of Biotechnology*, 5(3) : 147-153.

**Aidi Wannes, W. ; Mhamdi, B. ; Marzouk, B. (2009).** Variations in essential oil and fatty acid composition during *Myrtus communis* var. *italica* fruit maturation. *Food Chemistry* 112 : 621–626.

**Akroum, S. ; Bendjeddou, D. ; Satta, D. ; Lalaou, K. (2009).** Antibacterial Activity And Acute Toxicity Effect of Flavonoids Extracted From *Mentha longifolia*. *American-Eurasian Journal of Scientific Research* 4 (2): 93-96.

**Alcaraz, L. E.; Blanco, S. E. ; Puig, O. N. ; Tomas, F. et Ferretti, F. H. (2000).** Antibacterial activity of flavonoids against méthicillin-resistant *Staphylococcus aureus* stains. *Journal of Theoretical Biology*, 205: 231-240.

**Al-Saghir, M. G. (2010).** Phylogenetic analysis of the genus *Pistacia* L. (Anacardiaceae) based on morphological data. *Asia Journal of Plant Sciences*,9 (1) : 28-35.

**Amarowicz, R. ; Dykes, G.A. ; Pegg, R.B. (2008).** Antibacterial activity of tannin constituents from *Phaseolus vulgaris*, *Fagopyrum esculentum*, *Corylus avellana* and *Juglans nigra*. *Fitoterapia* 79 : 217–219.

**Ammar, H. ; L'opez, S. ; Gonzalez, J.S. (2005).** Assessment of the digestibility of some Mediterranean shrubs by in vitro techniques. *Animal Feed Science and Technology* 119 : 323–331.

## Références bibliographiques

---

**Assimopoulou, A.N. ; Zlatanov, S.N. ; Papageorgiou, V.P. (2005).** Antioxidant activity of natural resins and bioactive triterpenes in oil substrates. *Food Chemistry* 92 : 721–727.

**Ayepola, O. O. ; Adeniyi, B. A. ; (2008).** The antibacterial activity of leaf extracts of *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae). *Journal of Applied Sciences Research* 4(11) : 11-14.

**Azaizeh, H. ; Abbas, N. ; Markovics, A. ; Muklada, H. ; Landau, S. (2010).** Pistacia lentiscus extracts as biological products to control gastro-intestinal nematodes. *Special Abstracts / Journal of Biotechnology* 150S : S1–S576.

### B

**Baba-Aissa, F. (1999).** Encyclopédie des plantes utiles, *Flore d'Algérie et du Maghreb*, p : 1-218.

**Bachrouch, O. ; Mediouni-Ben Jemâa, J. ; Chaieb, I. ; Talou, T. ; Marzouk, B. ; Abderraba, M. (2010).** Insecticidal activity of *Pistacia lentiscus* essential oil on *Tribolium castaneum* as alternative to chemical control in storage. *Tunisian Journal of Plant Protection* 5: 63-70.

**Bachrouch, O. ; Mediouni-Ben Jemâa, J. ; Wissem, A.W. ; Talou, T. ; Marzouk, B. ; Abderraba, M. (2010a).** Composition and insecticidal activity of essential oil from *Pistacia lentiscus* L. against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Stored Products Research* 46 : 242-247.

**Bag, A. ; Bhattacharyya, S.K. ; Pal, N.K. ; Chattopadhyay, R.R. (2012).** In vitro antibacterial potential of *Eugenia jambolana* seed extracts against multidrug-resistant human bacterial pathogens. *Microbiological Research* xxx : xxx– xxx.

**Bakkali, F. ; Averbeck, S. ; Averbeck, D. ; Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology* 46 : 446–475.

**Balana, K.V. ; Princea, J. ; Hana, Z. ; Dimasb, K. ; Cladarasc, M. ; Wychea, J.H. ; Sitarasd, N.M. ; Pantazisa, P. (2007).** Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated in vitro with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus* L. var. chia. *Phytomedicine* 14 : 263–272.

**Bellomo, M.G. ; Fallico, B. (2007).** Anthocyanins, chlorophylls and xanthophylls in  
**Benhammou, N. ; Bekkara, F .A. ; Panovska, T.K. (2008).** Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* Vol. 2(2). pp. 022-028.

## Références bibliographiques

---

**Benoît Bock.** Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France. **Tela Botanica.** <http://www.tela-botanica.org>.

**Bhourri, W. ; Derbel, S. ; Skandrani, I. ; Boubaker, J. ; Bouhlel, I. ; Sghaier, M.B. ; Kilani, S. ; Mariotte, A.M. ; Dijoux-Franca, M.G. ; Ghedira, K. ; Ghedira, L. C. (2010).** Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Toxicology in Vitro* 24 : 509–515.

**Biyiti, L. F. ; Mekoo, D. J. L. ; Tamzc, V. et Zollo, P. H. A. (2004).** Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales Camerounaises. *Pharm. Méd. Tard. Afr.* 13 :11-20.

**Brown, E.D.; Wright, G.D.** *Chemical Reviews. American Chemical Society, 2005.*

**Buwa, L.V. ; Van Staden, J. (2007).** Effects of collection time on the antimicrobial activities of Harpephyllum caffrum bark. *South African Journal of Botany* 73 : 242–247

## C

**Caravaca, F. ; Barea, J. M. ; Roldan, A.(2002).** Synergistic influence of an arbuscular mycorrhizal fungus and organic amendment on *Pistacia lentiscus* L. seedlings afforested in a degraded semiarid soil. *Soil Biology Biochemistry* 34: 1139-1145.

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

**Chakar, F. S. ; Ragauskas, A. J. (2004).** Review of current and future softwood kraft lignin process chemistry. *Industrial Crops and Products* 20 : 131–141.

**Chanwitheesuk, A. ; Teerawutgulrag, A. ; Kilburn, J.D. ; Rakariyatham, N. (2007).** Antimicrobial gallic acid from *Caesalpinia mimosoides* Lamk. *Food Chemistry* 100 : 1044-1048.

**Cheynier, VV. ; Souquet, J.M. ; Fulcrand, H. ; Sarni, P. ; Moutounet, M. (1998).** STABILISATION TANINS – ANTHOCYANES DONNEES GENERALES. Extrait de « Les composés phénoliques » Journée Technique (compte-rendu). Date de publication : 8 juillet 1998.

**Chryssavgi, G. ;Vassiliki, P. ; Athanasios, M. ; Kibouris,T. ; Michael, K. (2008).** Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry* 107: 1120–1130.

**Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.(2004).** Antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

## Références bibliographiques

---

**Cortina, J. ; Green, J.J. ; Baddeley, J.A. ; Watson, C.A. (2008).** Root morphology and water transport of *Pistacia lentiscus* seedlings under contrasting water supply: A test of the pipe stem theory. *Environmental and Experimental Botany* 62 : 343–350.

**Cottiglia, F. ; Loy, G. ; Garau, D. ; Floris, C. ; Casu, M. ; Pompei, R. ; Bonsignore, L. (2001).** Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne gnidium* L. *Phytomedicine*, Vol. 8(4), pp. 302–305.

**COWAN, M. M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, p. 564–582.

### D

**Decandia, M. ; Sitzia, M. ; Cabiddu, A. ; Kababya, D. ; Molle, G. (2000).** The use of polyethylene glycol to reduce the anti-nutritional effects of tannins in goats fed woody species. *Small Ruminant Research* 38: 157-164.

**Dedoussis, G. V. Z. ; Kaliora, A. C. ; Psarras, S. ; Chiou, A. ; Mylona, A. ; Papadopoulos, N. G. ; Andrikopoulos, N. K. ( 2004).** Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis* 174: 293–303.

**Delaquis, P. J. ; Stanich, K. ; Girard, B. ; Mazza, G. (2002).** Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology* 74 : 101– 109.

**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.

**DJENANE D. ; YANGÜELA J. ; RONCALES P.** Activité antilisteria de *Pistacia lentiscus* et *Satureja montana* appliquées sur la viande : efficacité et potentiel synergétique. 13e JSMTV.

**Dosumu, O. ; Nwosu, F. O. ; Nwogu, C. D. (2006).** Antimicrobial studies and phytochemical screening of extracts of *Hyphaene thebaica* (Linn) mart fruits. *International Journal of Tropical Medecin* 1(4). *Medwell Journals* : 187.

**Duru, M.E. ; Cakir, A. ; Kordali, S. ; Zengin, H. ; Harmandar, M. ; Izumi, S. ; Hirata, T. (2003).** Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species. *Fitoterapia* 74: 170–176.

**DUVAL, J.; SOUSSY, C.J. (1990).** Antibiothérapie, 4e édition, *MASSON*, p11-12.

### F

**Fabrocini, V. C. 1999.** Comment se soigner avec l'aromathérapie. Editions De vicchi S. A. Paris. P. 7.

**Flexas, J.; Gulías, J.; Jonasson, S.; Medrano, H.; Mus, M. (2001).** Seasonal patterns and control of gas exchange in local populations of the Mediterranean evergreen shrub *Pistacia lentiscus* L. *Acta Oecologica* 22: 33–43.

### G

**Garnier, G. ; Bézanger-Beauquesne, L. et Debraux, G. (1961).** Ressources médicinales de la flore française. *Edition, Vigot Frères Editeurs, p : 665-666.*

**Gasmi-Boubaker, A. ; Kayouli, C. ; Buldgen, A. (2005).** In vitro gas production and its relation ship to in situ disappearance and chemical composition of some Mediterranean browse species. *Animal Feed Science and Technology* 123–124 : 303–311.

**Gourine, N. ; Yousfi, M. ; Bombarda, I. ; Nadjemi, B. ; Stocker, P. ; Gaydou, E.M. (2010).** Antioxidant activities and chemical composition of essential oil of *Pistacia atlantica* from Algeria. *Industrial Crops and Products* 31 : 203–208.

**Green, J.J. ; Baddeley, J.A. ; Cortina, J. ; Watson, C.A. (2005).** Root development in the Mediterranean shrub *Pistacia lentiscus* as affected by Nursery treatments. *Journal of Arid Environments* 61 : 1–12.

**Guignard J.L. 1996.** Abrégé de biochimie végétale, Ed. *Masson*, Paris, p 160.

**GUTIERREZ-LUG, M.T. ; BARRIENTOS-BENfTEZ, T. ; LUNA, B. ; RAMIREZ-GAMA, R. M. ; BYE, R. ; LINARES, E. ; MATA, R. (1996).** Antimicrobial and cytotoxic activities of some crude drug extracts from Mexican Medicinal Plants. *Phytomedicine* Vol. 2 (4), pp. 341-347.

### H

**Hamlat N. et Hassani A. 2008.** Analyse des flavonoïdes présents dans les feuilles du lentisque par les méthodes chromatographiques. *XI<sup>es</sup> Journées Scientifiques du réseau « Biotechnologies végétales amélioration des plantes et sécurité alimentaire » de l'Agence Universitaire de la Francophonie.*

## Références bibliographiques

---

**Hincha, D.K.(2008).** Effects of  $\alpha$ -tocopherol (vitamin E) on the stability and lipid dynamics of model membranes mimicking the lipid composition of plant chloroplast membranes. *FEBS Letters* 582 : 3687–3692.

### J

**J.P. Lavigne** 3 Faculté de Médecine Montpellier -Nîmes, Janvier 2007.

**Janakat, S. ; Al-Merie, H. (2002).** Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*. *Journal of Ethnopharmacology* 83 :135-138.

**Jutiviboonsuk, A. ; Zhang, H. ;Teng Tan, G.Ma, C. ; Van Hung, N. ; Manh Cuong, N. ;Bunyapraphatsara, N. ; Soejarto, D.D. ; Fong, H.H.S. (2005).** Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*. *Phytochemistry* 66 : 2745–2751.

### K

**Kanko, C. ; Sawaliho, B.E. H. ; Kone, S. Koukoua, G. ; N'Guessan , Y. T. (2004).** Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*. *C. R. Chimie* 7 : 1039–1042.

**Kawashty, S.A. ; Mosharrafa, S.A.M. ; El-Gibali, M. ; Saleh, N.A.M. (2000).** The flavonoids of four *Pistacia* species in Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology* 28 :915-917.

**Keita, Y. ; Koné, O.; Ly, K. A. et Häkkinen V. (2004).** Etude chimique et de l'activité antibactérienne des distillats de quelques variétés de mangues de Guinée. *Comptes rendus Chimie*, 7 : 1095-1100.

**Khanbabaee, K. ; Van Ree, T. (2001).** Tannins: Classification and Definition. *Nat. Prod. Rep.* 18, 641–649.

**Kivçak, B. ; Akay, S. (2005).** Quantitative determination of  $\alpha$ -tocopherol in *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. *chia*, and *Pistacia terebinthus* by TLC-densitometry and colorimetry. *Fitoterapia* 76: 62–66.

**KONE, S. (2001).** Extraction des huiles essentielles par distillation. Gate Information Service.

**Kordali, S. ; Cakir, A. ; Zengin H. ; Duru, M.E. (2003).** Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey. *Fitoterapia* 74 :164–167.



## Références bibliographiques

---

**Krishnaiah, D. ; Sarbatly, R. ; Nithyanandam, R. (2011).** A review of the antioxidant potential of medicinal plant Species. *Food and Bioproducts Processing* 89: 217–233.

**Kuete, V. ; Metuno, R. ; Ngameni, B. ; Mbaveng, A.T. ; Ngandeu, F. ; Bezabih, M. ; Etoa, F.X. ; Ngadjui, B.T. ; Abegaz, B.M. ; Beng, V.P. (2008).** Antimicrobial activity of the methanolic extracts and compounds from *Treulia africana* and *Treulia acuminata* (Moraceae). *South African Journal of Botany* 74 : 111–115.

**Kunle, O. ; Okogun, J. ; Egamana, E. ; Emojevwe, E. ; Shok, M. (2003).** Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. *Phytomedicine* 10: 59–61.

### L

**Landau, S. ; Azaizeh, H. ; Muklada, H. ; Glasser, T. ; Ungar, E.D. ; Baram, H. ; Abbas, N. ; 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 : 280–286.

**Lansky, E. P. ; Newman, R. A. (2007).** Review. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology* 109 : 177–206.

**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.

**Lev, E. ; Amar, Z. (2002).** Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in the Kingdom of Jordan. *Journal of Ethnopharmacology* 82 : 131- 145.

**Lin, Y.T. ; Vattem, D. ; Labbe, R.G. ; Shetty, K. (2005).** Enhancement of antioxidant activity and inhibition of *Helicobacter pylori* by phenolic phytochemical-enriched alcoholic beverages. *Process Biochemistry* 40 : 2059–2065.

**Ljubuncic, P. ; Azaizeh, H. ; Portnaya, I. ; Cogan, U. ; Said, O. ; Abu Saleh, K. ; Bomzon, A.(2005).** Antioxidant activity and cytotoxicity of eight plants used in traditional Arab medicine in Israel. *Journal of Ethnopharmacology* 99 : 43–47 .

**Ljubuncic, P. ; Song, H. ; Cogan, U. ; Azaizeh, H. ; Bomzon, A. (2005).** The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease. *Journal of Ethnopharmacology* 100 : 198–204.



## Références bibliographiques

---

**Longo, L. ; Scardino, A. ; Vasapollo, G. (2007).** Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L. and *Rubia peregrina* L. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 8 : 360–364.

**Longo, L. ; Vasapollo, G. (2006).** Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries. *Food Chemistry* 94 : 226–231.

**Lozniewski A.; Rabaud C. (2010).** Resistance bacterienne aux antibiotiques infections associées aux soins.

## M

**Medizin ; Gesundheit; Malteser.** Documents de l'industrie pharmaceutique. Larousse médicale, 1995. Ed. 2007.

**Markovics, A. ; Cohen, I. ; Muklada, H. ; Glasser, T.A. ; Dvash, L. ; Ungar, E.D. ; Azaizeh, H. ; Landau, S.Y. (2011).** Consumption of *Pistacia lentiscus* foliage alleviates coccidiosis in young goats. *Veterinary Parasitology* xxx : xxx– xxx.

**Marnier, F. J. ; Freyer, A. ; Lex, J. (1991).** Triterpenoids from gum mastic, the resin of *Pistacia lentiscus*. *Phytochemistry*, vol. 30, No. 11, pp. 3709-3712.

**Marrassini, C. ; Davicino, R. ; Acevedo, C. ; Anesini, C. ; Gorzalczany, S. ; Ferraro, G. (2011).** Vicenin-2 a flavonoid glycoside. *J. Nat. Prod.* 2011, 74 (6), pp 1503–1507.

**Mc Sweeney, C. S. ; Palmer, B. ; Mc Neill, D. M. ; Krause, D.O. (2001).** Microbial interactions with tannins : nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 91 : 83-93.

**Monaco, P. ; Caputo, R. ; Palumbo, G. ; Mangoni, L. (1973).** Triterpenes from the galls of *Pistacia lentiscus*. *Phytochemistry*, vol. 12, pp. 2534 to 2537.

**Montserrat-Martí, G.; Pérez-Rontomé, C. (2002).** Fruit growth dynamics and their effects on the phenological pattern of native *Pistacia* populations in NE Spain. *Flora* 197 : 161–174.

**Moreno-Jiménez, E. ; Esteban, E. ; Carpena-Ruiz, R.O. ; Penalosa, J.M. (2009).** Arsenic-andmercury-induced phytotoxicity in the Mediterranean shrubs *Pistacia lentiscus* and *Tamarix gallica* grown in hydroponic culture. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72 : 1781–1789.

**Muhammad, A. ; Rahman, Md.S. ; Kabir, ANM. H. ; Kabir, S. ; Hossain, Md. K. (2011).** Antibacterial and cytotoxic activites of *Spondias pinnata* (Linn. f.) Kurz fruit extract. *Indian Journal of Natural Porducts and Resources*. Vol. 2(2), pp 265-267.

### N

**Nenaah, G. (2010).** Antibacterial and antifungal activities of (beta)-carboline alkaloids of *Peganum harmala* (L) seeds and their combination effects. *Fitoterapia* 81 : 779–782.

**Nikiforou, C. ; Manetas, Y. (2010).** Strength of winter leaf redness as an indicator of stress vulnerable individuals in *Pistacia lentiscus*. *Flora* 205: 424–427.

### O

**Orhan, I. ; Küpeli, E. ; Aslan, M. ; Kartal, M. ; Yesilada, E. (2006).** Bioassay-guided evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of pistachio, *Pistacia vera* L. *Journal of Ethnopharmacology* 105 : 235–240.

**Ozçelik, B. ; Aslan, M. ; Orhan, I. ; Karaoglu, T. (2005).** Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of the lipophylic extracts of *Pistacia vera*. *Microbiological Research* 160 : 159-164.

**Ozden-Tokatli, Y. ; Akdemir, H. ; Tilkat, E. ; Onay, A. (2010).** Research review paper. Current status and conservation of *Pistacia* germplasm. *Biotechnology Advances* 28: 130-141.

### P

**Palacio, S. ; Milla, R. ; Montserrat-Marti, G. (2005).** A phenological hypothesis on the thermophilous distribution of *Pistacia lentiscus* L. *Flora* 200 : 527–534.

**Papanastasis, V.P. ; Yiakoulaki, M.D. ; Decandia, M. ; Dini-Papanastasi, O. (2008).** Review. Integrating woody species into livestock feeding in the Mediterranean areas of Europe. *Animal Feed Science and Technology* 140 : 1–17.

**Penna, C. ; Marino, S. ; Vivot, E. ; Cruanes, M.C. ; Munoz, J. D. ; Cruanes, J. ; Ferraro, G. ; Gutkind, G. ; Martino, V. (2001).** Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. *Journal of Ethnopharmacology* 77 : 37–40.

**Pennacchio, M. ; Kemp, A. S. ; Taylor, R. P ; Wickens, K. M. ; Kienow, L. (2005).** Interesting biological activities from plants traditionally used by Native Australians. *Journal of Ethnopharmacology* 96 : 597–601.

**Pietta, P. G.( 2000).** Reviews. Flavonoids as Antioxidants. *J. Nat. Prod.*, 63, 1035-1042.

## Références bibliographiques

---

pistachio nuts (*Pistacia vera*) of different geographic origin. *Journal of Food Composition and Analysis* 20 :352–359.

**Pouteau, C. ; Dole, P. ; Cathala, B. ; Averous, L. ; Boquillon, N. (2003).** Antioxidant properties of lignin in polypropylene. *Polymer Degradation and Stability* 81: 9-18.

### R

**Rangasamy, O. ; Raelison, G. ; Rakotoniriana, F.E. ; Cheuk, K. ; Urverg-Ratsimamanga, K. ; Quetin-Leclercq, J. ; Gurib-Fakim, A. ; Subratty, A.H. (2007).** Screening for anti-infective properties of several medicinal plants of the Mauritian flora. *Journal of Ethnopharmacology* 109 : 331–337.

**Reddy, L. ; Odhav, B. ; Bhoola, K.D. (2003).** Natural products for cancer prevention: a global perspective. *Pharmacology & Therapeutics* 99 : 1– 13.

**Regnault. (2002).** Eléments de microbiologie et de l'immunologie. *Decarie Canada*, 601pp.

**Rijke, E. ; Out, P. ; Niessen, W. M. A. ; Ariese, F. ; Gooijer, C. ; Brinkman, U. A. Th. (2006).** Review. Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, xxx : xxx–xxx.

**Rios, J.L. ; Recio, M.C. (2005).** Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 100 : 80–84.

**Rivero-Cruz, J. F. (2008).** Antimicrobial compounds isolated from *Haematoxylon brasiletto*. *Journal of Ethnopharmacology* 119 : 99–103.

**Rodriguez-Vaquero , M. J. ; Alberto, M. R. et Manca de Nadra, M. C. (2007).** Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food control*, 18 : 93 - 101.

**Romani, A. ; Pinelli, P. ; Galardi, C. ; Mulinacci, N. ; Tattini, M. (2002).** Identification and Quantification of Galloyl Derivatives, Flavonoid Glycosides and Anthocyanins in Leaves of *Pistacia lentiscus* L. *PHYTOCHEMICAL ANALYSIS* 13, 79–86.

### S

**Samy, R. P. ; Gopalakrishnakone, P. (2008).** Therapeutic Potential of Plants as Antimicrobials for Drug Discovery, *Ed CAM*.

**Sanchez-Medina, A. ; García-Sosa, K. ; May-Pat, F. ; Peña-Rodríguez, L. M. (2001).** Evaluation of biological activity of crude extracts from plants used in Yucatecan

## Références bibliographiques

---

Traditional Medicine Part I. Antioxidant, antimicrobial and  $\beta$ -glucosidase inhibition activities. *Phytomedicine*, Vol. 8(2), pp. 144–151.

**Schmourlo, G. ; Mendonça-Filho, R.R. ; Alviano, C.S. ; Costa, S.S. (2005).** Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. *Journal of Ethnopharmacology* 96 : 563-568.

**Schofield, P. ; Mbugua, D.M. ; Pell, A.N.(2001).** Analysis of condensed tannins : a review. *Animal Feed Science and Technology* 91 : 21-40.

**Seigue Alexander. (1985).** La Forêt Circumméditerranéenne et ses Problèmes, Maisonneuve et Larose, pp 22- 27, pp 137 – 139.

**Shah, A.; Cross, R.F.; Palombo, E. Phytotherapy Research. 2004,18,** 615-618.

**Sharma, O. P. ; Bhat, T. K. ; Singh, B. (1998).** Thin-layer chromatography of gallic acid, methyl gallate, pyrogallol, phloroglucinol, catechol, resorcinol, hydroquinone, catechin, epicatechin, cinnamic acid, p-coumaric acid, ferulic acid and tannic acid. *Journal of Chromatography A* 822 : 167-171.

**Silanikove, N. ;Perevolotsky, A. ; Provenza, F. D. (2001).** Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 91: 69-81.

## T

**Teffo, L.S. ; Aderogba, M.A. ; Eloff, J.N. (2010).** Antibacterial and antioxidant activities of four kaempferol methyl ethers isolated from *Dodonaea viscosa* Jacq. var. *angustifolia* leaf extracts. *South African Journal of Botany* 76 : 25–29.

**Tejado, A. ; Pena, C. ; Labidi, J. ; Echeverria, J.M. ; Mondragon, I. (2007).** Physico-chemical characterization of lignins from different sources for use in phenol–formaldehyde resin synthesis. *Bioresource Technology* 98 : 1655–1663.

**Tepe, B. ; Askin Akpulat, H. ; Sokmen, M. ; Daferera, D. ; Yumrutas, O. ; Aydin, E. ; Polissiou, M. ; Sokmen, A. (2006).** Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of *Pimpinella anisetum* and *Pimpinella flabellifolia* from Turkey. *Food Chemistry* 97 : 719–724.

**Tim Cushnie, T. P. ; Vivienne, E. ; Hamilton, S. ; Andrew J. L. (2003).** Assessment of the antibacterial activity of selected flavonoids and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiol. Res.* 158, 281–289.

## Références bibliographiques

---

**Topçu, G. ; Ay, M. ; Bilici, A. ; Sarikürkcü, C. ; Öztürk, M. ; Ulubelen, A. (2007).** A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry* 103 : 816-822.

**Trabelsi, H. ; Cherif, O. A. ; Sakouhi, F. ; Villeneuve, P. ; Renaud, J. ; Barouh, N. ; Boukhchina, S. ; Mayer, P. (2012).** Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. *Food Chemistry* 131 : 434–440.

### W

**Wang, X. ; Quinn, P. J. (2006).** The structure and phase behaviour of  $\alpha$  -tocopherol-rich domains in 1-palmitoyl-2-oleoyl-phosphatidylethanolamine. *Biochimie* 88 : 1883-1888.

### Y

**Yala D., Merad A.S., Mohamedi D. et Ouarkorich M.N. (2001).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Medecine de Maghreb*. **91** : 6-12.

**Yıldırım, H. (2012).** Micropropagation of *Pistacia lentiscus* L. from axenic seedling-derived explants. *Scientia Horticulturae* 137 : 29–35.

**Youk, H.; Oudenaarden, A. V. (2010).** Microbiology: Altruistic defence. *Nature*, no 467, p. 34-35.

**Yousfi, H. ; Tahri, El, H. ; El Amrani, A. ; Serghini Caid, H. (2006).** Etude de l'effet antioxydant des anthocyanes de l'Olive, du Raisin rouge, du Chou rouge et de la Fraise. *Biochimie, substances naturelles et environnement. Congrès international de biochimie . Agadir, 09-12 Mai 2006.*

### Z

**Zhang, J. ; Shen, Q. ; Lu, J. C. ; Li, J. Y. ; Liu, W. Y. ; Yang, J. J. ; Li, J. ; Xiao, K. (2010).** Phenolic compounds from the leaves of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Ijinskaja and their inhibitory activity against PTP1B. *Food Chemistry* 119 : 1491–1496.

# *Annexes*

### **Annexe I** : Préparation de la solution Mc Farland

Préparer l'étalon 0,5 Mc Farland, en versant 0,5ml d'une solution de Ba Cl<sub>2</sub> dihydraté à 1% (10g/l), dans une éprouvette de 100ml. Compléter à 100ml avec du H<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> à 1% (10ml/l). Ainsi préparé, il doit avoir une D.O. de 0,08 à 0,1 lue à 625 nm.

Aliquoter la solution en volumes de 10ml, dans des tubes identiques à ceux qui serviront à la préparation des inoculum (le nombre d'aliquotes sera fonction du nombre de manipulateurs).

Sceller ces tubes de façon à éviter toute évaporation (parafilm, ruban adhésif).

Repérer le niveau du liquide à l'aide d'un marqueur, et le contrôler régulièrement en prenant la densité optique.

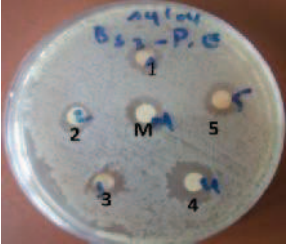

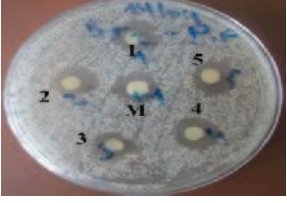
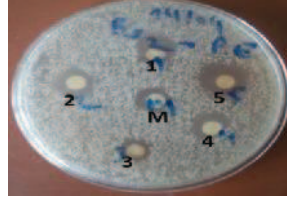
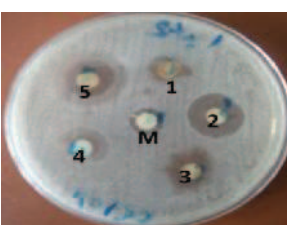
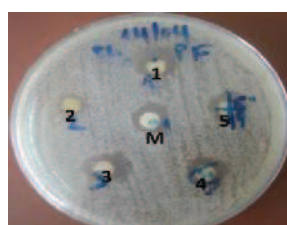
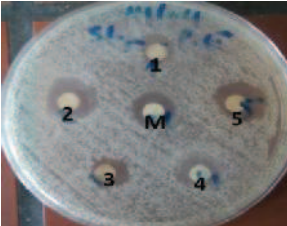
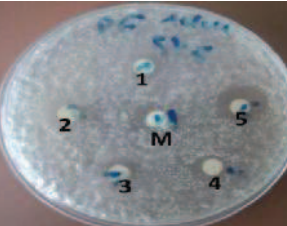



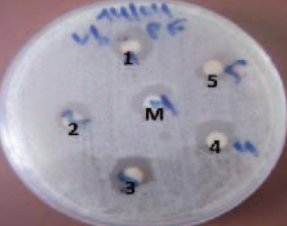
Conserver les tubes à température ambiante et à l'abri de la lumière (papier aluminium).

Homogénéiser le tube étalon avant de le comparer à l'inoculum préparé : inoculum et étalon doivent avoir la même turbidité lorsqu'ils sont examinés sur un fond rayé.





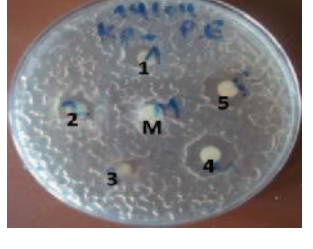

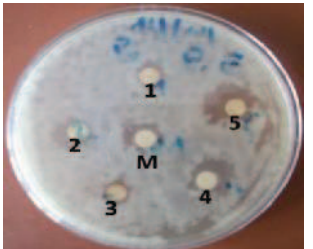
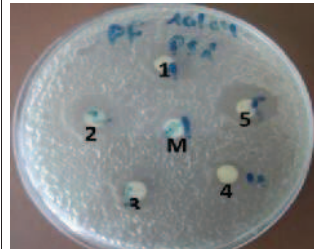
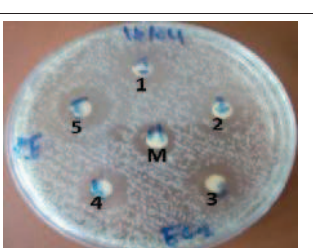
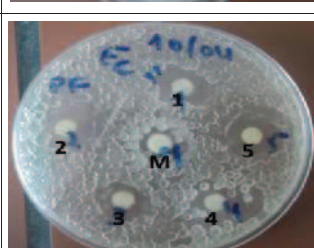


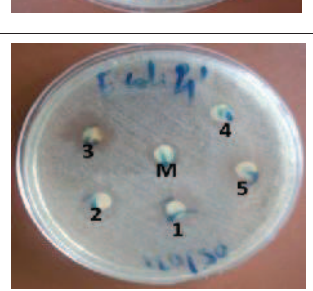



**Annexe II : Activité antibactérienne des extraits.**

**1 : Extrait éthanolique ; 2 : Extrait d'acétate ethyl ; 3 : Extrait aqueux acétate ethyl ; 4 : Extrait de chloroforme ; 5 : Extrait aqueux de chloroforme ; M : Méthanol.**

Souches	Extraits des écorces des racines de <i>Pistacia lentiscus</i>	Extraits de feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i>
<i>Bacillus subtilis</i> 2 (Bc2) : ATCC 6633		
<i>Bacillus subtilis</i> 1 (Bc1) : NCCB 1090		
<i>Staphylococcus aureus</i> 1 (St1) : NCCB 89163		
<i>Staphylococcus aureus</i> 2 (St2) : ATCC 43300 (SARM).		
<i>Listeria innocua</i> : CLIP 74915		
<i>Vibrio cholerea</i> : ATCC		



<p><i>Salmonella typhimurium</i> : NCCB 1808</p>		
<p><i>Shigella flexneris</i> : NCCB 1406</p>		
<p><i>Klebsiella pneumoniae</i> : E47 (résistante au quinolones)</p>		
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> : ATCC 27853</p>		
<p><i>Escherichia coli</i> 1 (Ec1) : NCCB 1</p>		
<p><i>Escherichia coli</i> 2 (Ec2) : NAR</p>		
<p><i>Escherichia coli</i> 3 (Ec3) : ATCC 25922</p>		



**Annexe III** : la préparation et Le mécanisme de la réaction des révélateurs utilisés.

❖ **Vanilline sulfurique**

C'est un réactif à spectre large qui permet la détection des terpenoïdes, des dérivés de type phenylpropane et des phénols. Elle est obtenue à partir du mélange (v/v) d'une solution éthanolique d'acide sulfurique et d'une solution éthanolique de vanilline à 1%. Les deux solutions sont préparées comme suit :

Solution I : mélanger à volume égal de l'éthanol à 96% et de l'acide sulfurique concentré. Solution II : dissoudre 1g de vanilline dans de l'acide sulfurique à 96%.

La solution de pulvérisation est obtenue en effectuant un mélange à volume égal de la solution I et de la solution II. Après pulvérisation, la plaque est chauffée à 105 °C pendant une dizaine de minutes avant observation des taches obtenues.

❖ **L'anisaldéhyde**

Ce réactif est préparé comme suit :

- mélanger 0,5 ml d'anisaldéhyde (4-méthoxybenzaldéhyde) avec 10 ml d'acide acétique glacial.
- ajouter 85 ml de méthanol puis mélanger
- Ajouter 5 ml d'acide sulfurique concentré

La solution ainsi obtenue est homogénéisée et gardée à 4°C pendant toute la durée d'utilisation. On pulvérise environ 10 ml de la solution sur le chromatogramme puis on chauffe à 100°C pendant 10 minutes. Le chromatogramme peut être examiné à la lumière UV (365 nm).

Le mécanisme de la réaction de l'anisaldéhyde avec les stéroïdes n'est pas encore élucidé. Il a été rapporté que plusieurs réactions non quantitatives se produiraient simultanément. Ces réactions se produiraient au cours de la condensation d'un intermédiaire cyclopentenyl avec l'anisaldéhyde pour donner la coloration obtenue.

**Annexe IV : composition des milieux de culture utilisés (1 l d'eau)**

<b>Bouillon nutritif</b>	<b>Chapman (g/l)</b>
Macération de viande (ou extrait de viande + eau distillée.....1 litre peptone typsique.....15 NaCl ou Kcl.....5 <b>pH 7,2</b>	Peptone.....11 Extrait de viande.....1 Chlorure de sodium .....75 Mannitol.....15 Agar.....15 Rouge de phénol.....0.025 <b>pH 7,8</b>
<b>Mueller-Histone (g/l)</b>	<b>Gélose salmonella-shigella (g/l)</b>
Infusion de viande de bœuf.....300 Hydrolysate de caséine.....17.5 Amidon.....1.5 Agar.....17 <b>pH 7,5</b>  de milieu déshydraté..... 38 d'eau distillée .....11 <b>pH=7.3</b>	Extrait de viande bœuf.....5 Polypeptone.....5 Lactose.....10 Sels biliaires.....8.5 Citrate de sodium.....10 Thiosulfate de sodium.....8.5 Citrate ferrique.....1 Gélose.....13.5 Vert brillant.....0.00033 Rouge neutre.....0.025 <b>pH 7,0</b>
<b>PCA (g/l)</b>	<b>Eau physiologie (g/l)</b>
Tryptone.....05 Estrais de levure.....2,5 Glucose.....01 Agar.....15 <b>pH 7,0</b>	Na Cl ..... 8.5 Peptone ..... 1 Eau distillée ..... 11 <b>pH 7,0</b>

## **Résumé :**

La problématique de la résistance aux antibiotiques rappelle, qu'il est important de trouver de nouvelles molécules possédant une activité antibactérienne, qui agissent sur des cibles cellulaires différentes de celles visées par les antibiotiques. Les extraits et les fractions chromatographiques des écorces de racines et des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. ont été testés, par bioautographie contre des souches bactériennes pathogènes. De plus, une étude phytochimique après révélation à la vanilline et l'anisaldehyde a été évaluée, par chromatographie sur couche mince. Les résultats révèlent la présence probable de la quercétine et de la catéchine dans l'extrait aqueux du chloroforme des deux parties testées, qui seraient responsables de l'activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* : NCCB 89163 et *Pseudomonas aeruginosa* : ATCC 27853.

**Mots clés :** *Pistacia lentiscus* L., Bioautographie, composés phénoliques, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

## **Abstract :**

The problems of antibiotic resistance, remind us that it's important to find new molecules with antibacterial activity, acting on cellular agents other than those targeted by antibiotics. *Pistacia lentiscus* L. root barks and leaves extracts and their chromatographic fractions were tested by bioautography against pathogenic bacterial strains. In addition, phytochemical study, on thin layer chromatography, with a revelation with vanillin and anisaldehyde was evaluated. The results show the probable presence of quercetin and catechin in the aqueous extract of chloroform, which would be responsible for antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*: NCCB 89163 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

**Keywords:** *Pistacia lentiscus* L., Bioautography, phenolic compounds, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.