



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Abbès Laghrou - Khanchela
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biologie moléculaire et cellulaire

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de

Master académique

Filière : Biologie

Option : Microbiologie

Thème

**Evaluation de l'activité antibactérienne des
extraits de feuilles d'*Olea europaea sativa*
de l'est algérien.**

Présenté par

Lanani Abderrezak

Boughar Achraf

Soutenu le : 22/06/2017

Devant le Jury :

Président : M Abaidia abdelghafour	MAA	Université. Abbès Laghrou - Khenchela
Examineur : M Boussaa Abdelhalim	MAA	Université. Abbès Laghrou - Khenchela
Encadreur : Dr Derouiche Faouzia	MCB	Université. Abbès Laghrou - Khenchela

Année universitaire 2016-2017

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Structure des génines des hétérosides cardiotoniques.	05
Figure 2	Structure d'alcaloïde (morphine).	08
Figure 3	Structure de base des flavonoïdes.	11
Figure 4	Structures des tanins hydrolysables et condensés.	12
Figure 5	Arbre d'olivier.	13
Figure 6	Feuilles et fruits d'olivier.	15
Figure 7	Rameaux fructifères de l'olivier.	17
Figure 8	Détermination de la CMI par dilution en milieu gélosé.	27
Figure 9	Détermination de la CMI et de la CMB d'un antibiotique avec la méthode de dilution en milieu liquide.	28
Figure 10	L'olivier <i>Olea europea</i> (chemlal).	32
Figure 11	Etapes de préparation des extraits.	33
Figure 12	Protocole de préparation des extraits	34
Figure 13	Courbe d'étalonnage d'acide gallique.	35
Figure 14	Préparations des souches bactériennes.	38
Figure 15	Microplaque à 96 puits pour la détermination des paramètres CMI et CMB.	39
Figure 16	Exemple De lecture de la CMI sur microplaque.	40
Figure 17	Lecture de la CMB.	40
Figure 18	Rendements des extraits de feuilles d' <i>Olea europaea sativa</i> .	41
Figure 19	Aspects de 05 extraits de feuilles d' <i>Olea europaea sativa</i> .	42
Figure 20	Teneur en polyphénols des extraits de feuilles d' <i>Olea europaea sativa</i> .	43
Figure 21	Activité antibactérienne des extraits des feuilles d' <i>Olea europaea</i> .	45
Figure 22	Les zones d'inhibitions sur 07 souches des extraits : Aqueux ;Ethanol ; Méthanol ; Acétone ; Hexane.	51
Figure 23	Résultats de l'antibiogramme sur <i>Klebsiella oxytoca</i> (ATCC 25922) <i>Pseudomonas aerogenosa</i> (ATCC 27853) <i>Acenitobacter bumanii</i> (ATCC 19606).	53
Figure 24	Résultats de la CMI.	54

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Classification d' <i>Olea europaea sativa</i> .	14
Tableau 2	Constituants de la pulpe d'olive.	18
Tableau 3	Composés phénoliques identifiés chez l'olivier.	21
Tableau 4	Activités biologiques des composés phénoliques.	22
Tableau 5	Activité antimicrobienne de quelques composés phénoliques de l'olivier.	23
Tableau 6	Souches bactériennes utilisées dans l'étude.	36
Tableau 7	Classement et regroupements des groupes non significativement différents de nos extraits.	42
Tableau 8	Estimation des zones d'inhibitions des 05 extraits sur les souches étudiées.	44
Tableau 9	Classement et regroupements des groupes non significativement différents pour <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923).	45
Tableau 10	Classement et regroupements des groupes non significativement différents pour <i>Salmonella sp.</i>	46
Tableau 11	Classement et regroupements des groupes non significativement différents pour <i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 25922).	46
Tableau 12	Classement et regroupements des groupes non significativement différents pour <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922).	46
Tableau 13	Classement et regroupements des groupes non significativement différents pour <i>Acenitobacter humanii</i> (ATCC 19606).	47
Tableau 14	Classement et regroupements des groupes non significativement différents pour <i>Klebsiella oxytoca</i> (ATCC 25922).	47
Tableau 15	Classement et regroupements des groupes non significativement différents pour <i>Pseudomonas aerogenosa</i> (ATCC 27853).	47
Tableau 16	Classement et regroupements des groupes non significativement différents : extrait aqueux.	48
Tableau 17	Classement et regroupements des groupes non significativement différents : extrait éthanol.	48
Tableau 18	Classement et regroupements des groupes non significativement différents : extrait méthanol.	49

Liste des tableaux

Tableau 19	Classement et regroupements des groupes non significativement différents extrait acétone.	49
Tableau 20	Classement et regroupements des groupes non significativement différents : extrait hexane.	50
Tableau 21	Résultats des antibiogrammes contre les 07 souches bactériennes.	52
Tableau 22	Résultats de la CMI (concentration minimal inhibitrice) de nos extraits.	53
Tableau 23	Résultats de la CMB (Concentration Minimal Bactéricide) de nos extraits.	54
Tableau 24	Rapport de la CMI/CMB.	55

Table des matières

Titre	Page
Résumé	I
Abstrat	II
الملخص	III
Liste des abréviations	IV
Liste des figures	V
Liste des tableaux	VI
Table des matières	
Introduction	01
Chapitre I : Plantes médicinales	
I. Plantes médicinales	02
I.1. Définitions	02
I.1.1. Phytothérapie	02
I.2. Importance socio-économique des plantes médicinales en Algérie	03
I.3. Principes actifs d'origine végétale	03
I.3.1. Glucosides ou hétérosides	04
I.3.2. Huiles essentielles	06
I.3.3. Huiles grasses	07
I.3.4. latex	07
I.3.5. Alcaloïdes	08
I.3.6. Mucilages	08
I.3.7. Gommés et résines	09
I.3.8. Substances aromatiques	09
I.3.8.1. Hydroxycoumarines	09
I.3.8.2. Flavonoïdes	10
I.3.9. Vitamines	11
I.3.10. Tanins	11
Chapitre II : <i>Olea europea</i> ou olivier	
II. <i>Olea europea</i> ou l'olivier	13
II .1. Généralités	13
II .2. Oléiculture	14
II. 3. Caractéristiques morphologiques de l'Olivier	14
II. 3.1. Système racinaire	15
II.3.2. Le système aérien	16
II .4. Composés phénoliques (CPs)	18
II.4.1. Distribution des composés phénoliques	19
II.4.2. Classification des composés phénoliques	19
II.4.3. Composés phénoliques dans l'olivier	20
II.4.4. Activités biologiques des composés phénoliques	21
II.4.5. Effet antimicrobien des polyphénols	22
Chapitre III : Activité antimicrobienne	
III. Activité antimicrobienne	24
III.1. Méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne	25
III.1.1 Méthode de diffusion	25
III.1.2. Méthode de dilution	26
III.1.2.1. Dilution en milieu solide	26

III.1.2.2.Dilution en milieu liquide	27
III.1.2.3. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)	28
III.1.2.4. Concentration Minimale Bactéricide (CMB)	29
III.2. Principales substances antimicrobiennes	29
III.3. Bactéries utilisées	30
Chapitre IV : Méthodologie expérimentale	
IV. Méthodologie expérimentale	32
IV.1.Matériel végétal et préparation des extraits	32
IV.1.1. Récolte du matériel végétal	32
IV.1.2. Préparation des extraits	33
IV.1.2.1. Macération	33
IV.2. Dosage des polyphénols	35
IV.2.1. Principe	35
IV.2.2. Protocole	35
IV.3.Préparations des souches bactériennes	36
IV.3.1. Revifification des souches bactériennes	36
IV.3.2. Repiquage	36
IV.3.3. Ecouvillonnage	36
IV. 4.Activité antibactérienne des 05 extraits bruts	37
IV.4.1. Méthode de diffusion en milieu solide	37
IV.5. Activité antibactérienne des 08 antibiotiques (Antibiogrammes)	38
IV.6. Détermination de la concentration minimal inhibitrice (CMI) et la concentration minimal bactéricide (CMB)	39
VI.7 Statistique.	40
Chapitre V : Résultats et discussion	
V. Résultats et discussion	41
V.1.Rendements des extraits	41
V. 2. Teneur des polyphénols totaux	43
V.3. Activité antibactérienne des extraits	44
V.4. Activité antibactérienne des antibiotiques (antibiogrammes)	52
V.5. Concentration minimal inhibitrice (CMI) des extraits.	53
V.6. Concentration minimale bactéricide (CMB) des extraits.	56
Conclusion	57
Référence bibliographique	59
Annexes	

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées pour apporter directement des réponses à certains problèmes de santé. En Algérie, les plantes ont une importance dans la médecine traditionnelle vu qu'elles sont considérées moins chères et sans effet indésirables par rapport aux médicaments (**Chaouki S, 2012**).

L'olivier ou *Olea europaea sativa* est une espèce largement cultivée dans le bassin méditerranéen depuis la plus haute antiquité. L'utilisation la plus connue de l'olivier est sa production de l'huile d'olive utilisée à des fins alimentaires, cosmétiques et thérapeutiques. Par ailleurs, les propriétés médicinales de l'olivier sont également attribuées à ses feuilles qui font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches scientifiques (**Cowan, 1999**).

En effet, certains composés identifiés dans les extraits de feuilles, tels que les composés phénoliques sont doués d'activités biologiques extrêmement importantes (**Bisignano et al ., 2009**).

Des recherches ont démontré que les polyphénols sont les principaux composés antimicrobiens ayant des modes d'action divers et des activités inhibitrices vis-à-vis de nombreux microorganismes (**Cowan, 1999 ; Sudjana et al, 2009**).

L'extrait de feuilles d'olivier est aussi démontré excellent pour combattre les bactéries, les champignons, virus et parasites. Il est également utilisé pour soigner les maladies cardiaques, le diabète, la polyarthrite, les hémorroïdes (**Covas et al, 2006**).

Le présent travail porte sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'olivier cultivé à l'est algérien ou *Olea europaea sativa* contre des souches en vue de confirmer l'intérêt de cette plante médicinale en tant qu'agent antimicrobien naturel.

De ce fait, une partie bibliographique est consacrée à la caractérisation de l'olivier et ses composants ainsi qu'à l'activité antimicrobienne. La partie expérimentale est conduite pour le test de l'effet antibactérien de cinq extraits de feuilles d'olivier cultivé contre sept souches. Une étude statistique et discussion des résultats est menée en se basant sur différents données.

I. Plantes médicinales

Depuis des millénaires, de nombreuses plantes sont utilisées pour leurs propriétés médicinales. Elles font partie de l'héritage traditionnel et médical de tous les peuples. C'est donc une grande satisfaction de pouvoir se soigner avec les plantes que l'on a soi-même cultivées et cueillies. Les plantes médicinales, employées à bon escient et avec les précautions d'usage, sont efficaces pour se maintenir en bonne santé (**Iserinet *al*, 1997**).

I.1. Définitions

I.1.1. Phytothérapie

La phytothérapie est un mot composé de deux mots grec ; phytos : plantes, thérapie: traitement. Il désigne l'utilisation des plantes dans le traitement des maladies (**Baba Arbi, 2010**). La phytothérapie est la science des plantes médicinales, elle est basée sur l'étude de la composition et les effets des substances naturelles d'origine végétales (**Barka & Ben Attallah, 2010**). L'inventaire partiel établi dans divers pays par l'organisation mondiale de la santé répertorie environ 20 000 plantes médicinales. Parmi les 250 000 espèces de plantes que compte actuellement notre planète, moins de 10% ont fait l'objet d'analyses chimiques fines pour détecter d'éventuels principes actifs (**Benarous, 2009**).

La phytothérapie utilise donc les plantes ayant des propriétés médicinales (ou plus précisément la "partie active" ou une préparation de celles-ci). Les préparations peuvent être obtenues par macération, infusion, décoction, ou sous forme de teinture, poudre totale, extraits etc. Les plantes médicinales peuvent être des espèces cultivées mais dans la plupart des cas des espèces sauvages d'où la nécessité de l'identification précise des plantes employées (**Catier & Roux, 2007**).

L'identification précise des plantes représente une nécessité concrète, car elle est la base de l'utilisation sécuritaire des produits de santé naturels à base de plante. Sans une identification botanique appropriée au départ, l'utilisation sécuritaire de produits de qualité ne peut pas être garantie (**Catier & Roux, 2007**).

Étant donné le nombre considérable de végétaux supérieurs plus de 250000 dans le monde, il est nécessaire d'avoir un système de classification à la fois simple et rationnel. Encore faut-il, au préalable, pouvoir désigner toute espèce végétale, d'une façon claire, précise et identique pour tous (**Caron & Cols Jouve, 1981**).

La nomenclature botanique est la discipline de droit botanique qui a pour objet de définir et d'édicter les règles permettant de former les noms de taxons des organismes

«considérés comme plantes», et de déterminer leur priorité en cas de concurrence. (**Burdet & Perret, 1983**). Ces règles sont édictées par un document mis à jour tous les six ans, le Code international de nomenclature botanique (CINB), qui est la traduction française (non officielle) de l'International Code of Botanical Nomenclature (ICBN) (**Burdet & Perret, 1983**). D'une manière générale, les plantes peuvent être classées en 3 catégories:

- Plantes alimentaires ou plantes comestibles qui représentent une part très importante de la ration alimentaire de l'homme et des animaux herbivores.
- Plantes médicinales qui sont les espèces botaniques utilisées en phytothérapie et médecine populaire pour guérir certaines affections chez l'homme et les animaux.
- Plantes poisons ou plantes toxiques qui sont les plantes qui peuvent entraîner des accidents toxicologiques chez les individus qui les ingèrent (**Bomeman & Calmon, 1991**).

I.2. Importance socio-économique des plantes médicinales en Algérie

En Algérie, les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle, qui elle-même est largement employée dans divers problèmes de santé. Les remèdes utilisant les plantes sont considérés comme : moins chers, sans effets indésirables et ont tendance à être plus employés dans les maladies chroniques tels que le diabète, les rhumatismes, les cancers...., par ailleurs, l'exploitation et le commerce des plantes médicinales et aromatiques (PMA) représentent, pour plusieurs familles dans la campagne et en ville, une source de revenu non négligeable. Pour s'en apercevoir, il suffit de constater l'épanouissement du marché des plantes médicinales et la multiplication des vendeurs de PM et/ou des produits cosmétiques à base de plantes (**Baba Aissa, 1990**).

I.3. Principes actifs d'origine végétale

La plupart des espèces végétales possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme (**Baba Arbi, 2010**) et qui peuvent agir sur le système nerveux, l'appareil digestif, le système cardiovasculaire...etc... (**Barka & Ben Attallah, 2010**). Les principes actifs sont disposés de manière inégale dans les différentes parties ou organes de la plante, en raison de la spécialisation de leurs cellules (**Bahaz & Rachdi, 2010**). Parmi les plus importants sur le plan Pharmacotoxicologiques on citera :

I.3.1. Glucosides ou hétérosides

Les glucosides sont des produits du métabolisme secondaire des plantes. Ils se composent de deux parties. L'une contient un sucre, par exemple le glucose, et est le plus souvent inactive, tout en exerçant un effet favorable sur la solubilité du glucoside et son absorption et distribution dans le corps. L'effet thérapeutique est déterminé par la seconde partie, la plus active, nommée aglycone ou génine (**Walton & Brown, 1999**).

Selon leur composition chimique, on distingue plusieurs groupes de glucosides:

➤ Saponosides

Le terme saponosides est dérivé de mot savon, sont des terpènes glycosylés comme ils peuvent aussi être sous forme aglycones, ils ont un goût amer et acre (**Hopkins, 2003**). Ils existent sous deux formes, les stéroïdes et les terpénoïdes (**Iserin et al, 2001**).

➤ Cardiotoniques

Ce sont des molécules d'origine végétale comportant une géninestéroïde de type cardénolide (en C23) ou bufadiénolide (en C24) et une partie osidique le plus souvent oligosidique. Les hétérosides cardiotoniques augmentent la force et la vitesse de contraction du myocarde. Chez l'insuffisant cardiaque, ils diminuent la fréquence cardiaque (effet chronotrope négatif) par modification de la régulation neuro-végétative (effet indirect sympathomimétique). L'action dromotrope négative, d'origine cholinergique, se traduit par un ralentissement de la vitesse de conduction à la jonction auriculo-ventriculaire (d'où l'utilisation dans les troubles du rythme supraventriculaire). Il n'y a pas d'action sur la conduction intraventriculaire (**Bruneton, 1989**).

Les hétérosides cardiotoniques sont des glycostéroïdes qui se distinguent chimiquement par leur noyau lactonique (**Perlin, 1998**). Selon la taille du cycle lactonique, on distingue deux groupes de génines (figure 01) (**Perlin, 1998; Bruneton, 1999; Dinan et al, 2001; Lefranc et al, 2008**).

- ✓ les cardénolides en C23 à γ -lactone $\alpha\beta$ -insaturée (=buténolide)
- ✓ les bufadiénolides en C24 à δ -lactone di-insaturée (=pentadiénolide).

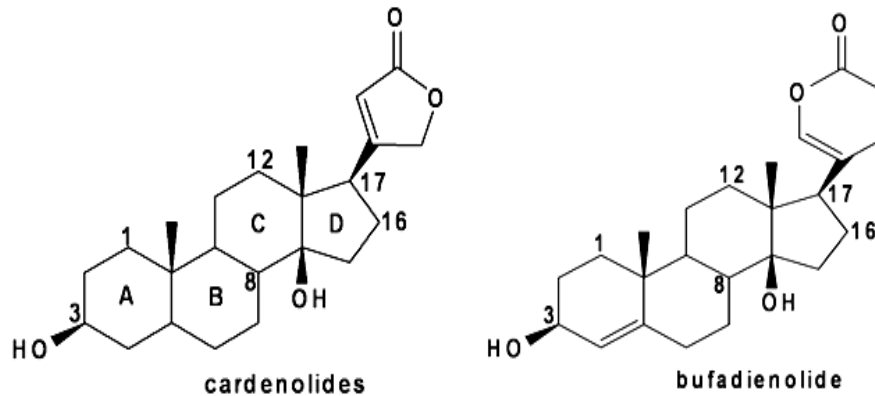


Figure 01. Structure des génines des hétérosides cardiotoniques (Bruneton, 1989).

➤ **Anthraquinoniques**

Ces glycosides sont le plus souvent des pigments cristallins, facilement labiles. Ce sont de puissants laxatifs et purgatifs, rencontrés dans les taxons tels : Polygonaceae et Rhamnaceae. Ce sont les principaux constituants de plantes comme le séné (*Cassia senna*) et la rhubarbe de Chine (*Rheum palmatum*) (Bruneton, 1999 ; Iserin, 2001).

➤ **Cyanogènes**

Molécules liées à un sucre et susceptibles de libérer HCN par hydrolyse. Il s'agit de substances à base de cyanure, mais qui à petites doses ont un effet sédatif sur le système nerveux (muscles, cœur). L'écorce du *Prunus serotina* (cerisier sauvage), les noyaux de fruits de *Prunus armeniaca* (l'abricotier) et les feuilles du *Sambucus nigra* (sureau noir), (les trois parties contiennent les cyanogènes), permettent de supprimer ou de calmer les toux sèches et irritantes (Iserin, 2001).

L'action enzymatique les décompose (souvent dans la salive humaine) en acide cyanhydrique libre qui donne le goût et l'odeur d'amande amère (Bruneton, 1999; Iserin, 2001).

➤ **Lactoniques**

La pharmacologie regroupe sous le nom de principes amers des substances végétales terpéniques susceptibles de libérer de l'azulène, ainsi que des glucosides de diverses structures biochimiques. Le premier groupe comporte par exemple les sucres amers de l'absinthe et du chardon béni (Ho & Toubiana, 1970).

Le deuxième groupe est le plus commun: il regroupe les sucres des gentianacées (gentiane, trèfle d'eau), de la centaurée, etc. Comme leur nom l'indique, les substances amères sont divers composés qui ont un goût amer très prononcé. Ces substances stimulent les glandes salivaires et les organes digestifs. Elles augmentent l'appétit et facilitent la

digestion (stomachique, apéritif, tonique) (**Ho & Toubiana, 1970**).

➤ **Les glucosinolates**

Les glucosinolates sont présents dans toutes les espèces de Brassicaceae (**Rizk, 1986**). Le radis (*Raphanussativus*) et le cresson de fontaine (*Nasturtium officinale*) sont des plantes à glucosinolates typiques (**Bruneton, 1999**); (**Iserin, 2001**). On les rencontre également dans d'autres familles telles que les Capparidaceae et Moringaceae. Les glucosinolates (GLC) sont des hétérosides soufrés, anioniques, responsables des odeurs fortes dégagées par les Brassicaceae (**Bruneton,1999**). La structure de base des glucosinolates comporte un glucose (Glu), un groupe sulfate et une génine variable (R). La molécule existe généralement sous la forme de sels de potassium (**Rafael & Elena, 2005**);(**Troyer Johnnet al, 2001**). Certains auteurs considèrent ces molécules utiles, non seulement pour leur activité contre lesbactéries, les champignons, nématodes mais aussi sur la croissance des cellules de tumeur et dans la prévention du cancer (**Bruneton, 1999** ; **Troyer Johnnet al, 2001**; **Huang et al, 1994**).

I.3.2. Huiles essentielles

Il s'agit d'un extrait pur et naturel provenant de plantes aromatiques (**Roulier, 1990**; **Wegrzyn & Lamendinh, 2005**). Elles concentrent l'essence de la plante, autrement dit son parfum. Il s'agit de substances odorantes, volatiles,de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs (**Lardry&Haberkorn,2007**) Il faut ainsi une très grande quantité de plantes fraîches pour obtenir quelques millilitres d'huiles essentielles (**Nogaret-Ehrhart, 2008**). Selon la pharmacopée européenne: « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (**Nogaret-Ehrhart, 2008**). Selon l'AFNOR (l'Association Française de Normalisation) (**Paris et al, 1986**), ce sont des produits généralement odorants, obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau, de végétaux ou départies de végétaux, soit par expression du péricarpe frais de certains citrus. Cette définition excluant les essences obtenues par d'autres procédés d'extraction.

I.3.3. Huiles grasses

Il s'agit d'huiles végétales liquides à température ambiante. Le froid les trouble et les fait figer, elles sont insolubles dans l'eau, mais bien solubles dans les solvants organiques (chloroforme, acétone, par exemple) (**Iserin, 2001**).

Parmi les huiles non siccatives, on peut citer l'huile d'olive et l'huile d'amandes, parmi les semisiccatives, celle d'arachide, de tournesol et de colza. L'huile de lin et d'oreillette sont siccatives. L'huile de ricin est fortement laxative. Les huiles grasses sont couramment utilisées, tant pour la fabrication de remèdes qu'à des fins alimentaires et industrielles (**Lamnaouer, 2001**).

I.3.4. latex

Les latex sont des liquides épais et opaques, qui sont des émulsions ou des suspensions (pouvant contenir ou non des alcaloïdes) et qui ont la particularité de se solidifier au contact de l'air. Ils sont sécrétés ou fabriqués par des cellules laticifères (vraies ou anastomosées) (**Daniel & Pichot, 2006**). Parmi les végétaux particulièrement riches en latex on trouve des : papaveraceae, euphorbiaceae, campanulaceae, asteraceae, celastraceae, convolvulaceae, araceae... (**Iserin, 2001**).

I.3.5. Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique) (figure 02). On les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (**Wichtl & Anton, 2009**).

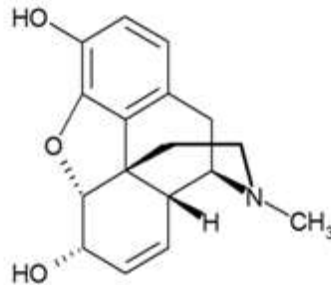


Figure 02. Structure d'alcaloïde (morphine) (Osbourn & Lanzotti, 2009).

Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine, lupinine) (**Hopkins, 2003**). Des anticancéreuses (vincristine et la vinblastine) (**Iserin *et al*, 2001**) Selon leur structure moléculaire, on peut diviser les alcaloïdes en plusieurs groupes :

- ✓ Phénylalanines: capsaïcine du piment, colchicine du colchique.
- ✓ Alcaloïdes isoquinoléiques : morphine, éthylmorphine, codéine et papavérine contenues dans l'opium du pavot; et des alcaloïdes indoliques: ergométrine, ergotamine, ergotoxine de l'ergot des céréales.
- ✓ Alcaloïdes quinoléiques: tige feuillée de la rue commune.
- ✓ Alcaloïdes pyridiques et pipéridiques : ricinine du ricin, trigonelline du fenugrec, conine (poison violent) de la ciguë.
- ✓ Alcaloïdes dérivés du tropane : scopolamine et atropine de la belladone.
- ✓ Alcaloïdes stéroïdes: racine de vétrate, douce-amère ou aconite (aconitine) (**Lamnaouer, 2001; Roland, 2002**).
- ✓

I.3.6. Mucilages

Les mucilages sont des polymères complexes de fucose, d'acide glucorinique et d'acide manuronique. Ce sont souvent des macros glucides, formant en présence d'eau des systèmes colloïdaux (particules se trouvant en suspension dans un liquide) fortement visqueux. A l'eau froide, les mucilages gonflent en formant des gels, à l'eau chaude ils se

dissolvent en formant des solutions colloïdales qui se gélifient à nouveau en refroidissant (Czarneset *al*, 2000).

Dans les plantes, ces substances ont un rôle de réservoirs, surtout par leur capacité à retenir l'eau. Dans les infusions et les décoctions, les mucilages des plantes médicinales ont pour effet de réduire l'irritation tant physique que chimique (Czarneset *al*, 2000). Ils peuvent absorber de grandes quantités d'eau et peuvent être utilisés pour calmer les tissus enflammés comme la peau sèche, irritée ou la paroi des intestins (Ktistis & Georgakopoulos, 1991). Ils exercent donc une action favorable contre les inflammations des muqueuses, notamment celles des voies respiratoires et digestives, ils atténuent les douleurs des contusions, assouplissent la peau lors d'applications de cataplasmes (Lamnaouer, 2001). Chez les plantes supérieures, diverses scrofulariacées, des malvales, des violales, divers lauriers, les tilleuls contiennent des quantités significatives de mucilages (Westernet *al*, 2000).

I.3.7. Gommages et résines

Substances adhésives, insolubles dans les solvants organiques; elles sont souvent produites en réaction à une blessure. Les résines sont surtout produites par les résineux, c'est-à-dire les pins, les sapins, les épicéas et d'une manière générale les gymnospermes. Les gommages (gomme arabe, gomme adragante, etc.) sont surtout produites par des clusiacées ou guttifères, diverses légumineuses (astragale) et des urticales (Lamnaouer, 2001).

I.3.8. Substances aromatiques

On groupe ici un certain nombre de substances, fréquentes dans les drogues végétales, de composition et d'action souvent très variable. Elles peuvent accompagner chez la plante d'autres substances actives. C'est dans ce groupe que nous trouvons notamment les glucosides phénoliques, ou les dérivés du phényl-propane, telles les coumarines au parfum caractéristique. Les tiges feuillées de mélilot, l'aspérule odorante, sont riches en coumarine. (Fedorak & Westlake, 1981).

I.3.8.1. Hydroxycoumarines

Ils présentent également un intérêt pharmaceutique et sont rencontrées en abondance dans une ombefüfere : Ferulacommunis. L'esculine, contenue dans l'écorce du marron d'Inde a les mêmes effets que la vitamine P, elle augmente la résistance des vaisseaux

sanguins et présente donc un intérêt pour les soins des hémorroïdes et des varices (comme la ratine). De plus, elle absorbe les rayons ultraviolets (filtres solaires, crèmes protectrices). L'écorce de viorne (*Cortex vibumi*) contient également des hydroxycoumarines. L'angélique officinale contient, elle, des furocoumarines (**Kirkiacharianet al, 2002**).

I.3.8.2.Flavonoïdes

Un deuxième groupe de substances aromatiques est constitué par les produits de condensation de molécules d'acide acétique actif (acétogénines). C'est à ce groupe qu'appartiennent les flavonoïdes, substances phénoliques (figure 03) dont la plus importante du point de vue thérapeutique est la ratine qui exerce, comme l'esculine, une action favorable sur la paroi des capillaires. La ratine est tirée de la rue, mais plus encore du sarrasin et du sophora. Les feuilles et fleurs d'aubépine, ainsi que les baies du même arbuste comptent parmi les drogues renfermant des flavonoïdes les plus fréquemment employées (**Milane, 2004**). Une autre drogue importante, tant pour la médecine populaire que pour la médecine officielle, et renfermant, à côté des substances flavonoïdes tout un arsenal d'autres produits, est la fleur ou la baie de sureau noir. La fleur de tilleul est un autre remède connaissant la faveur de tous. Citons aussi la tige feuillée de millepertuis, l'immortelle des sables, l'antennaire (**Iwashina, 2000**).

Le chardon-Marie, qui est riche en substances importantes du groupe des flavolignanes, efficaces contre les maladies du foie et les hépatites, fait l'objet d'études particulièrement attentives depuis quelque temps (**Bruneton, 2009**).

Les flavonoïdes sont des produits largement distribués dans le règne végétal et sont couramment consommés quotidiennement sous forme de fruits, légumes et boissons (**Fritch&Griesbach, 1975**).

Ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, suggérant qu'ils pourraient exercer une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes, vasculoprotectrices, anti hépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires, antiulcéreuses et même antitumorales significatives (Atefeibu, 2002).

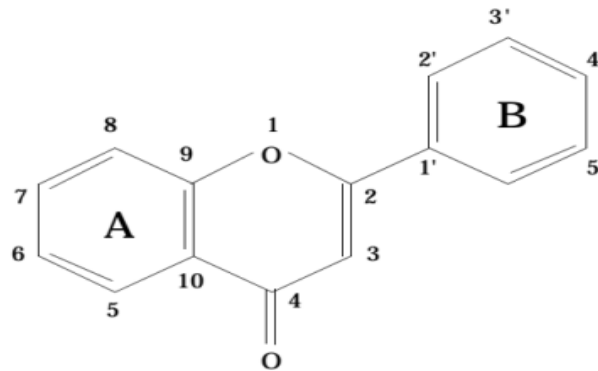


Figure 03. Structure de base des flavonoïdes (Heller & Forkmann, 1993).

I.3.9. Vitamines

Les vitamines sont des substances organiques, sans valeur énergétique propre, qui sont nécessaires à l'organisme et que l'homme ne peut synthétiser en quantité suffisante. Elles doivent être fournies par l'alimentation. Treize substances répondent à cette définition. Il s'agit d'un groupe de molécules chimiquement très hétérogènes. Ce sont des substances de faible poids moléculaire (Radimer, 2004).

Certaines d'entre elles ont des structures proches de celles d'autres composés organiques : sucres pour la vitamine C, hormones stéroïdes pour la vitamine D, porphyrines pour la vitamine B12. Les plantes fournissent quasiment toutes les vitamines. Certaines plantes en sont riches (ex: Citron (*Citrus limon*): vitamine C; Carottes (*Daucus carota*) : provitamines A (β -carotène); Cresson (*Nasturtium officinale*): vitamines B1, B2, C, E) (Radimer K, 2004).

I.3.10. Tanins

Ce sont des substances d'origine végétale de nature biochimique non azotée, de structure poly phénolique, solubles dans l'eau, l'alcool et dans l'acétone mais peu soluble dans l'éther, de saveur astringente et ayant la propriété commune de tanner la peau en la rendant imputrescible et imperméable en se fixant sur les protéines (Barka & Ben Attallah, 2010).

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structures aussi bien que par leur origine biogénétiques : lestanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bruneton, 1999**) (figure 04).

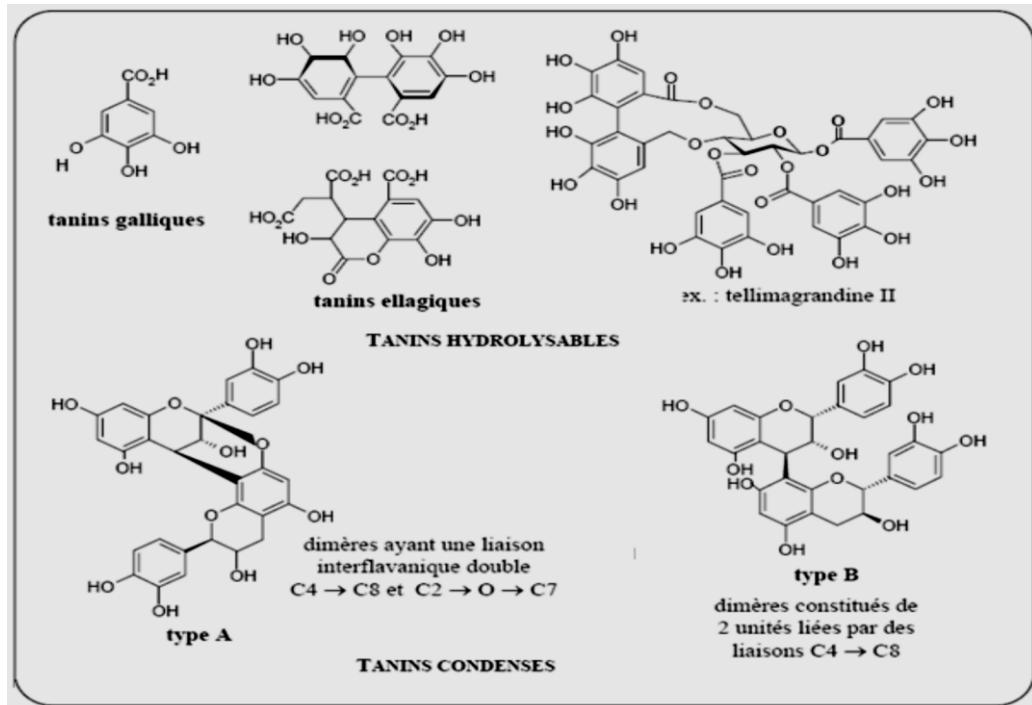


Figure 04. Structures des tanins hydrolysables et condensés (**Bruneton, 1999**).

II. *Olea europaea* ou l'olivier

II .1. Généralités

L'olivier, arbre spécifique du bassin méditerranéen, a été considéré depuis la nuit des temps comme symbole de la sagesse, de la paix, de la richesse et de la gloire, il appartient à la famille des *Oleaceae* et au genre *Olea* (tableau 01). Ce genre comporte diverses espèces dont : *Olea europaea* qui se divise à son tour en deux sous-espèces : *Olea europaea sylvestris* ou l'olivier sauvage et *Olea europaea sativa* ou l'olivier cultivé (Benlemlih & Ghanam, 2012; Sekour, 2012). Le genre *olea*, est constitué de 30 espèces différentes comme le troène, le lilas, le frêne, le forsythia....

Cet arbre (figure 05) pousse dans un climat tempéré, il est réputé pour sa grande rusticité lui permettant de s'adapter facilement aux sols rocheux, ingrats, caillouteux et arides, il bénéficie d'une longue durée de vie; on peut même le considérer comme immortel, et il se multiplie très facilement par voie végétative ou à partir des bourgs (Amoretti & Cornet, 1985; Benlemlih & Ghanam, 2012).

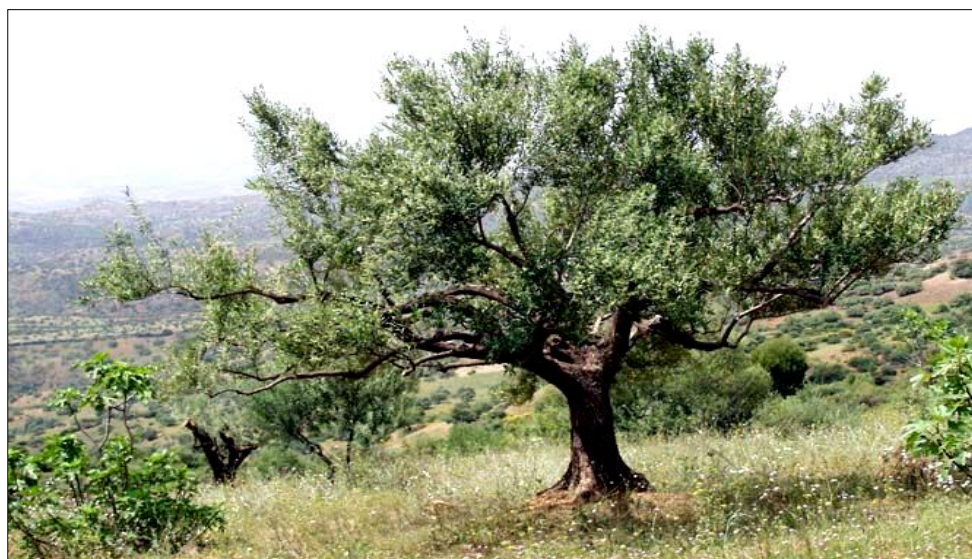


Figure 05. Arbre d'olivier.

L'olivier est de 6 à 8 m de hauteur, à tronc tortueux et à écorce grisâtre et crevassée. L'olivier, présente une cime arrondie avec des rameaux étalés très nombreux, enchevêtrés les uns dans les autres, plus ou moins épineux ou inermes. Les dimensions et les formes varient avec les conditions climatiques, l'exposition, la fertilité du sol (Argenson *et al*, 1999). Les feuilles sont blanches argentées sur la face inférieure, vertes grisâtres sur la face supérieure, opposées, persistantes, coriaces et lancéolées. Les fleurs, petites et blanches, à quatre pétales, sont réunies en grappes dressées. Le fruit qui est l'olive est une drupe de

forme ovale constituée d'un péricarpe et d'un endocarpe .Elle pèse de 2 à 12 g, bien que certaines variétés puissent peser jusqu'à 20 g (**Benlemlih & Ghanam, 2012**).

Tableau 01. Classification d'*Olea europaea* (Benlemlih & Ghanam, 2012).

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Oleaceae</i>
Genre	<i>Olea</i>
Espèce	<i>Olea europaea</i>
Sous-espèces	<i>O. europaea sylvestris</i> <i>O. europaea sativa</i>

II .2. Oléiculture

Le patrimoine oléicole mondial compte actuellement environ 750 millions d'oliviers cultivés sur une superficie de 9,23 millions d'hectares. Les pays méditerranéens comptent 715 millions d'oliviers sur une superficie d'environ 8,16 millions d'hectares, soit 95% du patrimoine oléicole mondial (**Fiorentino et al, 2003; Tsagariki et al, 2007**).

L'Algérie à l'instar des autres pays du bassin méditerranéen renferme d'importantes ressources oléicoles, elle offre à l'olivier un milieu bioécologique favorable. Elle se positionne après l'Espagne, l'Italie, la Grèce, la Turquie, la Tunisie et le Maroc qui sont par ordre d'importance, les plus gros producteurs d'huile d'olive (**Tsagariki et al, 2007**).

Le patrimoine oléicole algérien est estimé à 32 millions d'oliviers, ce qui représente 4,26% du patrimoine mondial, cultivés sur une superficie de 207 822 ha. Cette surface est répartie notamment sur les zones est et Centre-Est du pays en particulier Béjaïa, Tizi Ouzou, Bouira, Sétif et Jijel qui représentent ensemble à elles seules près des deux tiers de la superficie totale) (**Kerboua, 2003; Bensemmane, 2009**).

II. 3. Caractéristiques morphologiques de l'Olivier

L'olivier est sempervirent, c'est à-dire qu'il est toujours vert : ses feuilles tombent avec un cycle de trois années. Comme elles ne tombent pas toutes en même temps, l'arbre donne l'impression d'être toujours vert. Il peut vivre plusieurs siècles : plusieurs pays sont fiers d'avoir des arbres millénaires. Il est avant tout méditerranéen et résiste à la sécheresse, au froid (jusqu'à moins 15 degrés) Il craint l'excès d'humidité surtout à son

ped et une trop importante hygrométrie. Il pousse quand la température dépasse 10 à 12 degrés, soit environ sur 8 à 10 mois au cours d'une année. Il a 2 périodes de croissance (le printemps et l'automne) et il a une période de dormance estivale. Ses feuilles sont lancéolées, persistantes. Elles sont vert grisâtre, coriaces à bords révoluté. Ses fleurs s'épanouissent en petites grappes blanches. Chaque grappe donnera un seul fruit. Son fruit ovoïde, une drupe, l'olive, est vert puis noir à maturité complète. IL a un noyau fusiforme. Son bois très dur est imputrescible et est utilisé en ébénisterie (figure 06). L'olivier, présente une cime arrondie avec des rameaux étalés très nombreux, enchevêtrés les uns dans les autres, plus ou moins épineux ou inermes. Les dimensions et les formes varient avec les conditions climatiques, l'exposition, la fertilité du sol (**Argenson *et al*, 1999**).



Figure 06. Feuilles et fruits d'olivier.

II. 3.1. Système racinaire

Le développement du système racinaire de l'arbre est surtout en fonction des caractéristiques physico-chimiques du sol. En fait l'olivier adaptera son système racinaire à la profondeur du sol, suivant sa texture et sa structure. Il peut atteindre 6m de longueur dans les sols sablonneux avec un système pivotant. Dans les sols argileux, les racines ont un développement latéral fasciculé pouvant atteindre 60m. Lorsque les terrains sont lourds, les racines sont proches de la surface de 0.1 à 0.6m de profondeur **Loussert & Brousse, 1978**).

II.3.2. Système aérien

➤ Le tronc

C'est le principal support de l'arbre, reliant les racines aux charpentières. Il est droit, souvent fissuré, avec une écorce grise et à croissance lente (**Chiez, 1982**). Sur les jeunes arbres, le tronc est droit et circulaire, et à mesure de son vieillissement, il se déforme en donnant naissance à des cordes qui sont des zones successives de dépressions lui donnant un aspect tourmenté, caractéristique de l'olivier. La hauteur du tronc varie d'une zone de culture à une autre, selon la conduite adoptée (**Loussert & Brousse (1978)**).

➤ Les charpentières

Ce sont de grosses ramifications destinées à former la charpente de l'arbre.

On distingue :

- ✓ charpentières mâtresses ou branches mères : elles prennent naissance sur le tronc. C'est au moment des premières tailles de formation qu'elles commencent leur développement (**Loussert & Brousse, 1978**).
- ✓ Les sous-charpentières ou branches sous mères : ce sont des ramifications de second ordre qui se développent sur les branches mères. Ces branches sous mères porteront des rameaux feuillés et des rameaux fructifères.

Le port de l'arbre dépend de la croissance de l'ensemble de ces rameaux, c'est un caractère variétal, qui peut être soit érigé, soit pendant ou pleureur (**Loussert & Brousse, 1978**).

➤ La frondaison

C'est l'ensemble du feuillage. De forme oblongue ou ovale lancéolée, la feuille est simple, entière, dénuée de stipules, avec une durée de vie de trois ans. Le pétiole est court, le limbe est glabre sur la surface supérieure, lancéolée se terminant par un mucron. Cette dernière est luisante et coriace, de couleur vert foncée. La face inférieure présente un aspect argenté (**Ouksili, 1983**).

➤ Les rameaux fructifères

Ce sont des rameaux dont la croissance s'est poursuivie tout au long du printemps et de l'automne de l'année précédente, ils portent les fleurs puis les fruits (figure 07).

Leur longueur est de l'ordre de quelques centimètres suivant la vigueur de l'arbre et de la variété (**Loussert & Brousse, 1978**).

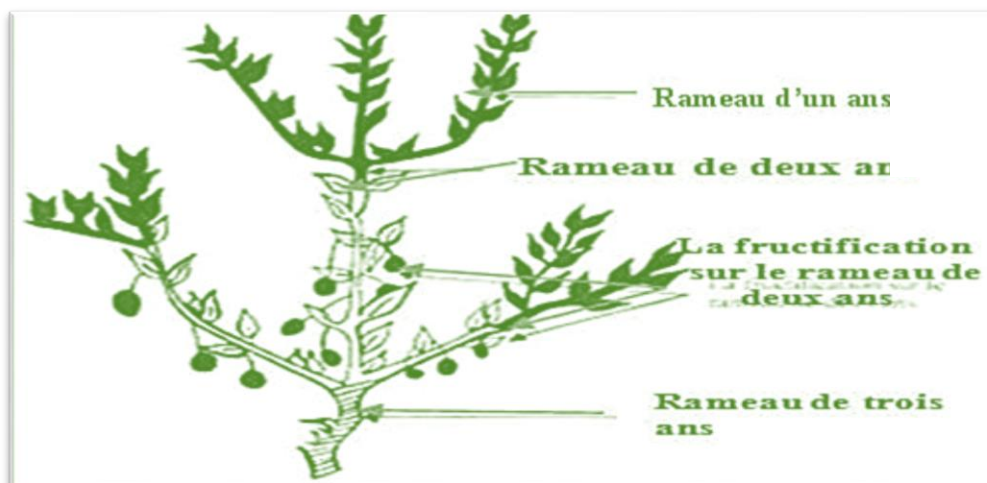


Figure 07. Rameaux fructifères de l'olivier (Bouali, 2011).

➤ **Les inflorescences et fleurs**

Les inflorescences sont constituées par des grappes longues pouvant comporter de 4 à 6 ramifications secondaires. Le nombre de fleurs est variable en fonction de la position de la grappe sur le rameau (Ouksili, 1983). Les fleurs sont régulières, constituées de 4 sépales soudés, 4 pétales soudés, 2 étamines et 2 carpelles.

➤ **Le fruit**

Le fruit est une drupe charnue, ellipsoïde, d'abord verts, puis noire en mûrissent, à mésocarpe charnu et endocarpe ligneux (Chiez, 1982). Sa forme est très variable selon les variétés. Son diamètre est compris entre 1 et 3 cm. Les principaux constituants de l'olive sont présentés dans le (tableau 02).

Tableau 02 .Constituants de la pulpe d'olive (Chiez, 1982).

Eau	la partie la plus importante de la pulpe, représente 25 à 60% du poids du fruit.
Acides organiques	Acide citrique, malique et organique.
Substances grasses	représentent 17 à 30% du poids du fruit, comme les triglycérides et la cutine.
Sucres simples	glucose, fructose (plus dominant) et le mannitol, représentent 5 à 6 % du poids de la pulpe.
Polysaccharides	la cellulose, hémicellulose (3 à 6 %)
Pectines	représentent 1.5 à 2 % du poids de fruit.
Protéines	reforment 1.5% de protéines, sous formes d'acides aminés.
Tannins	ils représentent 1.5 à 2 % du poids de la pulpe.
Substances colorantes	la chlorophylle (a et b), les caroténoïdes et les anthocyanes.
Substances minérales	l'olive contient suffisamment d'éléments minéraux comme le : Ca, Fer....

➤ feuilles de l'olivier

Les feuilles de l'olivier constituent une source naturelle des composés phénoliques dont l'oleuropéine est le composant majoritaire (**Pereira et al, 2007; Erdohan &Turhan, 2011**).

L'extrait des feuilles de l'olivier possède une variété de rôles, ainsi plusieurs études in vivo ont prouvés son efficacité contre plusieurs maladies comme l'hypertension artérielle, le cancer et le diabète. Cet extrait possède aussi une activité antivirale, antibactériennes et antifongique (**Samuelsson, 1951; Renis, 1977; Tassou et al, 1991; Ritchason, 2000; Yigit et al, 2001; Markin et al, 2003**).

II .4. Composés phénoliques

Le terme «polyphénols» est utilisé fréquemment pour designer l'ensemble des composés phénoliques des végétaux. En fait, il devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols. Donc la désignation générale «composés

phénoliques» est plus correcte et précise, elle concerne à la fois les mono et les polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (**Macheix *et al*, 2005**).

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires qui n'exercent aucune fonction directe aux niveaux des activités fondamentales de l'organisme végétal (croissance, développement, reproduction) mais participent à la défense des plantes contre les agressions environnementales (**Macheix *et al*, 2005**; **Merghem, 2009**).

L'élément fondamental qui caractérise les polyphénols est la présence d'au moins un noyau benzénique, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, ou hétéroside. Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés, de plus de 30000 Dalton, comme les tanins (**Boizot & charpentier, 2006**; **Merghem, 2009**).

Les composés phénoliques constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu dans le règne végétal. Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement identifiées. Ils sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques : la voie shikimate et la voie d'acétate (**Macheix *et al*, 2005**).

II.4.1. Distribution des composés phénoliques

Les CPs sont largement rencontrés dans le règne végétal. Chez l'homme, l'alimentation est la principale source des composés phénoliques, on les trouve principalement dans les agrumes: citrons, orange, pamplemousses et dans une moindre mesure: abricots, cerises, mûres, raisins, papayes, tomates et sarrasin. On en trouve également dans les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les graines oléagineuses et les légumineuses secs (**Edeas, 2007**; **Macheix *et al*, 2005**).

II.4.2. Classification des composés phénoliques

Les CPs sont répartis en différents groupes, définis en fonction :

- ✓ de la complexité du squelette de base (allant d'un simple à des formes très polymérisées) (**Herbert, 1989**; **Sarni-Manchado & Cheynier, 2006**).
- ✓ du degré de modification du squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation) (**Herbert, 1989**; **Sarni-Manchado & Cheynier, 2006**).
- ✓ des liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules glucidiques, lipidiques ou protéiques (**Herbert, 1989**; **Sarni-Manchado &**

Cheyrier, 2006).

Les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins et les lignanes sont considérés comme les principales classes des composés phénoliques (**Merghem, 2009; Muanda, 2010).**

II.4.3. Composés phénoliques dans l'olivier

L'olivier et ses dérivés (feuilles, olives, huile, margines et grignons) regroupent toute une gamme de composés phénoliques. Ces derniers peuvent avoir diverses applications dans les secteurs pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires (**Benlemlih & Ghanam, 2012; Taamalli, 2012).**

Les teneurs en CPs dans chaque dérivé varient en fonction de la variété de l'olivier, le degré de maturité des olives au moment de la récolte, les techniques culturales, les techniques de trituration de l'huile d'olive, et enfin les conditions pédo-climatiques (géographie, météo) (**Romani et al, 1999; Owen et al, 2000; Botia et al, 2001; Vinha et al, 2005).**

Il est à noter que lors de la trituration, seulement 2% du contenu total des CPs du fruit passe dans la phase huileuse (huile d'olive), le reste se trouve dans la phase liquide (margines) et dans la phase solide (grignons) (**Rodis, 2002).**

La composition phénolique des margines a été étudiée dans différents travaux. Cette dernière est très différente par rapport à celle du fruit et des feuilles (**Servili et al, 1999).** Différentes familles de composés phénoliques sont présentes dans les olives et dans les huiles. Parmi elles, l'oleuropéine est le composé majoritaire dans les feuilles d'olivier et dans les olives et c'est le principal responsable de l'amertume des olives (**Shasha & Leibowitz, 1961; Soler et al, 2000; Andrewse et al, 2003).** Le ligstroside est également présent en grande quantité dans l'olive. Les lignanes telles que le pinorésinol, l'acetoxypinorésinol et l'acide élenolique sont également détectées dans les huiles (**Brenes et al, 2000; Yang et al, 2007).**

Parmi les polyphénols identifiés chez les margines, nous citons : l'acide syringique, l'acide phénylacétique, l'acide caféique, l'acide gallique, l'acide vanillique, la catéchine, et le p-tyrosol (tableau.03) (**Leger, 1999; Lasage et al, 2001; Owen et al, 2000; Bouhadjara, 2011).**

Tableau 03. Composés phénoliques identifiés chez l'olivier (Bouhadjara, 2011).

Composé phénolique	Origine	Référence
Oleuropéine	Feuilles	(Andrews, 2003)
Ligstroside	Olives	(Saija & Uccella, 2001)
Pinorésinol	Huile	(Yang <i>et al</i> , 2007)
Acetoxypinorésinol		(Brenes, 2000)
Acide élenolique		(Montedero, 1993)
Acide syringique	Margines	(Ramos-Cormenzana 1996)
Acide caféique		(Vasquez-Rancero <i>et al</i> , 1974)
Acide gallique		(Limiroli <i>et al</i> , 1996)
Acide vanillique		(Martinez-Nieto <i>et al</i> , 1993)
p-tyrosol		(Leger, 1999)
Hydroxytyrosol		(De Marco <i>et al</i> , 2007)
Acide hydroxybenzoïque	Grignons	(Servili <i>et al</i> , 1999)

II.4.4. Activités biologiques des composés phénoliques

Les CPs sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques (tableau 04). Ces molécules traces jouent un rôle très important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle et donc la santé des consommateurs (Taamalli, 2012). Ils pourraient permettre de prévenir de nombreuses pathologies comme le cancer (Brown *et al*, 1998), les maladies dégénératives et cardio-vasculaires (Paganga *et al*, 1999).

Parmi les antioxydants végétaux, les polyphénols apparaissent parmi les plus efficaces quant à leurs effets protecteurs dans l'organisme (Galli & Visioli, 1999; Owen *et al*, 2000).

Tableau 04. Activités biologiques des composés phénoliques (Taamalli, 2012).

Composé phénolique	Activité	Référence
Acides phénols	Antibactérienne	(Didry <i>et al</i> , 1982)
	Antifongique	(Ravn <i>et al</i> , 1984)
	Antioxydante	(Hayase & Kato, 1984)
Flavonoïdes	Anti-tumorale	(Stavric & Matula, 1992)
	Anti-carcinogène	(Yang <i>et al</i> , 2000)
	Anti-inflammatoire	(Bidet <i>et al</i> , 1987)
	Hypotenseurs et diurétique	(Bruneton, 1993)
	Antioxydant	(Aruoma <i>et al</i> , 1995)
Anthocyanes	Protectrice capillaro-veineux	(Bruneton, 1993)
Tannins	Antioxydants	(Okuda <i>et al</i> , 1983)

II.4.5. Effet antimicrobien des polyphénols

Plusieurs études ont montré que les CPs sont de bon inhibiteurs des microorganismes pathogènes (Takahashi *et al* ., 2004; Yadava & Tiwari, 2005) (tableau 05). En effet, ils sont montrés capables d'inhiber la croissance de différentes espèces bactériennes pathogènes pour l'homme comme: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Heliotropium sinuatum*, *Proteus mirabilis* (Didrak, 1999; Babayi, 2004; Ulanowska, 2006).

Il a été rapporté que l'eau de végétation (margines) résultant de l'extraction de l'huile d'olive a été toxique pour *Pseudomonas syringae* et *Corynebacterium michiganense*. Certains polyphénols présentent également des activités antifongiques, antiparasitaires et antivirales (Marfak, 2003; Kim *et al* ., 2004; Tapas *et al* ., 2008) (tableau 05).

Le mécanisme des effets antimicrobiens des CPs est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, on cite :

- Inhibition de la synthèse d'acide nucléique (Hilliard *et al*, 1995).

- Inhibition des fonctions de la membrane cytoplasmique (Tsuchiya & Iinuma, 2000).
- Inhibition du métabolisme énergétique microbien (Haraguchi *et al*, 1998).
- Inhibition des enzymes hydrolytiques (Cowan, 1999).

Tableau 05. Activité antimicrobienne de quelques composés phénoliques de l'olivier (Marfak, 2003).

Composé phénolique	Origine	Microorganisme	Référence
Acide hydroxybenzoïque	Margines	<i>Fusarium solani</i>	(Yangui <i>et al.</i> , 2008)
Méthylcatéchol		<i>Pseudomonas syringae</i>	(Capasso <i>et al.</i> , 1995)
Acide caféique		<i>Escherichia coli</i>	(Obied <i>et al.</i> , 2007)
Hydroxytyrosol	Feuilles	<i>Candida albicans</i>	(Markin <i>et al.</i> , 2003)
Oleuropéine		<i>Salmonella enteritidis</i>	(Tassou & Nychas, 1995)
Apigenin-7- glucoside		<i>Staphylococcus aureus</i>	(Erdohan & Turhan, 2011)
Decarboxymethyl Oleuropein Ligstroside Aglycons	Huile d'olive	<i>Listeria monocytogenes</i>	(Médina <i>et al.</i> , 2006)
Oleuropein Hydroxytyrosol	Olives	<i>Moraxella catarrhalis</i>	(Bisignano <i>et al.</i> , 1999)

III. Activité antimicrobienne

Malgré les avancées spectaculaires dans les recherches pharmaceutiques, l'apparition et le développement de bactéries résistantes aux antibiotiques est devenu un défi médical mondial. Les professionnels de la santé ne cachent pas leurs inquiétudes suite aux développements des bactéries multi-résistantes. Ces dernières provoquent des infections qui ne réagissent plus aux antibiotiques. Selon l'OMS, plusieurs millions de personnes dans le monde sont victimes des infections nosocomiales provoquées par les bactéries résistantes aux traitements et contractées lors des soins médicaux. Les fréquences maximales ont été rapportées dans les hôpitaux des régions de la Méditerranée orientale et de l'Asie du Sud-est (11,8% et 10,0% respectivement), et la prévalence atteignait 7,7% en Europe et 9,0% dans le Pacifique occidental (**Gibbons, 2008**).

Par ailleurs, les plantes possèdent un système de défense naturelle très efficace, basé sur la biodiversité de leurs métabolites secondaires. Cette diversité, des groupes structuraux et fonctionnels, permet de se protéger efficacement contre de nombreux pathogènes tels que les bactéries, les champignons et les virus. Les plantes synthétisent, de manière constitutive ou induite, une multitude de molécules antimicrobiennes (**Jones & Dangl, 2006 ; Gibbons, 2008**), d'où l'intérêt de la recherche et le développement de la phytothérapie. Justement dans cette optique, plusieurs instituts de recherches ont procédé à des investigations dans l'étude de l'activité biologique de plantes médicinales originales de diverses régions du monde. Ces travaux sont basés sur l'usage populaire des espèces natives. Les substances de la plantes se sont montrées efficaces dans l'inhibition de la croissance d'une grande variété de souches bactériennes.

D'autre part, les risques de contamination microbienne provenant de la manipulation et la conservation des aliments sont de plus en plus fréquents. En outre, la demande croissante à des méthodes de conservation des aliments avec des produits naturels, nécessite le développement de nouvelles méthodes de conservation basées sur l'ajout d'extraits de plantes. Ces méthodes de conservation représentent un besoin vital et pourraient éventuellement être une alternative aux antimicrobiens de synthèse. Il est donc nécessaire de développer des outils aiguisés pour tester l'activité antimicrobienne des produits naturels. On rapporte ci-dessous quelques techniques d'analyse de l'activité antibactérienne. (**Burnichon & Texier, 2003**).

III.1. Méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne

III.1.1 Méthode de diffusion

La méthode par diffusion ou encore méthode des disques présente l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de pouvoir s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (**Fauchère & Avril 2002**). Cette technique utilise des disques de papier buvard imprégnés d'une concentration donnée d'antibiotique déposé à la surface d'une gélose spécifique (Mueller-Hinton) coulée en boîte de pétri uniformément ensemencée d'une suspension de la bactérie étudiée (**Burt & Reinders, 2003; Carson & Riley, 1995 ; Deans & Ritchie., 1987; Faleiro et al., 2003 ; Kunle & Okogun, 2003 ; Lis-Balchin & Hart, 2000 ; Pattnaik & Subramanyam, 1996; Sivropoulou & Papanikolaou., 1996 ; Smith-Palmer & Stewart, 1998 ; Zaika, 1988**). Le principe de la technique est relativement simple. Lorsqu'un disque imprégné d'antibiotique est placé sur une gélose préalablement inoculée avec la bactérie testée, il s'humidifie et l'antibiotique diffuse relativement dans la gélose, en formant ainsi un gradient de concentration. L'antibiotique est présent en fortes concentrations à proximité du disque et affecte des micro-organismes même faiblement sensibles. Par contre, les organismes résistants se développent jusqu'au disque. Plus, on s'écarte du disque, plus la concentration en antibiotique diminue et seul les bactéries pathogènes, les plus sensibles, sont affectées (**Harley et al, 2010**). Les diamètres des zones d'inhibition permettent d'apprécier la sensibilité des germes. La lecture des résultats est rapportée par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions en (mm). Les zones doivent être uniformément circulaires (**Richard et al, 2007**). Selon **Barros et al, 2007**, l'activité antimicrobienne est exprimée en zones d'inhibition comme suit :

- Diamètres inférieurs à 7 mm : *aucune activité antimicrobienne* (-).
- Diamètres de 7 à 9,9 mm : *activité antimicrobienne faible* (+).
- Diamètres de 10 à 11,9 mm : *activité antimicrobienne modeste* (+ +).
- Diamètres de 12 à 15 mm : *activité antimicrobienne élevée* (+ + +).
- Diamètres supérieurs à 15 mm : *activité antimicrobienne forte* (+ + + +).

Les méthodes de dilution sont effectuées en milieu liquide ou en milieu solide. Elles consistent à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations

croissantes d'antibiotiques ou d'huiles essentielles selon une progression géométrique de raison 2.

En milieu liquide, l'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes ou en microplaques contenant l'agent antimicrobien. Après incubation, la CMI est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration de produit et où aucune croissance n'est visible.

III.1.2. Méthode de dilution

Grâce aux méthodes de dilution, on peut déterminer les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale bactéricide (CMB). Ces méthodes peuvent être appliquées en gélose et en bouillon. La plus faible concentration de chaque fraction ne montrant aucune croissance sera considérée comme la concentration minimale inhibitrice (CMI). Elle est confirmée par la recherche de la CMB. La CMB est définie comme la plus faible concentration de l'antibiotique qui détruit 99,9% de la concentration cellulaire finale.

La sensibilité d'une bactérie est mesurée par la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'antibiotique considéré. C'est la méthode de référence préconisée par l'OMS. La CMI d'un germe donné peut être mesurée par différents procédés (**CLSI-M7-A7, 2006**). Les méthodes de dilution sont effectuées en milieu liquide ou en milieu solide

III.1.2.1. Dilution en milieu solide

L'antibiotique est incorporé dans un milieu gélosé coulé en boîtes de Pétri. La surface de la gélose estensemencée avec un inoculum des souches à étudier (un inoculateur à têtes multiples, appareil de Steers, permet d'ensemencer de 20 à 30 souches différentes par boîte). Après incubation, la CMI de chaque souche est déterminée par l'inhibition de la croissance sur le milieu contenant la plus faible concentration d'antibiotique. On réalise une synthèse des méthodes expérimentales employées pour étudier l'activité des extraits de plante et des huiles essentielles. Ils ont proposé l'utilisation des méthodes de diffusion pour étudier les composés polaires de petite ou moyenne taille moléculaire et pour la détermination du spectre d'activité antimicrobienne. (**Rios, Recio & Villar, 1988**) (figure 08).

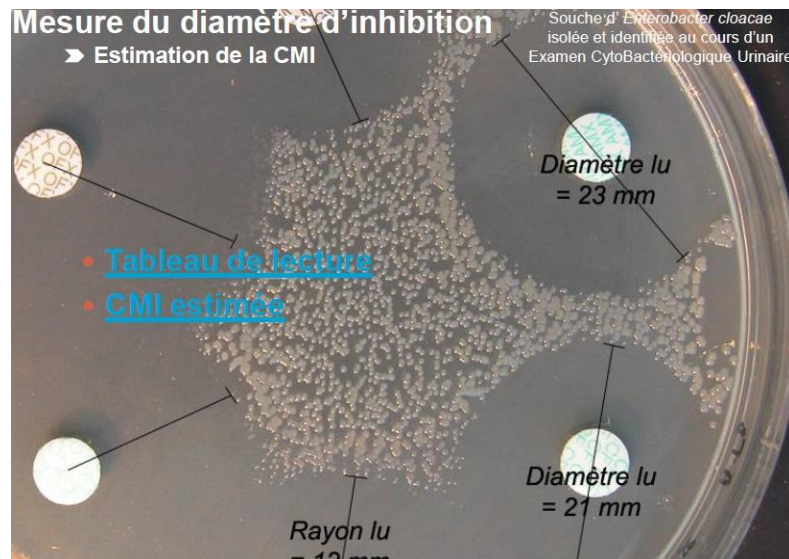


Figure 08. Détermination de la CMI en milieu gélosé (Carbonnelle & Denis ; Marmonier et al, 1987).

III.1.2.2. Dilution en milieu liquide

Dans la méthode de dilution en bouillon, on distribue dans un premier temps une série de tubes à hémolyse (ou dans les cupules d'une microplaque, sous un même volume, des concentrations décroissantes d'antibiotique (en progression géométrique de 2). Puis on ajoute, dans un second temps, dans chacun des tubes (cupules), sous un même volume, des bactéries en phase exponentielle de croissance de façon à obtenir une concentration finale d'environ 10^6 bactéries/ml. Après incubation durant 18 heures, les valeurs des CMI sont mesurées. Cette CMI est la plus petite quantité d'antibiotique (ATB) capable d'inhiber une croissance visible à l'œil nu. On détermine la (CMB) en transférant un échantillon des tubes ne présentant pas de croissance dans un milieu frais dépourvu d'antibiotique. La concentration d'antibiotique la plus faible à laquelle les micro-organismes ne se développent pas dans ce nouveau milieu est la CMI (Jawetz *et al*, 1973 ; Harley *et al*, 2010) (figure 09).

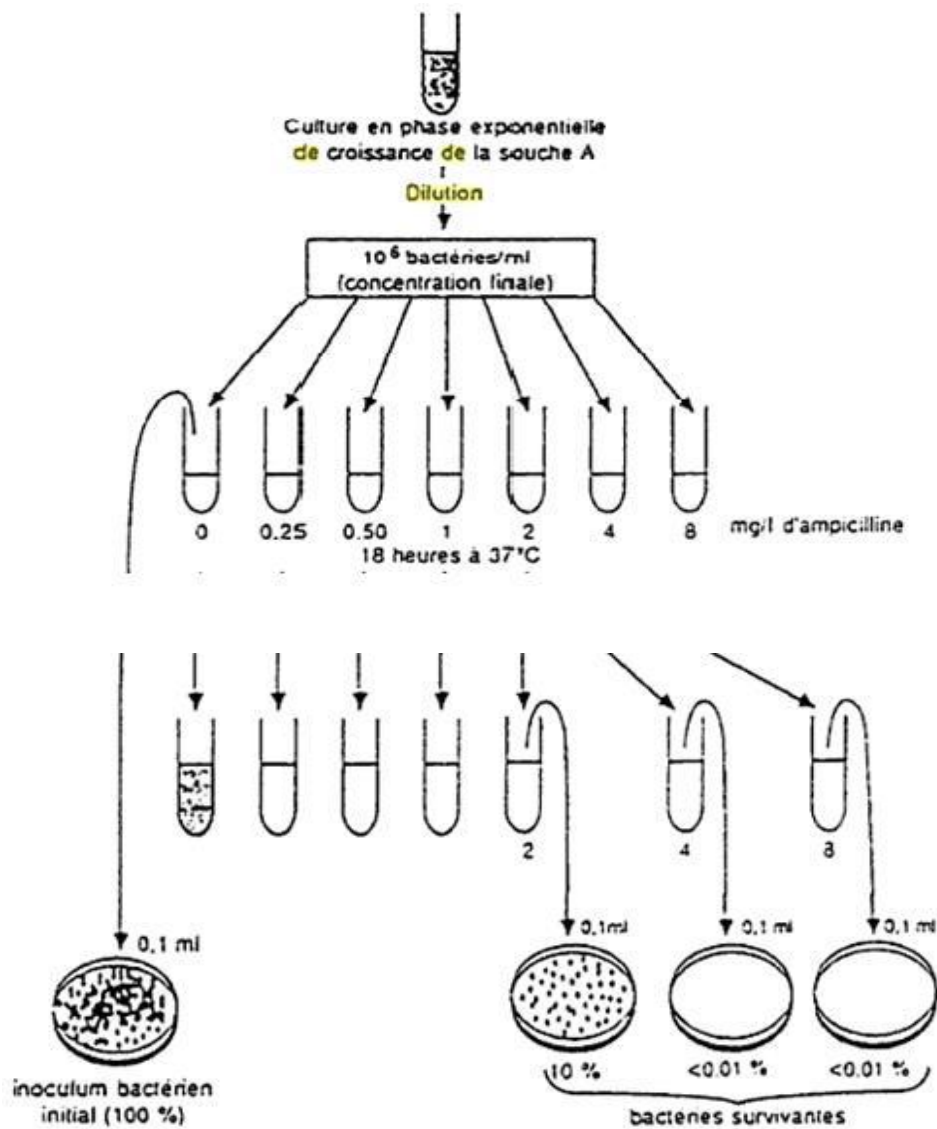


Figure 09. Détermination de la CMI et la CMB par dilution en milieu liquide.

III.1.2.3. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

L'OMS définit la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) comme la plus faible concentration d'un agent antimicrobien capable de provoquer une inhibition complète de la croissance d'une bactérie donnée, appréciable à l'œil nu, après une période d'incubation donnée. La concentration minimale inhibitrice divise les bactéries en trois catégories :

Sensible, intermédiaire et résistante. Cette valeur peut être déterminée par un certain nombre de méthodes d'essai standard ; les plus couramment utilisées sont les méthodes de dilution et de diffusion sur gélose (Mann & Markham, 1998 ; Mendoza-Yepes, Sanchez-Hidalgo, Maertens & Marin-Iniesta, 1997).

III.1.2.4. Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

La Concentration Minimum Bactéricide (CMB) est celle en antibiotique laissant 0,01 % de survivants par rapport à l'inoculum de départ (après 18-24 h à 37 °C). Une revue des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et des Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) pour 4 variétés de Thym portant sur 14 souches bactériennes (dont *Staphylococcus aureus*) a montré que les valeurs des CMI sont identiques aux CMB. Ceci indique que les huiles essentielles testées sont bactéricides (**Cosentino & Tuberoso, 1999**).

III.2. Principales substances antimicrobiennes

➤ Antibiotiques

Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques (**Bergogne-Berezin & Dellamonica, 1995**).

➤ Composés phénoliques

Plusieurs études in vitro et in vivo ont été focalisées sur l'évaluation des propriétés antimicrobienne des polyphénols. A l'heure actuelle, cet effet est certain et démontré par de nombreuses recherches expérimentales. Les études du pouvoir inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance bactérienne ont démontré que de nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempferol et d'autres) sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*) (**Ulanowska et al, 2007**).

Des flavonoïdes, une flavone et une flavanone, respectivement isolés des fruits de *Terminalia bellerica* et de l'arbuste *Eysenhardtia texana* ont été montré comme possédant l'activité contre le microbe pathogène opportuniste *Candida albicans* (**Wächter et al, 1999**). Deux autres flavones isolés de la plante *Artemisia giraldi* ont été rapportés exhiber une activité contre l'espèce *Aspergillus flavus* une espèce de mycète qui cause la maladie envahissante chez les patients immunosuppresseurs (**Valsaraj et al, 1997**).

III.3. Bactéries utilisées

✓ *Staphylococcus aureus*

L'espèce *Staphylococcus aureus* est une cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8µm. elles sont regroupés en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Ce type de bactéries sont immobiles, asporulés, habituellement sans capsule. De nombreuses souches de *Staphylococcus aureus* produisent un pigment jaune doré (chambers, 1997; liu et al, 2005). *Staphylococcus aureus* représente est la cause de méningite, et la diarrhée (Stevev et al, 2004).

✓ *Salmonella Sp*

Salmonella sp bacille à Gram négatif est la première cause de toxi-infections alimentaire collectives bactérienne dans monde, elle est l'une des préoccupations majeures des laboratoire de contrôle de qualité alimentaire. *Salmonella* est largement répandue dans les différents réservoirs animaux (porcs, bovins, volailles...) et dans certaines denrées destinées à l'homme (Medjbar et al, 2008).

✓ *Listeria monocytogenes*

Bacille à Gram positif, régulier, non sporulant, de 0,4 à 0,5 Mm de diamètre sur 0,5 à 2 mm de longueur, aux extrémités arrondies, quelques cellules peuvent être incurvées. Les cellules sont isolées ou regroupées en courtes chaînes, elles font parfois des angles V entre elles, non acido- alcoolo résistantes, non capsulées, aérobies anaérobies facultatifs. Peu ou pas mobiles à 37° C, *Listeria* est toujours mobile à 22- 25° C. Cette particularité est un caractère important dans le diagnostique bactériologique. La ciliature est de type pérित्रiche, avec un nombre de flagelles compris entre 1-5 et la mobilité est caractéristique car la bactérie semble tourner sur elle-même.

Cette mobilité à 22° C permet également de différencier *Listeria* des bactéries immobiles comme *Erysiplothrix* et la plupart des *Corynebacterium* (Euzeby, 2000 ; Rocourt, 2000; Larpent, 2004).

✓ *Escherichia coli*

Est une bacille à Gram négatif (**Patrick et al, 1988**), de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est 1.1 à 1.5 µm (**Steev et al, 2004**).

✓ *Acinetobacter bumanii*

Est une gamma-protéobactérie, bacille ou coccobacille à Gram négatif, aérobie stricte, oxydase négative, catalase positive, immobile et non-fermentant (**Jans et al, 2004**). Elle ne produit pas de spore et apparaît au microscope sous la forme de courts bacilles ou de cocci (en phase stationnaire). Leur contenu ADN en G+C est compris entre 39 et 47% (**Peleg et al, 2008**). Les bactéries appartenant au genre *Acinetobacter* sont souvent considérées comme des microorganismes ubiquitaires et peuvent être isolées à partir du sol et des eaux (**Zahoun et al, 2010**).

✓ *Klebsiella oxytoca*

Est une bacille à Gram négatif de 0.3 à 1.0 µm de diamètre sur 0.6 à 6 µm de longueur, se présentant de manière isolée, ou groupés par deux ou en courte chaîne et présentant les caractères généraux de la famille des Enterobacteriaceae (**Ayan, 2003; Jonas et al. 2004**). Ce sont des bactéries immobiles, non sporulées, aero-anaérobies, ayant un métabolisme respiratoire et fermentatif, fermentant le glucose avec production de gaz, oxydase négative, catalase positive (**Jarlier & Nordman, 2000; Nauciel, 2000**).

✓ *Pseudomonas aeruginosa*

Les espèces *Pseudomonas aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries fines sont de 1.5 à 3 µm de long et 0.5 à 0.8 µm de largeur. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire mono triche, *Pseudomonas aeruginosa* ne forme ni spores ni sphéroplastés (**Richard & Kiredjian, 1995**).

IV. Méthodologie expérimentale

Cette étude est menée sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de cinq extraits de feuilles d'olivier cultivé (*Olea europaea sativa*) de la variété chemlal sur sept souches bactériennes de référence au laboratoire de biologie à l'université Abbés Laghrour-khenchela.

Notre travail comporte quatre parties :

- ✓ Réalisation de cinq extraits à partir de feuilles de l'olivier *Olea europaea sativa*.
- ✓ Dosage des polyphénols .
- ✓ Réalisation de l'activité antibactérienne.
- ✓ Réalisation de la CMI (concentration minimal inhibitrice) et CMB (Concentration Minimal Bactéricide).

IV.1. Matériel végétal et préparation des extraits

IV.1.1. Récolte du matériel végétal

La récolte des feuilles d'olivier *Olea europaea sativa* (chemlal), (figure 10) a été effectuée dans la région d'Oum El Bouaghi (Est algérien) au mois de mars 2017. Les feuilles récoltées sont ensuite séchées à l'abri de la lumière et concassées dans un mortier puis dans un broyeur électrique. La poudre obtenue est mise dans du papier aluminium et conservée à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

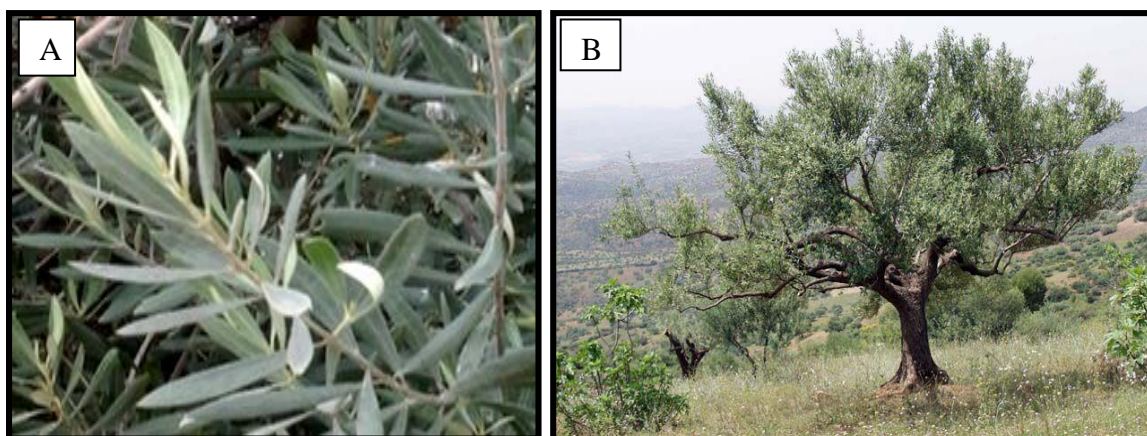


Figure 10. L'olivier *Olea europaea sativa* (chemlal).

A : feuilles d'olivier ; B : arbre d'olivier.

IV.1.2. Préparation des extraits

IV.1.2.1. Macération

10 g de la poudre végétale préparée a subit une macération dans 150 ml de différents solvants : eau, éthanol, méthanol, acétone et hexane pendant 24h. Les solutions sont ensuite filtrées à l'aide d'un papier filtre (papier buvard) puis sont centrifugées à 5500 tour/min pendant 15 min. Les solutions ont subies une 2^{ème} filtration (papier buvard), puis sont concentrées sous pression, par un Rotavapeur (évaporateur rotative) à 60°C pour l'eau (H₂O) ou 40°C pour les autres solvants (éthanol, méthanol, acétone, hexane) (figure 11) L'extrait brut est enfin récupéré en utilisant l'eau ou le solvant adéquat. Le rendement de chaque extrait est calculé en déduisant le poids de la fiole utilisée à vide du poids de la même fiole qui contient la matière sèche, après l'extrait est récupéré par le même solvant à trois 03 répétitions. La quantité du solvant utilise est détermine selon la règle suivante:

$$X \text{ (volumes du solvant à ajouter)} = \frac{\text{Poids sec (mg)} \times 1\text{ml}}{100 \text{ ml}}$$

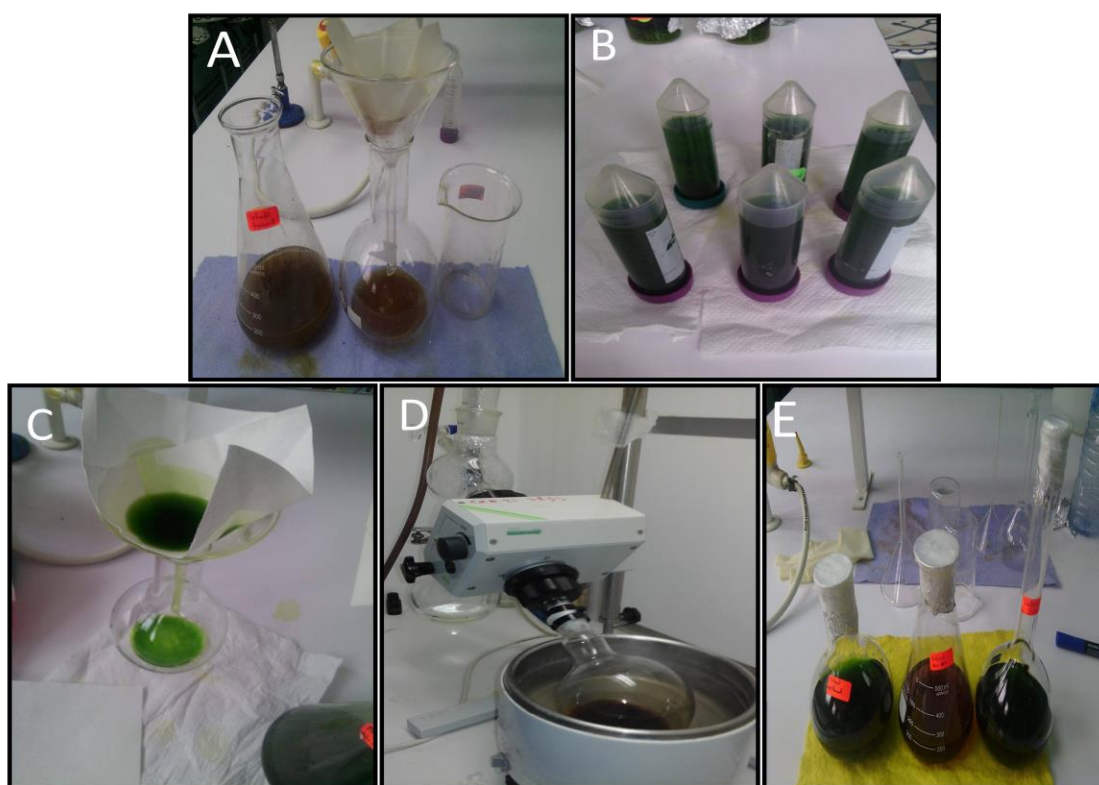


Figure 11. Étapes de préparation des extraits.

A : premier filtration ; B : centrifugation ; C : deuxième filtration ; D : évaporation ;
E : récupération.

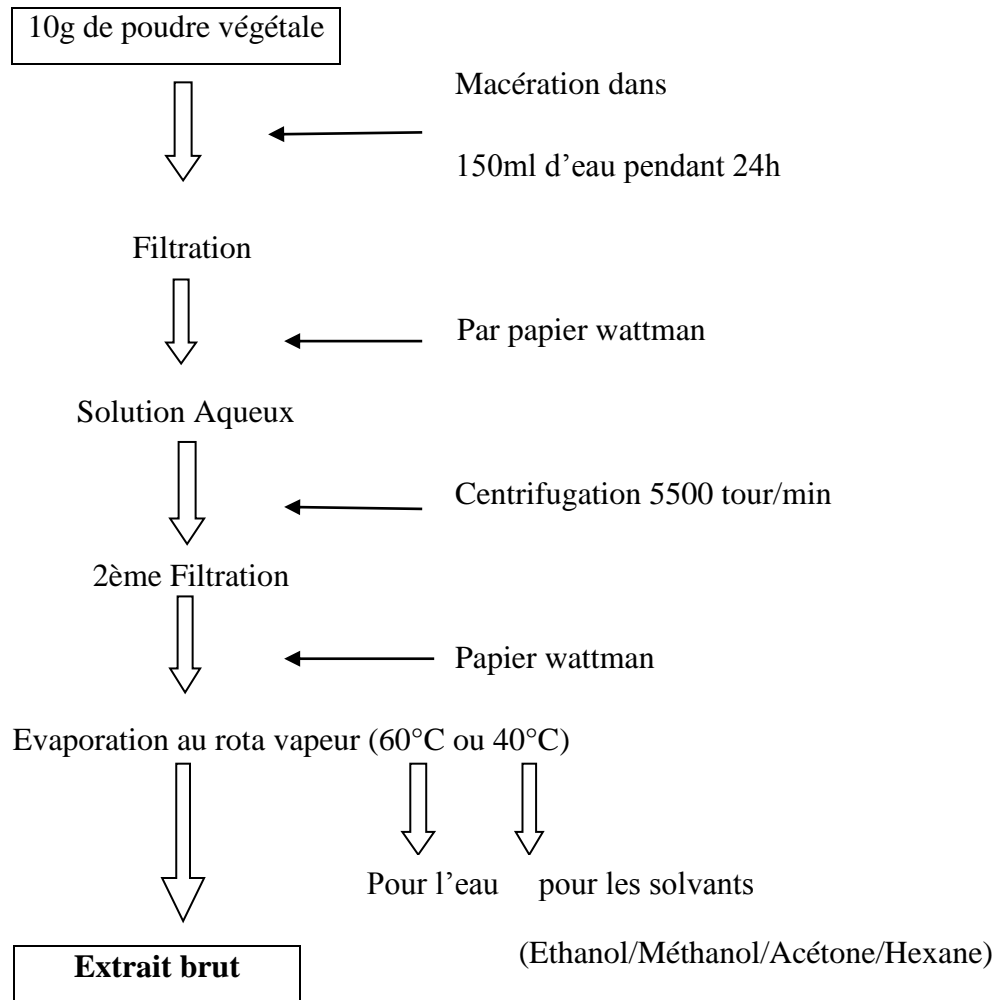


Figure 12. Protocole de préparation de l'extrait (Benkhaled *et al*, 2013).

IV.2. Dosage des polyphénols

IV.2.1. Principe

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribereau-Gayon, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum à 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Ghazi & Sahraoui, 2005**).

IV.2.2. Protocole

Suivant le protocole de Yaakoubi et ses collègues (**Yaakoubi et al ,2010**), le dosage a été réalisé avec 50 µl d'extrait brut dilué par 1,35 ml d'eau distillée auquel sont rajoutés 200 µl du réactif de Folin-Ciocalteu. Après 3 min, 400 µl de Na₂CO₃ (200 g/L) ont été ajoutés, la couleur bleue commence à apparaître. Les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 40 min à température ambiante. 2 ml de la solution est transférée dans une cuvette (distance optique 1cm). L'absorbance est mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

La teneur en polyphénols totaux est déterminée par comparaison de la densité optique observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue.

La courbe étalon d'acide gallique a été préparée en utilisant différentes concentrations croissantes (0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3 g/l) d'acide gallique, l'absorbance est mesurée à 760nm (figure 13).

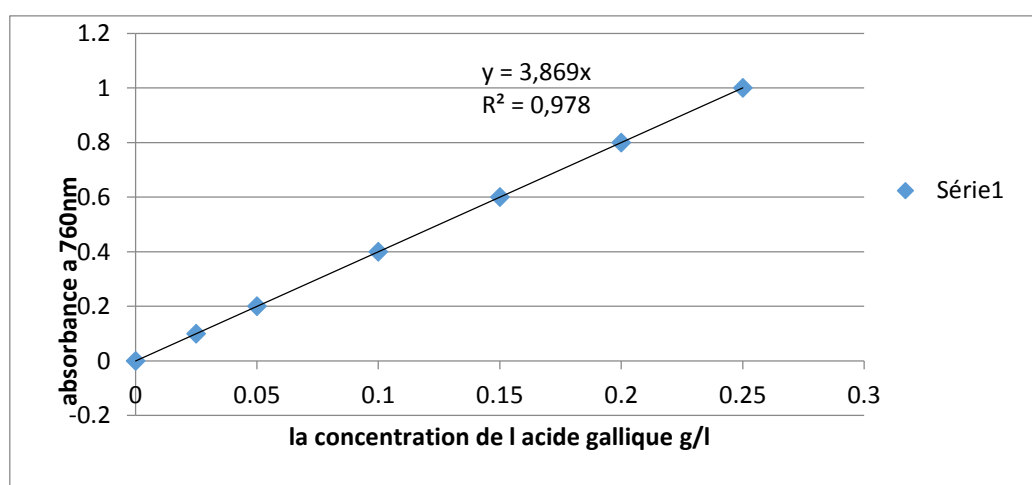


Figure 13. Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

IV.3.Préparations des souches bactériennes

L'activité antibactérienne à été réalisée à partir de 05 extraits bruts et huit antibiotiques sur sept souches provenant du laboratoire de microbiologie de l'université Abbés Laghrour- kenchela (Tableau 06).

Tableau 06. Souches bactériennes utilisées dans l'étude.

Souches	Gram	Références
<i>Staphylococcus aureus</i>	(G+)	(ATCC25923)
<i>Salmonella sp</i>	(G-)	Souche sauvage
<i>Listeria monocytogenes</i>	(G+)	(ATCC 25922)
<i>Escherichia coli</i>	(G-)	(ATCC 25922)
<i>Acenitobacter humanii</i>	(G-)	(ATCC 19606)
<i>Klebseilla oxytoca</i>	(G-)	(ATCC 25922)
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	(G-)	(ATCC 27853)

IV.3.1. Revification des souches bactériennes

Dans un 1^{er} temps on prépare des tubes contenant 05ml de bouillon nutritif, puis on racle deux ou trois colonie bactériennes avec l'anse de platine et on les introduit dans les tubes, le tout est vortexé pour homogénéisation. Les solutions sont comparées avec l'étalon (mac-farland), pour estimer la charge bactérienne, ensuite les tubes seront incubés à 37°C, de 18h à 24h (figure 14).

IV.3.2. Repiquage

Avec une pipette pasteur, une goutte de bouillon préalablement incubé est déposé sur les boites de Pétri qui contiennent de la gélose nutritif puis elles sont étalées selon la méthode des stries puis incubées a 37°C de 18h à 24h.

IV.3.3. Ecouvillonnage

Avec l'anse de platine, des colonies bien visibles seront introduites dans des tubes contenant 9ml d'eau physiologique pour être ensuite diluées dans un tube qui contiens 9ml d'eau physiologique, ensuit avec un couvions stérile les solutions sont étalées sur les boites de Pétri qui contiennent La gélose Muller- Hinton (figure 14).

IV. 4. Etude de l'Activité antibactérienne des cinq extraits bruts

L'activité antibactérienne des extraits a été réalisée selon la méthode de diffusion en milieu solide (méthode des disques) suivant la technique de NCCLS (National Committee For Clinical Laboratory Standar).

IV.4.1. Méthode de diffusion en milieu solide

Le principe consiste à mesurer les diamètres de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne autour d'un disque de cinq mm de papier buvard avec un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer, il est imprégné de 20 μ l d'extrait et déposée sur la surface de la gélose Muller-Hinton (4 mm de diamètre) répartie uniformément (figure 14).

➤ Protocole

La gélose Muller- Hinton est fondue au bain-marie, puis est coulée dans des boites de pétri. Les géloses sont pré séchées 30 min à 37°C avant utilisation. La souche bactérienne obtenue à partir d'une culture de 18 heures (phase stationnaire) sur milieu d'isolement est raclée à partir des colonies bien isolées et parfaitement identiques, puis mise à l'aide d'une anse dans à 10 ml d'eau physiologique.

L'inoculum doit être ajusté en ajoutant de la culture s'il est trop faible ou bien de l'eau physiologique s'il est trop fort. L'ensemencement doit se faire dans 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

L'ensemencement est réalisé sur une boite de pétri contenant le milieu MH déjà prêt à l'emploi. La solution bactérienne est étalée sur la surface de toute la boite par un écouvillon.

Les boites sont laissées pendant 15 minutes à température ambiante, puis incubées pendant 18 heures à 37°C. La lecture est faite avec précision en mesurant les diamètres des zones d'inhibition avec une règle précise.

Chaque boite contient 04 disques : 03 disques du même extrait et un disque témoin (solvant brut ou eau) (figure 14).

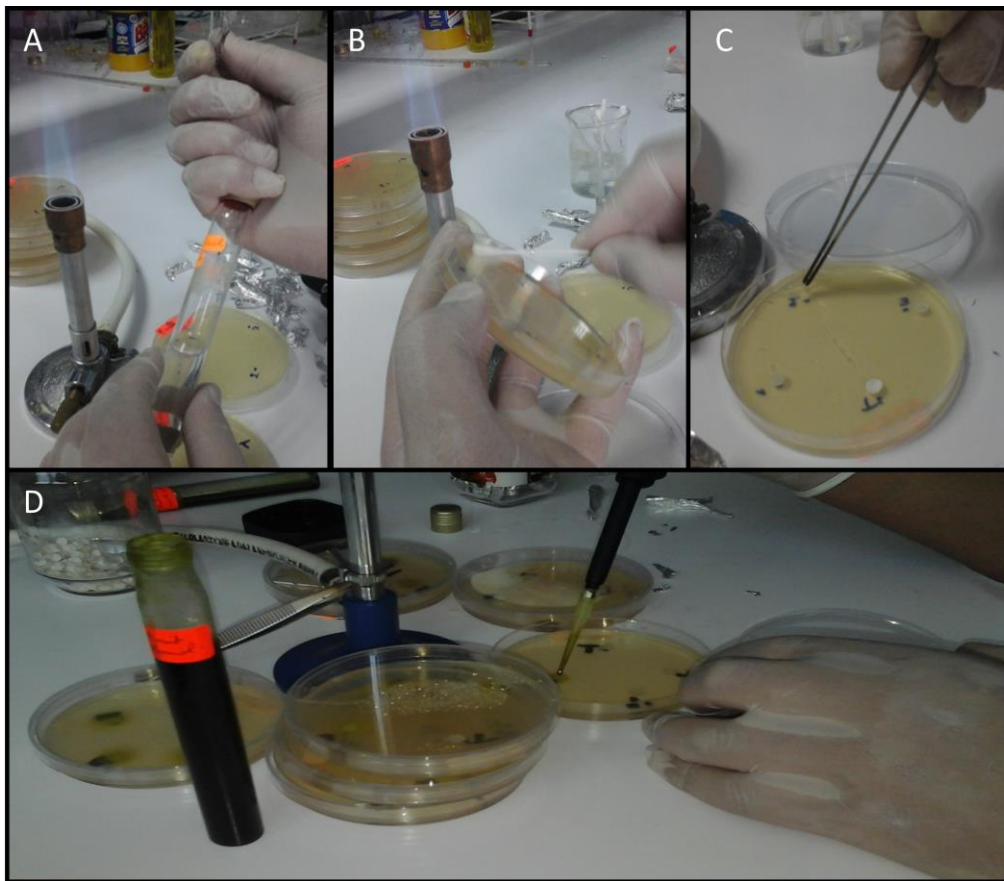


Figure 14. Préparations des souches bactériennes.

A : revivification ; B : repiquage ; C : écouvillonnage ; D : dépôt des disques.

IV.5. Teste des huit antibiotiques (Antibiogrammes)

Le principe de l'antibiogramme consiste à placer la culture de bactérie en présence de ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. On place plusieurs disques d'antibiotiques sur une souche bactérienne déposée dans une boîte de pétri. Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre de la zone d'inhibition qui entoure le disque d'antibiotique : souche sensible, intermédiaire ou résistante en comparaison avec la fiche technique des antibiotiques.

L'activité antibactérienne des antibiotiques (Antibiogrammes) sur nos sept souches bactériennes a été utilisée à partir des huit antibiotiques suivants : **tétracycline, lincomycine, spiromycine, oxolyne, aoxilline, erythromycine, streptomycine, clindomycine.**

IV.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB)

La méthode de dilution en milieu liquide permet de déterminer les paramètres de la concentration minimale inhibitrice (CMI), et la concentration minimale bactéricide (CMB) d'inhibition de la croissance bactérienne par les extraits. La concentration minimale bactéricide (CMB) est définie comme étant la concentration minimale d'extrait ne laissant pas de bactéries survivantes de l'inoculum après incubation à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

La méthode utilisée par dilution en milieu liquide de Mueller Hinton (MH) sur des microplaques, à fond en U (plaque à microtitration) (figure 15).

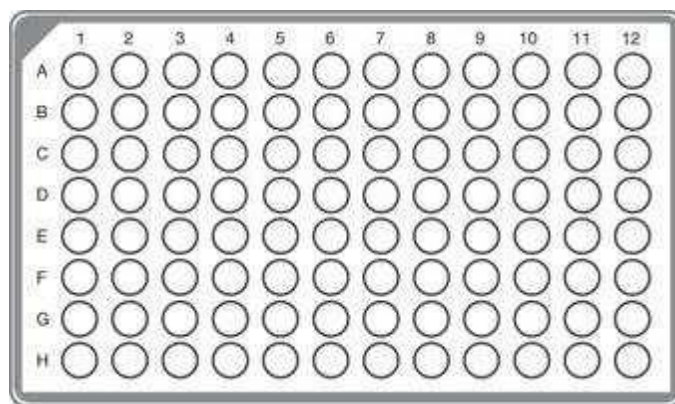


Figure 15. Microplaque à 96 puits pour la détermination des paramètres CMI et CMB.

➤ Protocole

Tout d'abord, 90 µl de milieu MH sont ajoutés dans les puits 1 à 8 (pour chaque extrait, sept souches ont été testées), ainsi que dans les puits 11 un témoin et 12 sont ajoutée 100 µl du milieu MH et de l'extrait respectivement. Ensuite, 100 µl de l'extrait sont déposés dans les puits A1 à H1. Des dilutions successives (100 µl d'A1 dans A2 et ainsi de suite). De plus, 10 µl de la suspension bactérienne (concentration est de 10⁴ bactéries/ml) dans les puits A à H pour obtenir un volume final de 200 µl, les microplaques sont mises à l'étuve pendant 24 heures à 37 °C. La lecture est faite à 24 heures. Les puits présentant des troubles sont considérés étant positifs (+), les puits clairs représentent une croissance bactérienne négative (CMI) (figure 16).

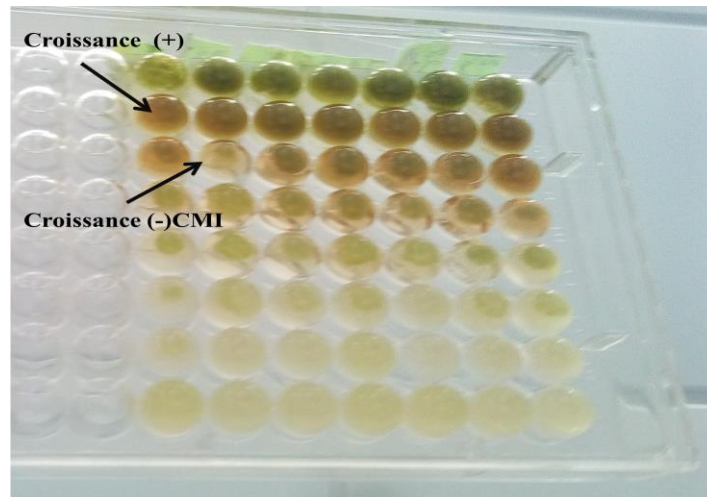


Figure 16. Exemple De lecture de la CMI sur microplaque.

Pour déterminer la CMB, 100 μ l des puits présentant une CMI (pas de croissance) sont misse dans des tubes contenant 03 ml de bouillon MH est incubées à l'étuve pendant 24heures à 37 °C.les premières tubes ne contenant pas des troubles présente la CMB (figure17).

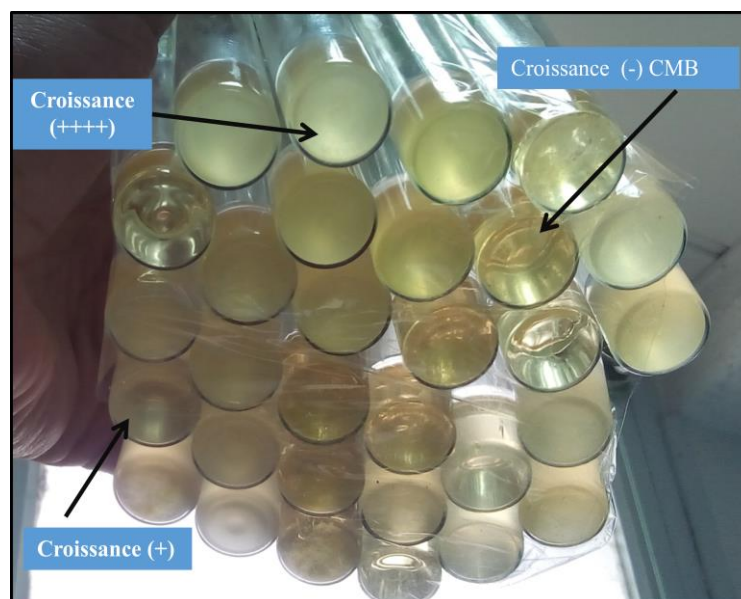


Figure 17. Lecture de la CMB.

VI.7. Statistiques

Les résultats ont été analysés par le test ANOVA (Analyse of Variance), suivi par le test de comparaisons multiples en utilisant (HSD), le seuil d'erreur est estimé à 0.05. (referance)

V. Résultats et discussion

V.1. Rendement des extraits

Le rendement de cinq extraits : aqueux, de méthanol, d'éthanol, d'acétone et d'hexane est représenté dans la (figure 18), la comparaison entre les groupes sont représentées dans le (tableau 07) le rendement de chaque extrait est exprimé en mg par rapport a la matière sèche (MS) de feuilles, les extraits sont la moyenne de 3 essais \pm SD.

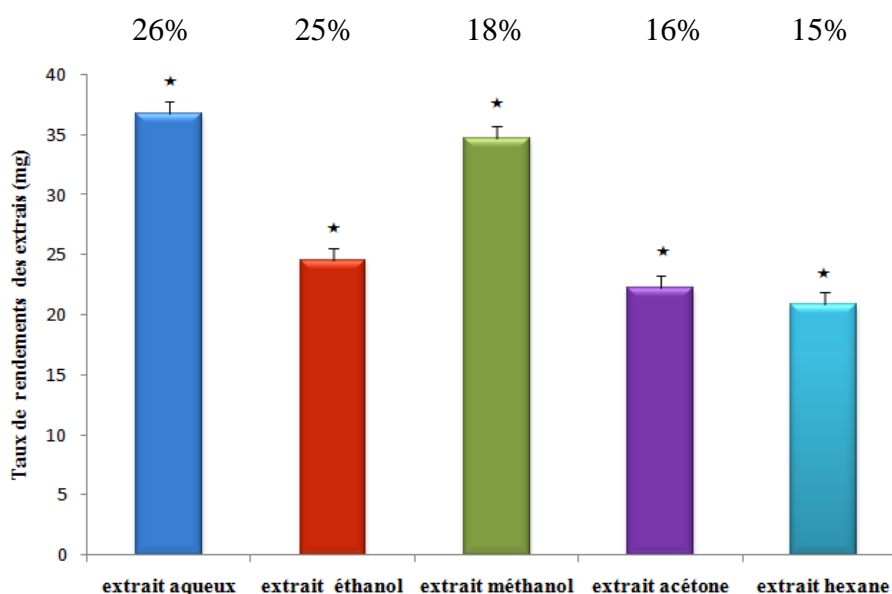


Figure 18. Rendement des extraits de feuilles d'*Olea europaea sativa*.

Les résultats montrent que le rendement de nos cinq extraits est très hautement significatif ($p < 0.0001$). L'extrait aqueux (26%) 36,94 mg, représente le plus grand rendement, suivi de l'extrait de méthanol (25%) 34,95 mg, puis respectivement l'extrait d'éthanol (18%) 24,47 mg, l'extrait d'acétone (16%) 22.40 mg et l'extrait d'hexane (15%) 20.75 mg.

L'eau paraît avoir un pouvoir d'extraction élevé par rapport aux autres solvants. Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relative et semble être lié aux propriétés génétiques des feuilles ainsi qu'à l'origine géographique, et aussi aux méthodes d'extraction appliquées (**Georgantelis et al, 2007**).

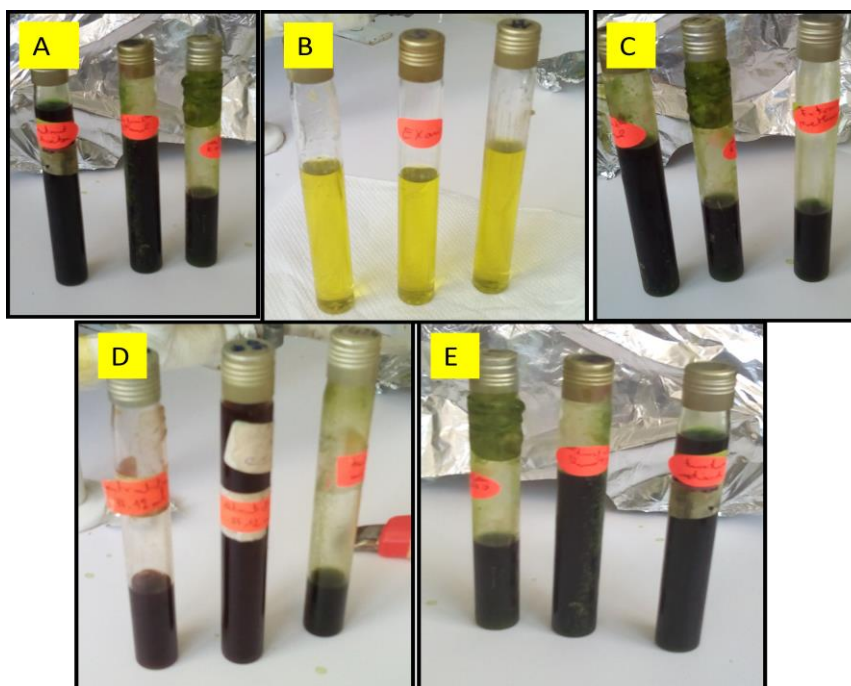


Figure 19. Aspects de cinq extraits de feuilles d'*Olea europaea sativa*.

A : extrait éthanol ; B : extrait hexane ; C : extrait méthanol ; D : extrait aqueux ; E : extrait acétone.

L'aspect des cinq extraits diffère en quantité et couleur : marron foncé (extrait aqueux), vert pour les extraits : d'éthanol, de méthanol, d'acétone et le jaune claire (extrait hexane). Cela peut être expliqué par la différence de composition de chaque extrait, d'une part et d'autre part de l'effet du solvant.

Tableaux 07. Classement et regroupements des groupes non significativement différents de nos extraits.

Modalités	Moyenne	Regroupements
Aqueux	36,940	A
Méthanol	34,957	B
Ethanol	24,477	C
Acétone	22,400	D
Hexane	20,757	E

Le résultat montre une nette différence très hautement significative ($p < 0.0001$) entre le rendement de nos extraits. Cela peut être expliqué par la nature du solvant et son effet sur les feuilles. Nos résultats conviennent tout à fait aux travaux de (Larib *et al* 2011).

V. 2. Teneur en polyphénols totaux

La teneur en polyphénols des cinq extraits est représentée dans la (figure 20) elle est exprimée en mg/acide gallique équivalent MS. Les valeurs représentent la moyenne de 3mesures \pm SD.

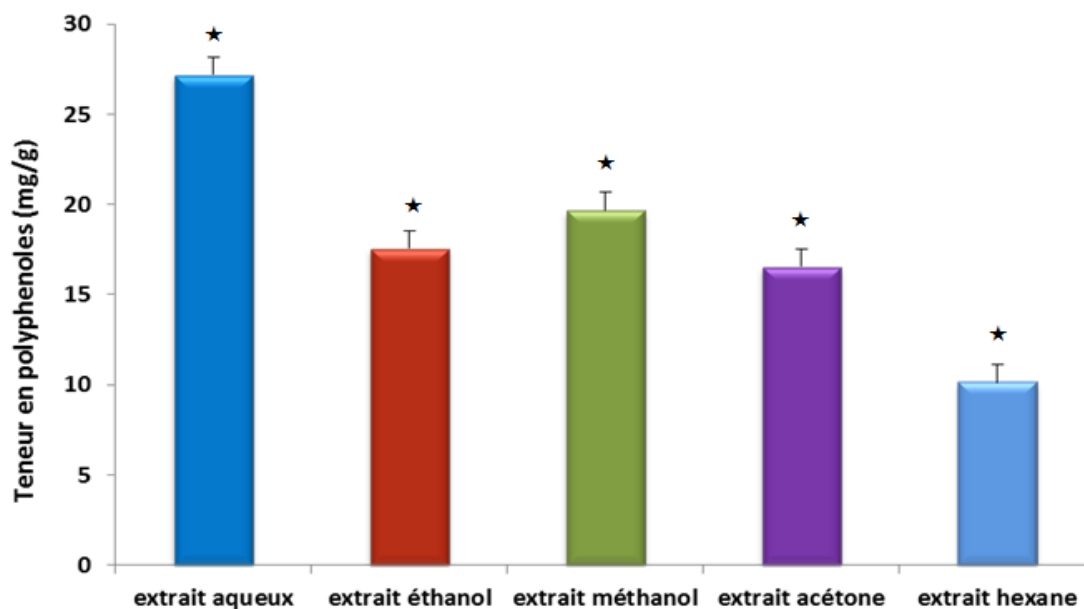


Figure 20. Teneur en polyphénols des extraits de feuilles d'*Olea europaea sativa*.

Les résultats montrent que la teneur des extraits est très hautement significative. L'extrait aqueux 27.18 mg/g MS (29%), représente la plus grande teneur en polyphénols, suivi de l'extrait méthanol et l'extrait éthanol à teneur 19.75 mg/g MS (19%), puis de l'extrait acétone 16.54 mg/g MS (16.84%) et la teneur la plus faible est de l'extrait hexane 11.37 mg/g MS (11.37%).

Ces résultats pourraient être expliqués par le fait que la teneur en polyphénols est fonction du rendement des extraits.

La méthode de Folin-Ciocalteu choisie pour doser les polyphénols est une méthode qui satisfait aux critères de faisabilité et de reproductibilité. La méthode est bien standardisée, la grande longueur d'onde (765nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent coloré, c'est un test largement pratiqué dans les laboratoires de recherche à travers le monde (Bonnaillie *et al.* 2012).

Nos résultats sont proches aux travaux de (Larbi *et al* 2011) et de (Benkhales *et al*, 2013). En effet, d'autre étude telle que (Léger *et al*, 1999) ont obtenu des valeurs qui varient entre 40 à 700 mg. Alors que (Yaakoubi *et al*, 2010) ont obtenu des teneurs beaucoup plus élevées en composés phénoliques qui peuvent atteindre jusqu'à 9 g/l.

V.3. Activité antibactérienne des extraits

L'activité antibactérienne des cinq extraits estimée par la mesure de la zone d'inhibition en millimètre (mm) contre les sept souches bactériennes est représentée dans la (tableau 08) et (figure 20). Chaque valeur de diamètre de zone d'inhibition représente la moyenne de trois essais \pm SD.

Tableau 8 : Estimation des zones d'inhibitions des cinq extraits sur les souches étudiées.

Extrait	Aqueux	Ethanol	Méthanol	Acétone	Hexane
Souche					
<i>S. aureus</i>	24,33 \pm 2,08 (A)	15 \pm 1 (A)	12,33 \pm 1,52 (A)	13,33 \pm 0,57 (A)	8 \pm 1 (A)
<i>Salmonella</i>	30,33 \pm 1,52 (AB)	14,33 \pm 0,57 (AB)	14,33 \pm 3,05 (AB)	17,66 \pm 2,51 (A)	9,33 \pm 2,08 (A)
<i>L. monocytogenes</i>	25,66 \pm 2,04 (AB)	15 \pm 1 (AB)	10,66 \pm 0,57 (ABC)	18,66 \pm 0,57 (A)	07,33 \pm 1,52 (A)
<i>E. coli</i>	19,66 \pm 0,57 (AB)	16,66 \pm 1,15 (AB)	11 \pm 1 (BC)	17,66 \pm 1,52 (A)	9,33 \pm 4,93 (A)
<i>A. bumanii</i>	24 \pm 1,64 (AB)	12,66 \pm 1,52 (AB)	12,66 \pm 0,57 (BC)	15,66 \pm 1,154 (A)	08,33 \pm 0,57 (A)
<i>K. oxytoca</i>	28 \pm 1,08 (B)	14,66 \pm 1,15 (B)	17,66 \pm 0,57 (C)	16,66 \pm 2,08 (AB)	09,33 \pm 1,52 (A)
<i>P. aeruginosa</i>	9,50 \pm 1,5 (C)	9 \pm 1 (C)	16,33 \pm 1,154 (C)	9,33 \pm 3,51 (B)	0.00 (B)

Les résultats après traitement par (HSD), montrent des différences très hautement significatifs de l'effet antibactérien des cinq extraits contre l'ensemble de souches testées.

A, B, et C sont des lettres portées en indice des moyennes pour le test de Comparaison. Elles sont issues du test statistique appliqué ANOVA. Ainsi, dans chaque colonne, la même lettre ne présente pas de différences significatives au seuil 5%.

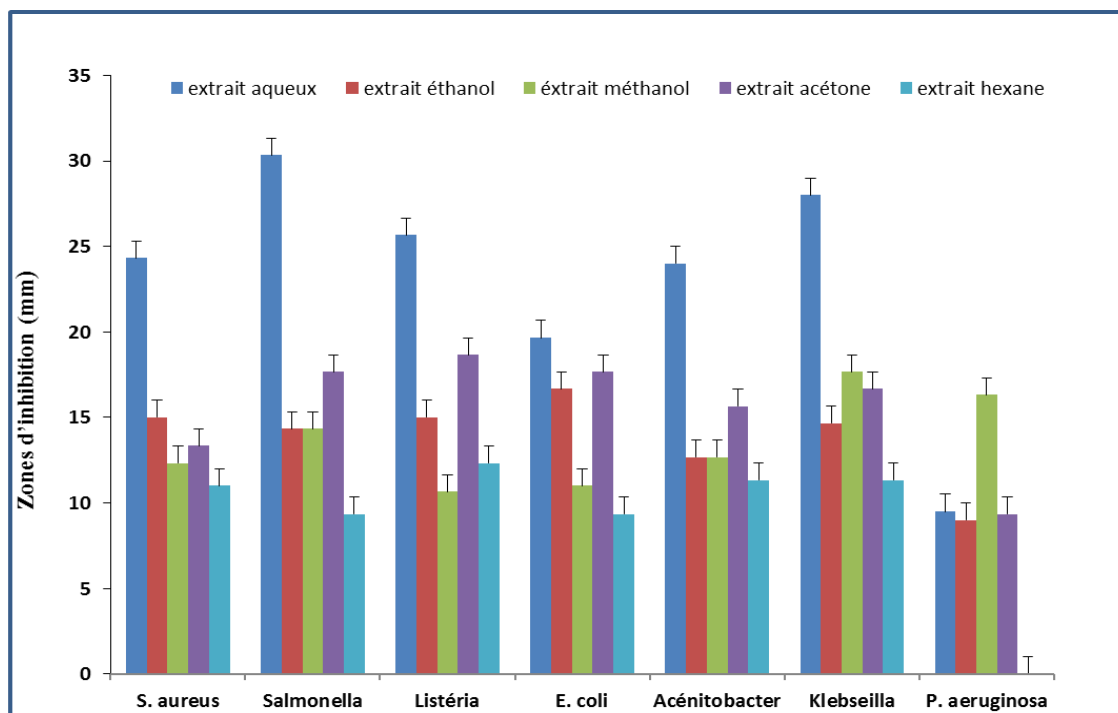


Figure 21. Activité antibactérienne des extraits des feuilles d'*Olea europaea sativa*.

La comparaison entre les extraits vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) a montré que l'extrait aqueux a la plus forte activité avec une zone d'inhibition (24.33 mm), les extraits : éthanol, méthanol, acétone, ne montrent pas une différence d'activité entre eux sur cette souche, respectivement par une zone d'inhibition (15, 12.33, 13.33 mm). L'extrait d'hexane a la moindre activité avec une zone d'inhibition de (11mm) (tableau 9).

Tableau 9 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents pour *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

Modalités	Moyenne	Regroupements
Extrait Aqueux	24,333	A
Extrait Ethanol	15,000	B
Extrait Acétone	13,333	B C
Extrait Méthanol	12,333	B C
Extrait Hexane	11,000	C

Pour la souche *salmonella sp*, les mêmes résultats que la souche *S.aureus* avec une zone d'inhibition de (30.33 mm) pour l'extrait aqueux. Les extraits : éthanol et méthanol ont une activité identique avec une zone d'inhibition (14.33 mm) par rapport à l'extrait d'acétone avec une zone d'inhibition (17.66 mm) (tableau 10).

Tableau 10. Classement et regroupements des groupes non significativement différents pour *Salmonella sp.*

Modalités	Moyenne	Regroupements	
Extrait Aqueux	30,333	A	
Extrait Acétone	17,667	B	
Extrait Ethanol	14,333	B	C
Extrait Méthanol	14,333	B	C
Extrait Hexane	9,333	C	

Pour la souche *Listeria monocytogenes* (ATCC 25922), l'extrait aqueux a la plus grande activité (36.94 mm), suivi de l'extrait méthanol (34.95 mm), puis l'extrait éthanol (24.47 mm) et l'extrait acétone (22.40 mm), et à la fin l'extrait hexane (20.75 mm) (tableau 11).

Tableau 11. Classement et regroupements des groupes non significativement différents pour *Listeria monocytogenes* (ATCC 25922).

Modalités	Moyenne	Regroupements	
Aqueux	36,940	A	
Méthanol	34,957	B	
Ethanol	24,477	C	
Acétone	22,400	D	
Hexane	20,757	E	

Pour la souche *Escherichia coli* (ATCC 25922), les extraits : aqueux, acétone, éthanol ont la même activité, l'activité de l'extrait méthanol est proche de celle de l'éthanol. Alor que l'extrait d'hexane à la moindre activité (11 mm) (tableau 12).

Tableau 12 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents pour la souche *Escherichia coli* (ATCC 25922).

Modalités	Moyenne	Regroupements	
Extrait Aqueux	19,667	A	
Extrait Acétone	17,667	A	
Extrait Ethanol	16,667	A	B
Extrait Méthanol	11,000	B	C
Extrait Hexane	9,333	C	

Pour la souche *Acenitobacter bumani* (ATCC 19606), l'extrait aqueux a la plus grande activité (24 mm), les extraits méthanol, éthanol, acétone présentent la même

activité. L'extrait hexane a la moindre activité qui se rapproche de celle de l'extrait: méthanol, éthanol (tableau 13).

Tableau 13. Classement et regroupements des groupes non significativement différents pour *Acenitobacter humanii* (ATCC 19606).

Modalités	Moyenne	Regroupements	
Extrait Aqueux	24,000	A	
Extrait Acétone	15,667	B	
Extrait Ethanol	12,667	B	C
Extrait Méthanol	12,667	B	C
Extrait Hexane	11,000	C	

Dans le cas de la souche *Klebsiella oxytoca* (ATCC 25922), l'extrait aqueux a la plus grande activité (28 mm), les extraits méthanol, éthanol, acétone, hexane présentent la même activité (tableau 14).

Tableau 14. Classement et regroupements des groupes non significativement différents pour *Klebsiella oxytoca* (ATCC 25922).

Modalités	Moyenne	Regroupements	
Extrait Aqueux	28,000	A	
Extrait Méthanol	17,667	B	
Extrait Acétone	16,667	B	
Extrait Ethanol	14,667	B	
Extrait Hexane	11,333	B	

Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853), l'extrait méthanol a la plus grande activité (16.33 mm), les extraits, éthanol, acétone aqueux présentent la même activité. L'extrait hexane n'a présentée aucune activité (tableau 15).

Tableau 15. Classement et regroupements des groupes non significativement différents pour *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

Modalités	Moyenne	Regroupements	
Extrait Méthanol	16,333	A	
Extrait Acétone	9,333	B	
Extrait Ethanol	9,000	B	
Extrait Aqueux	8,000	B	
Extrait Hexane	0,000	C	

La comparaison de l'activité antibactérienne de chaque extrait vis-a-vis des souches est très hautement significative. La comparaison entre les souches a montré :

L'extrait aqueux a la plus grande action sur *Salmonella.sp* (30.33 mm), son effet sur les autres bactéries est similaire (*Klebseilla oxytoca* , *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus. aureus*) par contre son effet sur *Pseudomonas. Aeruginosa* est très faible (6,33 mm) (tableau 16).

Tableau 16. Classement et regroupements des groupes non significativement extraits différents : aqueux

Modalités	Moyenne	Regroupements
<i>Salmonella sp</i>	30,333	A
<i>Klebseilla oxytoca</i>	28,000	A B
<i>Listeria monocytogenes</i>	25,667	A B
<i>Staphylococcus. Aureus</i>	24,333	A B
<i>Acenitobacter bumanii</i>	24,000	A B
<i>Echerichia Coli</i>	19,667	B
<i>Pseudomonas. Aeruginosa</i>	6,333	C

L'extrait éthanol a la plus grande action sur *Echerichia. coli* (16.66 mm). Son effet sur les autres bactéries est similaire (*Staphylococcus aureus*, *Klebseilla oxytoca*, *Listéria monocytogenes*, *Salmonella*) par contre son effet sur *Pseudomonas. Aeruginosa* est très faible (9 mm) (tableau 17).

Tableau 17. Classement et regroupements des groupes non significativement extraits différents : extrait éthanol.

Modalités	Moyenne	Regroupements
<i>Echerichia coli</i>	16,667	A
<i>Staphylococcus aureus</i>	15,000	A B
<i>Listeria monocytogenes</i>	15,000	A B
<i>Klebsiella oxytoca</i>	14,667	A B
<i>Salmonella sp</i>	14,333	A B
<i>Acenitobacter bumanii</i>	12,667	B
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9,000	C

L'extrait méthanol a la plus grande action sur *K oxytoca* (17.66 mm). Son effet est similaire (*P aeruginosa*, *Salmonella sp*). Cependant les souches *Salmonella*, *A bumanii*, *Staphylococcus aureus*, présentent le même effet. Par contre son effet sur *E Coli*, *L monocytogenes* est très faible (11 mm et 10.66 mm) (tableau 18).

Tableaux 18. Classement et regroupements des groupes non significativement différents extrait méthanol.

Modalités	Moyenne	Regroupements		
<i>Klebsiella oxytoca</i>	17,667	A		
<i>Pseudomonas. Aeruginosa</i>	16,333	A	B	
<i>Salmonella sp</i>	14,333	A	B	C
<i>Acenitobacter bumanii</i>	12,667	B		C
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,333	B		C
<i>Echerichia coli</i>	11,000	C		
<i>Listeria monocytogenes</i>	10,667	C		

L'extrait acétone à la plus grande action sur *Listeria monocytogenes* (18.66 mm), les zone d'inhibition des autre bactéries sont très proches de ce fait elles se regroupent dans la classe A sauf *Pseudomonas. Aeruginosa* qui présente la plus petite zone d'inhibition (9.33mm) classée dans le groupe B (tableau 19).

Tableau 19. Classement et regroupements des groupes non significativement différents extrait acétone.

Modalités	Moyenne	Regroupements	
<i>Listeria monocytogenes</i>	18,667	A	
<i>Salmonella sp</i>	17,667	A	
<i>Echerichia. Coli</i>	17,667	A	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	16,667	A	
<i>Acenitobacter bumanii</i>	15,667	A	
<i>Staphylococcus. Aureus</i>	13,333	A	B
<i>Pseudomonas. Aeruginosa</i>	9,333	B	

L'extrait hexane, à la même action sur toutes les bactéries, les zone d'inhibition des bactéries sont très proches, mais sont réduites par rapport aux autres extraits. De ce fait il son regroupe dans le group A. *Pseudomonas. Aeruginosa* n'a représenté aucune zone d'inhibition, rangée dans le groupe B et donc non sensible à l'extrait (tableau 20).

Tableau 20. Classement et regroupements des groupes non significativement différents : extrait hexane.

Modalités	Moyenne	
<i>Listeria monocytogenes</i>	12,333	A
<i>Klebsiella oxytoca</i>	11,333	A
<i>Staphylococcus. Aureus</i>	11,000	A
<i>Acenitobacter bumanii</i>	11,000	A
<i>Salmonella sp</i>	9,333	A
<i>Echerichia coli</i>	9,333	A
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,000	B

Les données de nos résultats pourraient être expliquées par la différenciation en composition et en teneur des composés de nos extraits. La plus grande action était celle de l'extrait aqueux vis-à-vis *salmonella.sp*, et l'activité la plus réduite est celle de l'extrait aqueux vis-à-vis *P Aeruginosa*, (figure 20).

Ces résultats sont compatibles à ceux trouvés par (**Aliabadi et al, 2012**), qui ont travaillé sur des extraits de feuille d'olivier de variété iranienne, de même que pour les résultats de (**Djenane et al, 2012**) qui ont travaillé sur des extraits de feuilles d'olivier variétés Azerradj cultivées dans la region de Tizi-Ouzou.

L'effet inhibiteur des composés phénoliques issu des feuilles d'olivier, sur *S.aureus* à été également démontré par (**Tafesh et al, 2011**).

Une forte sensibilité de la souche *Klebsiella.sp* aux extraits de feuilles d'olivier a été trouvée par (**Krukluoglu et al, 2004**). D'autre part, (**Tafesh et ses collègues 2011**) ont mis en évidence l'effet antibactérien des composés phénoliques issu des feuilles d'olivier vis-à-vis *E coli* et *Klebsiella sp*. La figure 21 montre les images des zones d'inhibitions des extraits sur les sept souches testées.

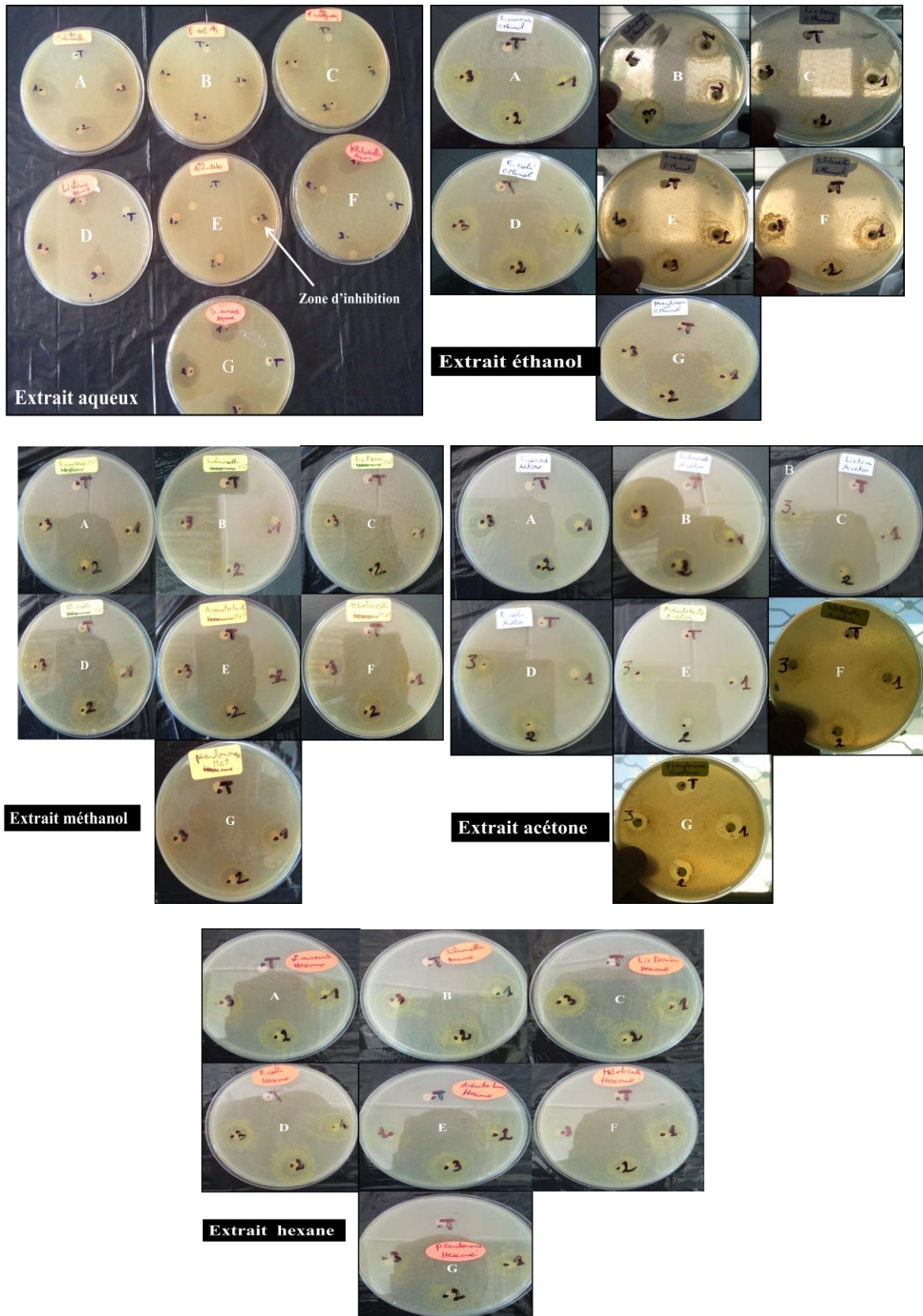


Figure 22. Zones d'inhibitions sur 07 souches des extraits : aqueux ; éthanol ; méthanol ; acétone ; hexane.

A :*Staphylococcus aureus* ; B :*Salmonella sp* ; C : *Listeria monocytogenes* ;D : *Escherichia coli* ;E : *Acenitobacter bumanii* ; F :*Klebseilla oxytoca* ; G :*Pseudomona aerogenosa*.

V.4. Activité antibactérienne des antibiotiques (antibiogrammes)

L'activité antibactérienne des huit antibiotiques (**tétracycline, lincomycine, spiromycyne, oxolyne, amoxilline, erythromycine, streptomycine, clindomycine**) estimée par la mesure de la zone d'inhibition (mm) contre les sept souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp*, *Listeria monocytogenes*, *Echerichia. Coli*, *Acenitobacter bumanii*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas. Aeruginosa*) est représentée en termes de sensibilité ou résistance dans le (tableau 21).

Tableau 21. Résultats des antibiogrammes contre les 07 souches bactériennes.

Souches	<i>S aureus</i>	<i>Salmonella sp</i>	<i>L monocyto -genese</i>	<i>E coli</i>	<i>A bumanii</i>	<i>K oxytoca</i>	<i>P aeruginosa</i>
Antibiotiques							
Tétracycline	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
Lincomycine	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Résistante	/	Sensible
Spiromycyne	/	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Résistante
Oxolyne	/	Sensible	/	/	Resistante	Sensible	Sensible
Amoxilline	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Résistante	Resistant	Résistante
Erythromycine	Sensible	/	Sensible	Sensible	Sensible	/	Sensible
Streptomycine	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Résistante
Clindomycine	/	Sensible	Sensible	Sensible	Résistante	Sensible	Sensible

Les résultats montrent que la plupart des souches étudiées sont des souches sensibles. La souche *Acenitobacter bumanii* (ATCC 19606) est résistante à la **lincomycine, oxolyne, amoxilline** et à la **clindomycine**. *Klebsiella oxytoca* (ATCC 25922) est résistante à l'**amoxilline**, *Pseudomonas aerogenosa* (ATCC 27853) présente une résistance vis-à-vis **Streptomycine, amoxilline, spiromycyne**. Ces résultats d'antibiogrammes sont en accord avec nos extraits, par contre ces derniers n'ont présenté aucune résistance aux bactéries testées. Néanmoins les zones d'inhibition sont plus importantes vis-à-vis des antibiotiques. La figure 23 représente quelques exemples des antibiogrammes.

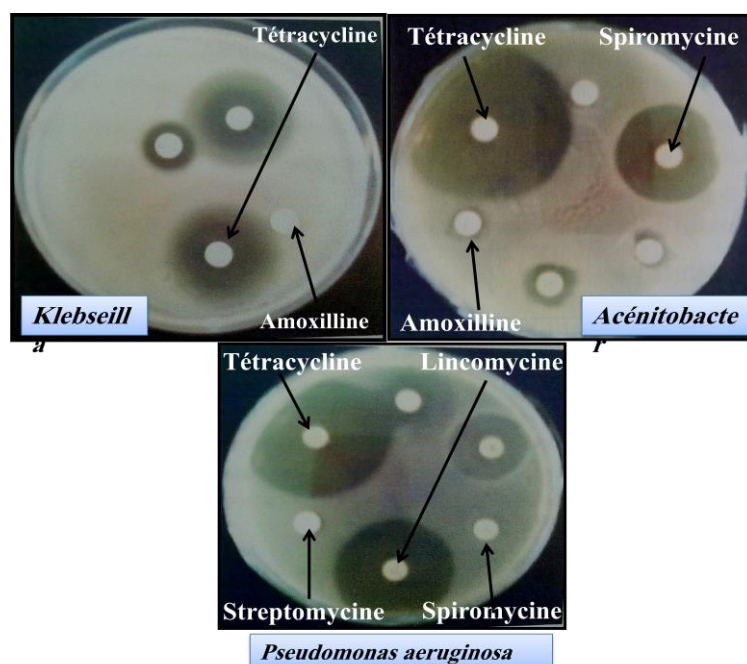


Figure 23. Résultats de l'antibiogramme sur *Klebsiella oxytoca* (ATCC 25922) *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) *Acenitobacter humanii* (ATCC 19606).

V.5. Concentration minimal inhibitrice (CMI) des extraits.

Tableau 22. Résultats de la CMI (concentration minimal inhibitrice) de nos extraits.

	Extrait aqueux mg/ml	Extrait éthanol mg/ml	Extrait méthanol mg/ml	Extrait acétone mg/ml	Extrait hexane mg/ml
<i>S. aureus</i>	25	6.25	12.5	6.25	25
<i>Salmonella sp</i>	3.12	1.56	6.25	3.12	25
<i>L.monocytogenes.</i>	6.25	3.12	12.5	6.25	50
<i>E. coli</i>	3.12	3.12	25	6.25	/
<i>A. humanii</i>	6.25	12.5	6.25	3.12	/
<i>K. oxytoca</i>	6.25	3.12	12.5	12.5	25
<i>P.aeruginosa</i>	6.25	25	25	12.5	50

Pour l'extrait aqueux la meilleure action est celle sur *Salmonella sp* et *E. coli* avec une concentration en extrait de 3.12 mg/ml, par contre la CMI du même extrait pour *S. aureus* est de 25 mg/ml

Dans le cas de l'extrait d'éthanol la CMI pour *Salmonella sp* est de : 1.56 mg/ml, la CMI pour *P.aeruginosa* .

Pour l'extrait méthanol la CMI la plus significative est celle sur *Salmonella sp* (6.25 mg/ml) par contre la CMI du même extrait pour *E coli* est de 25 mg/ml.

L'extrait acétone a la meilleure action sur *Salmonella sp* et *Acénitobacter bumanii* concentration de 6.25 mg/ml, par contre la CMI du même extrait pour *S. aureus* est de 25 mg/ml.

L'extrait hexane n'a pas une grande action sur nos souches *Salmonella sp* et *S. aureus*, *Klebseilla oxytoca* une CMI de 25 mg/ml, par contre la CMI du même extrait pour *S. aureus* est de 25 mg/ml pour, *Listéria monocytogenes* et *P.aeruginosa* une CMI de 50 mg/ml.

La CMI la plus importante est celle l'extrait d'éthanol sur la souche *Salmonella sp* avec une concentration en extrait de 3.12 mg/ml.

La figure 24 au dessous représente un exemple de la CMI.

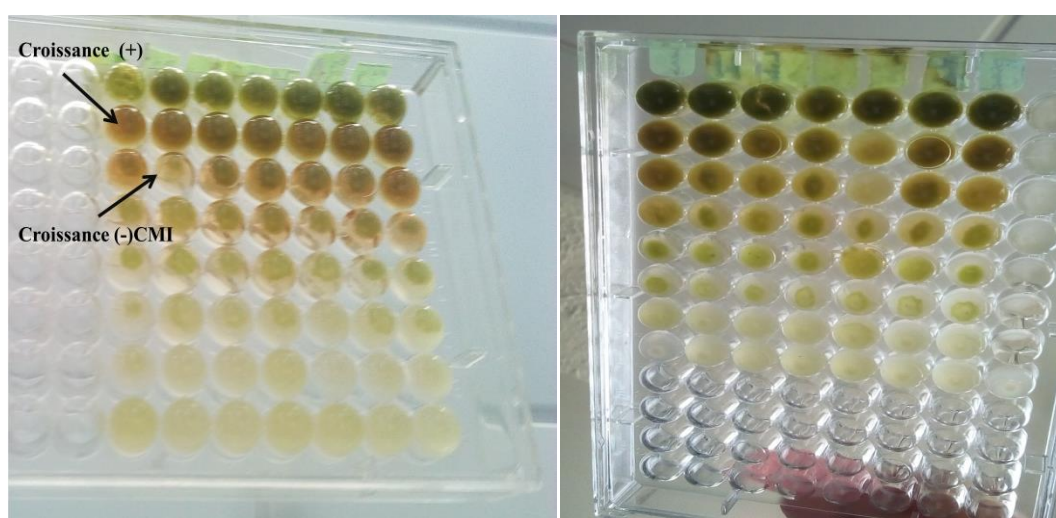


Figure 24. Résultats de la CMI

V.6. Concentration minimale bactéricide (CMB) des extraits.

Tableau 23. Résultats de la CMB (Concentration Minimal Bactéricide) de nos extraits.

	Extrait aqueux mg/ml	Extrait éthanol mg/ml	Extrait méthanol mg/ml	Extrait acétone mg/ml	Extrait hexane mg/ml
<i>S. aureus</i>	50	<50	25	25	/
<i>Salmonella sp</i>	25	25	25	25	/
<i>L.monocytogenes.</i>	50	50	12.5	25	/
<i>E. coli</i>	<50	25	25	<50	/
<i>A. bumanii</i>	25	50	50	50	/
<i>K. oxytoca</i>	25	50	25	50	/
<i>P.aeruginosa</i>	50	<50	<50	<50	/

Les résultats montrent que la meilleure CMB est pour l'extrait méthanol contre *L. monocytogenes*. L'extrait éthanol, l'extrait méthanol et l'extrait acétone la mauvaise CMB (<50) *P. aeruginosa*.

Les résultats obtenus sont similaires à ceux trouvés par (Traoré *et al*, 2012) pour *S. aureus* testée avec les extraits de feuilles d'*Annona senegalensis* Pers, et aux résultats de (Moroh *et al*, 2008) pour *E. coli* in vivo sur l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker).

Le résultat obtenu de l'extrait est dit bactéricide si le rapport d'activité (CMB/CMI) de cette fraction est supérieur ou égal à 4. Selon (Marmonier, 1988), cette fraction a une activité bactéricide à l'égard des germes testés, si ce rapport est compris entre 8 et 16 cette fraction a une activité bactériostatique, plus de 32 on dit que la bactérie est tolérante (Tableau 24). La différence d'activité entre ces fractions pourrait s'expliquer par la nature des molécules contenues dans chacune d'elles. En effet, il existe des différences de capacité de solubilisation et d'extraction des solvants, à l'égard des polyphénols. Selon (Cowan, 1999).

Tableau 24. Rapport de la CMB/CMI

	Extrait aqueux	Extrait éthanol	Extrait méthanol	Extrait acétone	Extrait hexane
<i>S. aureus</i>	2	</ 8	2	4	/
<i>Salmonella sp</i>	8.01	16.02	4	8	/
<i>L.monocytogenes.</i>	8	16.02	1	4	/
<i>E. coli</i>	< /16.02	8.01	1	8	/
<i>A. bumanii</i>	4	4	8	16.02	/
<i>K. oxytoca</i>	4	16.02	2	8	/
<i>P.aeruginosa</i>	8	</2	< / 2	</ 8	/

Le rapport de la CMB/CMI montre que :

- ✓ l'extrait aqueux a une action bactéricide sur les souches *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Klebsiella oxytoca* (ATCC 25922), *Acinetobacter bumanii* (ATCC 19606), et une action bactériostatique sur les souches : *Salmonella sp*, *Listeria monocytogenes* (ATCC 25922), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).
- ✓ L'extrait éthanol a une action *Acinetobacter bumanii* (ATCC 19606) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) et une action bactériostatique pour tout le reste.
- ✓ pour l'extrait méthanol, une action bactériostatique sur la souche *Acinetobacter bumanii* (ATCC 19606), et sur les 06 autres souches a une action bactéricide.

✓ L'extrait acétone *Listeria monocytogenes* (ATCC 25922) a une action bactéricide sur les souches *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), et une action bactériostatique pour tout le reste.

Dans l'ensemble, il apparaît que le spectre de l'activité antibactérienne varie selon l'origine des extraits testés, et le Gram des bactéries. D'après nos résultats, on peut constater que les bactéries à Gram positif sont les plus sensibles aux effets des extraits polyphénoliques par rapport aux Gram négatif qui se révèlent généralement moindre sensible. Ces résultats sont en parfait concordance avec plusieurs études (**koné et al, 2004 ; Georgantelis et al ,2007 ; Falleh et al, 2008**).

La sensibilité ou la résistance peut s'attribuer à la différence de structure de la paroi cellulaire des bactéries. Les bactéries à Gram négatif, en plus de la membrane cellulaire, possèdent une couche externe imperméable à la plupart des molécules (**Georgantelis et al, 2007**). L'absence de cette barrière chez le Gram positif permet le contact direct des constituants des extraits avec la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire bactérienne, entraînant une augmentation de la perméabilité aux ions et la fuite des constituants intracellulaires vitaux ou l'altération des systèmes enzymatiques bactériens (**Wendakoon & Sakagchi, 1995**).

L'inhibition de la croissance des bactéries a Gram négatif à été rapportée, avec les facteurs qui peuvent déranger l'intégrité de la cellule et/ou la perméabilité de la membrane, telle que les basses valeurs du pH (**Georgantelis et al, 2007**).

VI. Conclusion

L'étude que nous avons menée, nous a permis d'évaluer l'activité antibactérienne de cinq extraits : extrait aqueux, extrait d'éthanol, extrait de méthanol, extrait d'acétone et extrait d'hexane de feuilles d'olivier cultivé ou *Olea europaea sativa* de la variété Chemlal de l'est algérien (Oum El Bouaghi) vis-à-vis de sept souches bactériennes pathogènes: *Staphylococcus.aureus*, *Salmonellas.sp*, *Listeria.monocytogenes*, *Escherichia.coli*, *Acénitobacter.bumanii*, *Klebseilla.oxytoca*, *Pseudomonas.Aeruginosa*.

Les résultats obtenus ont montré que l'activité antibactérienne des extraits est très hautement significative ($p < 0,0001$) sur l'ensemble des souches. D'autre part des différences de cette activité entre les extraits ont été aussi observées contre la même souche et de chaque extrait contre les souches. A titre de conclure, la plus grande activité était celle de l'extrait aqueux vis-à-vis de *salmonella.sp*, par contre son effet sur *Pseudomonas. aeruginosa* est très faible.

Ces résultats peuvent être liés aux composés bioactifs de feuilles d'olivier comme les polyphénols dont nous avons révélé une différence très hautement significative ($p < 0,0001$) en teneur des polyphénols des extraits et d'où l'extrait aqueux représente la plus grande teneur et l'extrait hexane la plus faible. De même l'effet antibactérien peut être influencé par la nature de composés bioactifs contenu dans chaque extrait et qui à notre avis, cette nature elle-même est fonction du solvant qui a différencié d'une manière significative le rendement et la teneur des extraits. En outre, les caractéristiques de chaque bactérie semblent aussi être en cause. Les bactéries à Gram positif sont les plus sensibles aux extraits par rapport aux Gram négatif.

Nos extraits ont aussi montré leur efficacité autant que les antibiogrammes réalisés à partir de huit antibiotiques : tétracycline, lincomycine, spiromycine, oxolyne, amoxilline, erythromycine, streptomycine, clindomycine en termes de comparaison sensibilité / résistance. Il est à noter que les zones d'inhibition étaient plus importantes pour les antibiotiques et cela est sûrement dû aux doses utilisées des extraits qui doivent être optimisées au futur c'est-à-dire dose / effet. Il est à noter que nos extraits ont montré une efficacité contre certaines bactéries résistantes aux certains antibiotiques.

La méthode de concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB) a confirmé cet effet antibactérien. La CMI la plus importante est celle l'extrait d'éthanol sur la souche *Salmonella sp.* Par contre elle est moins importante pour l'extrait d'hexane sur *L.monocytogenes* et *P.aeruginosa*. L'extrait de méthanol a montré la meilleure CMB contre *L.monocytogenes* par contre l'extrait d'éthanol, l'extrait de méthanol et l'extrait d'acétone ont montré la mauvaise CMB sur *P.aeruginosa*. Le rapport de la CMI/CMB a permis de caractériser l'action bactéricide ou bactériostatique des extraits. Les extraits ont montré les deux actions par rapport à telle ou telle bactéries.

Nos résultats sont en accord avec quelques données de la littérature concernant l'effet positif de feuilles d'olivier en général sur les bactéries, mais la comparaison reste pourtant difficile à cause de méthodes utilisées spécifiques pour chaque recherche.

Nous concluons que Les résultats obtenus sont très encourageants et ouvrent une voie prometteuse pour l'utilisation des feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens naturels.

A la fin, Il paraît intéressant de tirer de ce travail comme perspectives :

- ✓ d'identifier les différents constituants des composés phénoliques et autres des extraits.
- ✓ d'évaluation l'activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis d'autres bactéries, champignons pathogènes, parasites et définir leur mode d'action.
- ✓ de confirmation l'activité antibactérienne mise en évidence *in vivo*.
- ✓ de tester l'aptitude de ces extraits à développer d'autres activités biologiques en utilisant différentes techniques.
- ✓ de comparé l'étude à d'autres variétés d'olivier.
- ✓ Et en fin de caractériser les mécanismes moléculaires de l'action des bactéries vis-à-vis des composés bioactifs.

Références bibliographiques

Aliabadi M.A., Darsanaki R.K., Rokhi M.L., Nourbakhsh M., Raeisil G., 2012. Antimicrobial activity of olive leaf aqueous extract. *Scholars Research Library*; 3 (8):4189-4191.

Amoretti M.C., Cornet G., 1985. Le livre de l'olivier. *EDISUD*. 191p.

Andrews P., Busch J. L. C. H., Joode T. D., Groenewegen A. & Alexandre H., 2003. Sensory properties of virgin olive oil polyphenols: identification of deacetoxy-ligstroside aglycon as a key contributor to pungency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(5): 1415-1420.

Argenson C., Régis S., Jourdain JM., Vaysse P., 1999. L'olivier. Ed. Chirat, N° 8190, 240p.

Aruoma O.I., Spencer J.P.E., Butler J., Halliwell B., 1995. Comparative reaction of plant-derived and synthetic antioxidants with trichloromethylperoxyl radicals. *Free Rad. Res.* 22: 187-90.

Atefibu E.S., 2002. Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne d'*Acacia nilotica* var *adansoni*. Thèse pour obtenir le grade Docteur en pharmacie Université de Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal, 37p.

Ayan M., Kuzucu C., Durmaz R., Aktas E., Cizmeci Z., 2003. Analysis of three outbreaks due to *Klebsiella* species in a neonatal intensive care unit. *J Infect Control Hosp Epidemiol* 24: 495-500.

Baba Aissa F., 1990. Les plantes Médicinales en Algérie. Bouchéne et AD d'Iwan. Oued Znati. Algérie. p 181.

Baba Arbi H., 2010. « Importance relative d'exploitation des plantes médicinales dans la pharmacopée traditionnelle à l'Est du Sahara septentrional (cas de Ouargla et Touggourt », Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université de Ouargla).pp : 132.

Babayi H., Kolo I., Okogum J.I., 2004. The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogen microorganisms. *Biochemisten*. 16 (2) :102-105.

Bahaz M. & Rachdi H., 2010. « Quantification des principes actifs (Les composés phénoliques) de *Rhinolepis Lonadoides* Coss (Tichert) », Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université de Ouargla).pp : 115-120.

Barka S. & Ben Attallah S., 2010. « L'effet de deux plantes médicinales sur quelques bactéries pathogènes », Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université de Ouargla). P3-P13.

Barros L., Calhella R.C., Vaz J.A., Ferreira I.C.F.R., Baptista P., Estevinho L.M., 2007. Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild *edible mushrooms* methanolic extracts. *European Food Research and Technology*, Vol. 225, Issue: 2, pp. 151–156.

Benarous K., 2009. « Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes: a-amylase, trypsine et lipase », Mémoire de fin d'étude d'Ingénieur d'état en génie biologique (université Amar Telidji Laghouat). pp : 80-95.

Benlemlih M., Ghanam J., 2012. Polyphenols d'huile d'olive, trésors santé. *Medicatrix*. 128p.

Bensemmane A., 2009. Le trait d'union des opérateurs économiques pour le Renouveau du Monde Agricole et Rural. *1^{er} forum méditerranéen de l'oléiculture*. pp : 1111- 4762.

Bergogne-Berezin E & Dellamonica P., 1995. Antibiothérapie en pratique clinique. Ed. Masson, Paris, p. 486.

Bidet D., Gagnault J.C., Girard P., Trotin F., 1987. Inflammation, allergie, douleur et acide arachidonique : du jardin des Hespérides à la cascade de l'acide arachidonique : Les flavonoïdes. *L'actualité chimique*. pp : 89-97.

Bisignano G ; Tomaino A ;Lo Cascio R ; Crisafi G ; Uccella N ; Saija A., 1999. On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *J Pharm Pharmacol*. Vol. 51. pp. 971.

Boizot N., Charpentier J.P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques. pp : 79-82.

Bomeman J., L et Calmon J., P., 1991. Les Herbicides (mode d'action et principe d'utilisation). -Rene Scalla .Institut national de la recherche Agronomique. Paris. France. p 450.

Bonnaillie C., Salacs M., Vassiliova E., Saykova I. 2012. Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea L.*).*Revue de génie industriel.* 7 :35-45.

Botia J. M., Ortuno A., Benavente-Garcia O., Baidez A. G., Frias J., Marcos D. & Del Rio J. A., 2001. Modulation of the Biosynthesis of Some Phenolic Compounds in *Olea europaea L.* Fruits: Their Influence on Olive Oil Quality. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(1), 355-358.

Bouali F., 2011. Caractérisation morphologique et répartition géographique (SIG) de l'olivier (*Olea europea L.*), dans la région des Aurès. pp :25-30.

Bouhadjra K., 2011. Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. Mémoire de magister. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. 94p.

Brenes M., Hidalgo F.J., Garcia A., Rios J.J., Garcia P., Zamora R., 2000. Pinoresinol and 1-acetoxypinoresinol, two new phenolic compounds identified in olive oil./ *Am. Oil Chem. Soc.* 77: 715-720.

Brown J. E., Khodr H., Hider R.C., Rice-Evans C., 1998. Structural dependence of flavonoid interactions with Cu^{2+} ions. *Biochem. J.* 330: 1173-1178.

Bruneton J., 1999.*Pharmacognosie, Phytochimie- Plantes médicinales-Techniques et documentations*,3 ème édition, Lavoisier, pp : 463, 661-670,721-730.

Bruneton J., 1993. Pharmacognosie et phytochimie. *Plantes médicinales plants*,Paris France Lavoisier. pp :278-279.

Burt, S. A., & Reinders, R. D., 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology* 36(3), 162-167.

Capasso R., Evidente A., Schivo L., Orru G., Marcialis M.A., Cristinzio G., 1995. Antibacterial polyphenols from Olive Oil Mill Waste Waters. *Applied Bacteriology*. 79: 393-398.

Caron M., Cols Jouve H., 1981. Le guide familial des plantes médicinales. Les éditions La Boétie deux coqs d'or. Paris .p 160.

Carson C. F., & Riley T. V., 1995. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Malaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*, 78, 264-269.

Chaouki S, 2012. *Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen: Anacyclus pyrethrum L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H2SO4 0.5 M.*. Thèse de doctorat.

Chiez R., 1982. Guide vert des plantes médicinales. Ed. Solar, p : 442.

CLSI., 2006. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility testing for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A7, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, Vol. 26, Issue: 2.

Cosentino S. & Tuberoso C. I. G., 1999. In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Letters in Applied Microbiology*, 29(2), 130-135.

Covas K., Nyssönen H E., Poulsen J., Kaikkonen HJ., Zunft. & Kiesewetter H., 2006. The effect of polyphenols in olive on heart disease risk factors: a randomized trial. *Ann. Intern. Med.*, 145 pp: 333-341.

Cowan M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*. 12: 564-570.

Cowan MM., 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microb. Rev.* Vol. 12. pp. 564-582.

Deans S.G. & Ritchie G., 1987. Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 5, 162-180.

Didrak M., 1999. Antimicrobial activities of the extracts of various plants (*Valex, Mimosa bark, Gallnut powders, Salvia sp*, and *Phlomis sp*). *Journal of biology*. 23: 241-248.

Didry N., Pinkas M., Torck M., 1982. Sur la composition chimique et l'activité antibactérienne des feuilles de diverses espèces de *grindelia*. *Pl. Med. Phytother.* 14: 7-15.

Dinan L., Harmatha J., Lafont R., 2001. Chromatographic procedures for the isolation of plant steroids. *Journal of Chromatography A.*, pp : 935, 105-123.

Djenane D., Yangüela J., Derriche F., Bouarab L., Roncales P., 2012. Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. *Nature & Technologie.* 7: 53-61.

Edeas M., 2007. Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie.* 5: 264-270.

Erdohan Z.Ô. & Turhan K.N., 2011. Olive leaf extract and usage for development of antimicrobial food packaging. *Science against microbial pathogens.* 10 : 101-110.

Erdohan Z.Ô. & Turhan K.N., 2011. Olive leaf extract and usage for development of antimicrobial food packaging. *Science against microbial pathogens.* pp : 120-132.

Euzeby J.P., 2000. Bactériologie Vétérinaire : Les *Listeria*. [En ligne]. Créé le : 25 Juin 2000. <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/nomstaxons.html>. (Consulté le 25 Avril 2010).

Faleiro M.L., Miguel M.G., Ladeiro F., Venancio F., Tavares R., Brito J.C., Figueiredo A.C. & Pedro L. G., 2003. Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of *Thymus*. *Letters in Applied Microbiology*, 36(1-5).

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies.* 2008; 331: 372-379.

Fauchère J.L. & Avril J. L., 2002. Bactériologie générale et médicale. Ellipses, Editions Paris, (365).

Fiorentino A., Gentili A., Isidori M., Monaco P., Nardelli A., Parrella A., 2003. environmental effects caused by olive mill Waste waters: toxicity comparison of low molecular-weight phenol Components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 51:1005-1009.

Galli C., Visioli F., 1999. Antioxydant and Other properties of phenolics in olives/olive oil, typical compounds of the Mediterranean diet. *Lipids*. 34: 23-26.

Georgantelis D., Ambrosiadis I., Katikou P., Blekas G., Georgakis SA., 2007. Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Méat Science*. 76: 172-181.

Ghazi F & Sahraoui S., 2005. Evolution des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de dattes communes: Tantboucht et Hamraïa. *Mémoire d'ingénieur. Institut national d'agronomie. Alger*. pp : 85.

Gibbons S., 2008. Phytochemicals for bacterial resistance-strengths, weaknesses and opportunities. *Planta Medica*, Vol. 74, Issue: 6, pp. 594-602.

H., 2003. Sensory properties of virgin olive oil polyphenols: identification of deacetylglucosylated aglycon as a key contributor to pungency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51 (5): 1415-1420.

Haraguchi H., Tanimoto K., Tamura Y., Mizutani K., Kinoshita T., 1998. Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*. *Phytochemistry*. 48: 125-129.

Harley J.P., Klein D.A., Prescott L.M., Sherwood L.M., Willey J.M., Woolverton C.J., 1997. *Microbiologie*, Ed. De Boeck, pp : 20-23

Hayase F., Kato M., 1984. Antioxidant compound of sweet potatoes. *J. Nutri. Sci. Vitaminol*. 30: 37-46.

Herbert R.B., 1989. The biosynthesis of secondary metabolite, *Chapman and Halle*. 2: 111-115.

Hilliard J.J., Krause H.M., Bernstein J.I., 1995. A comparison of active site binding of 4-quinolones and novel flavone gyrase inhibitors to DNA gyrase. *Adv. Exp. Med. Biol*. 390: 59-69.

Iserin P., 1997. Encyclopédie des Plantes Médicinales (Identification, Préparation, Soins). Larousse. Dorling Kindersley Limited. Londres. p 336.

Jans B., Glupezynski Y., Suetens C. & Van Cleemput Els., 2004. Enquête épidémiologique. pp : 60-65.

Jarlier V., Nordmann P., 2000. Entérobactéries et bêta-lactamines. In Freney J, Renaud F, Hansen W, Botler C. Précis de bactériologie clinique. Ed Paris; ed ESKA. pp 649-665.

Jonas D., Spitzmüller B., Daschner F.D., Verhoef J., Brisse S., 2004. Discrimination of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* phylogenetic groups and other *Klebsiella* species by use of amplified fragment length polymorphism. *J Reseach in Microbiology* 155: 17-23.

Jones J.D & Dangl J.L., 2006. The plant immune system. *Nature*, Vol. 444, pp. 323-329.

Kerboua M., 2003. La production et la consommation d'huile d'olive à l'horizon 2010 en Algérie. *Olivea*. 99: 56-58.

Kim H.P., Son K.H., Chang H.W., Kang S.S., 2004. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences*. 96: 229-245.

Koné W.M., Kamanzi-Atindehou K., Terreaux C., Hostettmann K., Traoré D., Dosso M., 2004. Traditional medicine in North Côte-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *J Ethnopharmacol*. 93: 43-49.

Korukluoglu M., Sahan Y., Yigit A., Tümay Özer E., Güçer S., 2004. *In vitro* antibacterial activity of olive leaf (*Olea europea L.*) extracts and their Chemical characterization. *Proceedings Book*. 291: 563-565.

Kunle O. & Okogun J., 2003. Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. *Phytomedicine*, 10, 59-61.

Lamnaouer D., 2001. Plantes médicinales du Maroc : Usages et toxicité. Département de pharmacie-toxicologie .Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan H .p 89.

Larousse., 2001. Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation et soins. 2ème Edition, Edition Larousse. Paris. p p : 74

Larpent J. P., 2004. *Listeria*. 3ème édition. Technique et documentation. Londres- Paris- *Listeria* .Précis de bactériologie clinique. 46 : 943- 952.

Lasage M.L., Navarro D., Maunier S., Sigoillot J.C., Lorquin J., Delattre M., 2001. Simple phenolic content in olive oil residues as function of extraction Systems, *Foodchem*. 75:501-507.

Lefranc F. & Kiss R., 2008. The sodium pump $\alpha 1$ subunit as a potential target combat apoptosis-resistant glioblastomas. *Neoplasia*, vol. 10, no. 3, pp. 198-206.

Leger C.L., 1999. Coproduits de l'huilerie d'olive : les composés phénoliques et leurs propriétés biologiques. *Oléagineux corps gras lipides*. 6(1) : 60-63.

Lis-Balchin M., Hart S.L. & Deans S.G., 2000. Pharmacological and antimicrobial studies on different tea-tree oils (Melaleuca alternifolia, Leptospermum scoparium or Manuka and Kunzea ericoides or Kanuka), originating in Australia and New Zealand. *Phytotherapy research*, 14(8), 623-629.

Loussert R. & Brousse G., 1978. L'olivier, ED maison neuve et la rousse .Paris.646 p.

Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechniques et universitaires romandes. p 192.

Mann C. M. & Markham J. L., 1998. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of Applied Microbiology*, 84, 538-544.

Marfak A., 2003. Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. *Thèse de doctorat. Université de Limoges*. 187p.

Markin D., Duek L., Berdicevsky I., 2003. In vitro antimicrobial activity of olive leaves. *mycoses*.46, 132-136.

Médina E., De Castro A., Romero C., Brenes M., 2006. Comparison of the Concentrations of Phenolic Compounds in Olive Oils and Other Plant Oils: Corrélation with Antimicrobial Activity/. *Agric. Food Chem*. 54: 4954-4956.

Medjbar M., Bouyoucef A., Benayad T., Zerrouki K., 2008. Caractérisation des Salmonelles dans les tueries avicole de la wilaya de Blida, Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie. pp : 158-161.

Mendoza-Yepes, M. J., Sanchez-Hidalgo, L. E., Maertens, G., & Marin-Iniesta, F. 1997. Inhibition of Listeria monocytogenes and other bacteria by a plant essential oil (DMC) en Spanish soft cheese. *Journal of Food Safety*, 17-47-55.

- Merghem R., 2009** .Elément de biochimie végétale. *Ed. Bahaeddine*. 171p.
- Milane H., 2004**. La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. *Thèse de doctorat de l'université de Louis Pasteur* ; pp. 13-36.
- Muanda F.N., 2010**. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques. *Thèse de doctorat. L 'université Paul Verlaine-metz*. 239p.
- Nauciel C., 2000**. Bctériologie médicale. Masson (Ed).Paris, 276p.
- Obied H.K., Bedgood Jr. D.R. Prenzler P.D., Robards K., 2007**. Bioscreening of australian olive mill waste extracts: biophenol content, antioxidant, antimicrobial and molluscicidal activities, *Food and Chemical Toxicology*. 45(7): 1238-1248.
- Okuda T., Kimura Y., Yoshida T., Hatano T., Okuda H., Arichi S., 1989**. Studied on the activities of tannins and related compounds ffrom médicinal plants and drugs. In : inhibitory effects of lipid peroxidation in mitochondria and microsome of liver. *Chem. Pharm. Bull.* 31: 1625-1631.
- Ouksili A., 1983**. Contribution à l'étude de la biologie florale de l'olivier europaea L. de la formation des fleurs à la pollinisation effective Doctoral dissertation, PhD thesis, Univ-Montpellier 2, 143p.
- Owen R.W., Mier W., Giacosa A., 2000**. Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phénols, simple phénols, simple phénols, secoiredoids, lignansandsqualene. *Food Chem. Toxicol.* 38: 647-659.
- Paganga G., Miller N., Rice-Evans C.A., 1999**. The polyphenolic content of fruit and vegetables and teir antioxidant activities. *Free Radie Res.* 30: 62-153.
- Patrick B., Ljean. & Michel S., 1988**. Bactériologie : Les bactéries des infections humaines, 1^{er} Ed Médecine- Sciences Flammarion, Paris, pp : 100-108-274.
- Pattnaik S. & Subramanyam V.R., 1996**. Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. *Microbios*, 86, 237-246.

- Peleg A.Y., Seifert H. & Paterson D.L., 2008.** *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev* 21:538-82.
- Peleg A.Y., Seifert H. & Paterson D.L., 2008.** *Acinetobacter baumannii*: emergence of a Relative à *Acinetobacter baumannii* producteur de BLSE type VEB-1 en Belgique. 21(3), 538-582.
- Pereira A.P., Ferreira I., Marcelino F., Valentão P., Andrade P.B., Seabra R., 2007.** phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molécules*. 12: 1153-1162.
- Perlin D.S., 1998.** Ion pumps as targets for therapeutic intervention: old and new paradigms. *Journal of Biotechnology Issn.*, vol. 1, no.2, pp : 717-3458.
- Ravn H., Andary C., Kovacs G., Molgaard P., 1984.** Caffeic acid esters as in vitro inhibitors of plant pathogenic bacteria and fungi. *Biochem. Syst. Ecol.* 17: 175-184.
- Renis H.E., 1977.** Influenza virus infection of hamsters. A model for evaluating antiviral drugs. *Arch Virol.* 54: 85-93.
- Ribéreau-Gayon P. & Gautheret R.J., 1968.** *Les composés phénoliques des végétaux.* Paris: Dunod. pp : 65
- Richard C & Kiredjian M., 1995.** Méthode de laboratoire pour l'identification des bacilles à Gram négatif aérobie stricts : Pseudomonas, Alcaligenes, Flavobactérium , Brucelle, Bordetella. 2^{ème} édition, Ed Institut, Pasteur, Paris, pp : 42-43.
- Rios J.L., Recio M.C. & Villar A., 1988.** Screening methods for natural antimicrobial products with antimicrobial activity: a review of the literature. *Journal of Ethnopharmacology* 23, 127– 149.
- Ritchason J., 2000.** Olive leaf extract-Potent antimicrobial, antiviral and antifungal agent. *Woodl and Publishing; Australia.* p : 32.
- Rocourt J., 2000.** *Listeria* et Listériose : Position phylogénétique et Classification du genre. 62(3), 197-209.
- Rodis P.S., Karathanos V.T., Mantzavinou A., 2002.** Partitioning of olive oil antioxidants between oil and water phases *.Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 50: 596-601.

Roland J.C., 2002. Des plantes et des Hommes .Vuirert. Paris. France. p 165.

Romani A., Mulinacci N., Pinelli P., Vincieri F.F., Cimato A., 1999. Polyphenolic content in five Tuecany cultivars of *Olea europaea* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47: 964-967.

Samuelsson G., 1975. The blood pressure lowering factor in leaves of *Olea europaea*. *FarmaceutiskRevy*. 15: 229-239.

Sarni-Manchado P., Cheynier V., 2006. Les polyphénols en agroalimentaire. *Ed Lavoisier. Paris*. 398p.

Sekour B., 2012. Phytoprotection de l'huile d'olive vierge (H.O.V) par ajout des plantes végétales (thym, ail, romarin). Mémoire de magister, Université M'Hamed Bougara Boumerdes. P : 116.

Servili M., Baldioli M., Selvaggini R., Miniati E., Macchioni A., Montedoro G., 1999. high-performance liquid chromatography évaluation of phénols in olive fruit, virgin olive oil, végétation waters and pomace 1D- and 2D-Nuclear Magnetic Résonance characterization. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 76: 873-882.

Shasha B. & Leibowitz J., 1961. On the oleuropein, the bitter principle of olives. *Journal of organic chemistry*. 26 (6): 1948-1954.

Smith-Palmer A. & Stewart J., 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Applied Microbiology* 26(2), 118-122.

Pattnaik S & Subramanyam V.R., 1996. Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. *Microbios*, 86, 237-246

Soler-Rivas C., Espin J.C., Wichers H.J., 2000. Oleuropein and related compounds. *journal ofthe Science of Food and Agriculture*. 80 (7), 1013-1023.

Stavric B., Matula T.J., 1992. Flavonoids in food. Their significance for nutrition and health. In : ONG ASH et Packer L eds. Lipid soluble and antioxidants : *Biochemistry and clinical applications*. Basel: Birkhauser Verlag. pp : 274-294.

Stevev P., Rachel C., Martha E., Paul H., Jane S. & Peter J., 2004. Microbiology of Waterborne Diseases, Ed Elsevier Academic Press. pp : 71-132.

Sudjana AN., D’Orazio C., Ryan V., Rasool N., Ng J., Islam N., Riley TV. & Hammer KA., 2009. Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. I. J. Antimicrob. Agents. Vol. 33. pp. 461-463.

Taamalli A., 2012. Characterization of polyphenols in Tunisian olive with anticancer capacity using liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Doctoral thesis. University of Granada.* P : 293.

Tafesh A., Najami N., Jadoun J., Halahliah F., Riepl H., Azaizeh H., 2011. Synergistic Antibacterial Effects of Polyphenolic Compounds from Olive Mill Wastewater. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* pp : 1-9.

Takahashi T., Kokubo R., Sakaino M., 2004. Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from *Eucalyptus maculata*. *Lett. Appl Microbiol.* 39: 60-64.

Tallarida R.J., 1984. Receptor theories and quantitative effect versus dose–concentration relationship. *Drug Metab Rev*15:345–363.

Tapas A.R., Sakarkar D.M., Kakde R.B., 2008. Flavonoids as nutraceuticals. *Topical journal of pharmaceutical research.* 7(3): 1089-1099.

Tassou C.C., Nychas G.J., Board R.G., 1991. Effort of phenolic compounds and oleuropein on the germination of *Bacillus cereus* T spores. *Biotechnol Appl Biochem.* 13:231-237.

Tassou C.C., Nychas G.J.E., 1995. Inhibition of *Salmonella enteritidis* by oleuropein in broth and in a model food System.” *Letters in Applied Microbiology.* 20(2): 120-124.

Tsagariki E., Harris N., 2007. Lazarides., Konstantinos B. P. Olive mill waste water treatment. *Springerlink.* pp : 133-157.

Tsuchiya H., Inuma M., 2000. Réduction of membrane fluidity by antibacterial sophoraflavanone G isolated from *Sophora exigua*. *Phytomedicine.* 7: 161-165.

Ulanowska K., 2006. Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DNA, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbial.* 184 (5): 271-278.

Ulanowska K., Majchrzyk A., Moskot M., Jak__bkiewicz-Banecka J. & W_Âgrzyn G., 2007. Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia* . 62: 132-135.

Valsaraj R., Pushpangadan P., Smitt U. W., Adersen A., Christensen S. r. B. g., Sittie A., Nyman U., Nielsen C. & Olsen C.E., 1997. New Anti-HIV-1, Antimalarial, and Antifungal Compounds from *Terminalia bellerica*. *J. Nat. Prod.* 60: 739-742.

Villemeur P. & Dosba F., 1997. Oléiculture : Evolution variétale et acquisition de la maîtrise des pratiques culturales, Oléagineux, Corps Gras, Lipides, V.4, N°5, INRA, Montpellier, p : 10.

Vinha A.F., Ferreras F., Silva B.M., Valent P., Gonçalves A., Pereira J.A., 2005. Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.y. Influences of cultivar and geographical origin. *Food Chemistry.* 2005; 89: 561-568.

Wendakoon C.N., Sakaguchi M., 1995. Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *J. Food Prot.* 58: 280-283

Yaakoubi A., Chahlaoui A., El-Yachioui M., Chaouch A., 2010. Traitement des margines à pH neutre et en conditions d'aérobies par la microflore du sol avant épandage. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.*; 149: 43-56.

Yadava R.N., Tiwari L., 2005. A potential antiviral flavone glycoside from the seeds of *butea monosperma*. *O. Kuntze. J. Asian. Nat. Prod. Res.* 7: 185-188.

Yang D.P., Kong D.X., Zhang H.Y., 2007. Multiple pharmacological effects of olive oil phenols. *Food Chemistry.* 104 (3) 1269-1271.

Yangui T., Rhouma A., Triki M.A., Gargouri K., Bouzid J., 2008. Control of damping-off caused by *Rhizoctonia solani* and *Fusarium solani* using olive mill waste water and some of its indigenous bacterial strains. *CropProtection.* 27(2):189-197.

Yigit A., Sahan Y., Korukluoglu M., 2001. Antimicrobial substances found in olive leaves and olive. *2nd International Altinoluk 'Antandros' Olive Business Symposium. Turkey.* pp : 139-147.

Zahoun A., Dao I., Karfo R., Essayagh T., Sekhsokh Y., Boustia M., Elhamzaoui S., 2010. Méningite nosocomiale postopératoire à *Acinetobacter baumannii* multirésistant en Neurochirurgie : à propos d'un cas nosocomial. *Pathologie Biologie.* pp : 29-31.

Zaika L.L., 1988. Spices and herbs -their antimicrobial activity and its determination. *Journal of Food Safety* 9(2), 97-118.

Les Milieux de culture utilisés

✓ Bouillon nutritif

Peptone	10 g
Extrait de viande	5,0 g
NaCl	5,0 g
Eau distillée	1000 ml

pH final = 7,2

✓ Gélose nutritive

Extrait de levure	2,0 g
Peptone	5,0 g
NaCl	5,0 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

pH final = 7,2

✓ Muller-Hinton

Infusion de viande de bœuf déshydratée	300 g
Hydrolysate de caséine	17,5g
Amidon de maïs	1,5g
Agar	13g
Eau distillée	1000ml

pH final = 7,2-7,4

تقييم النشاط ضد البكتيري لمستخلصات أوراق الزيتون *Olea europaea sativa* في شرق الجزائر

المخلص

النشاط المضاد للبكتيريا لخمسة مستخلصات مائي ، مثليي ، إثيلي ، أستوني، هكساني ، و المستخرجة من أوراق الزيتون المحضرة بطريقة النقع والتي تم إختبارها على سبعة سلالات بكتيرية , *Staphylococcus.aureus*, *Salmonella.sp*, *Listéria.monocytogenes*, *Escherichia.coli*, *Klebseilla oxytoca*, *Pseudomonas. aeruginosa.* , *Acénitobacter*, *Bumanii* بطريقة الانتشار على الجيلوز.

هذه المستخلصات أظهرت نشاط عالي الفعالي ($p<0.0001$) مناطق التنشيط على البكتيريا المختبرة بالملييتر. المقارنة بين المستخلصات أظهرت اختلافات واضحة مع نشاط عالي للمستخلص المائي.

النشاط المضاد للبكتيريا المقارن بالحساسية أو المقاومة لثمانية مضادات حيوية **lincomycine**, **spiromycyne**, **oxolyne**, **amoxilline**, **erythromycine**, **streptomycine**, **clindomycine**، اظهرت فعالية مماثلة للمستخلصات مع العلم ان المستخلصات كانت أكثر فعالية ضد بعض السلالات البكتيرية المقاومة .

تم تأكيد النشاط المضاد للبكتيريا بدراسة أقل تركيز قاتل او CMI أقل تركيز مثبت للنمو CMB .

المستخلصات تتواجد بإحدى التأثيرين القاتل او المثبط بالنسبة إلى البكتيريا ،المستخلص الإثيلي هو أفضل قاتل ضد البكتيريا *L.monocytogenes* أو مثبت ضد لبكتيريا *A.bumanii*.

النتائج المحصل عليها تعود الى كمية وطبيعة الجزيئات النشطة بيولوجيا كالبوليفنولات المتواجدة بتركيز مختلفة في الاوراق التي يمكن أن تستعمل كمضادات جرثومية طبيعية .

مفتاح الكلمات : أوراق الزيتون ، *Olea europaea sativa* ، نشاط ضد بكتيري ، أقل تركيز قاتل (CMI) ، أقل تركيز مثبت (CMB) ، قياس حساسية البيكتيريا للمضادات الحيوية.

Résumé

L'activité antibactérienne de cinq extraits de la plante à savoir : aqueux, méthanolique, éthanolique, acétone, hexane de feuilles d'*Olea europaea sativa* ou d'olivier cultivé de la variété Chemlal, préparés par macération ont été testés vis-à-vis de sept souches bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp*, *Listéria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Acénitobacter bumanii*, *Klebseilla oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, par la méthode de diffusion sur gélose.

Ces extraits ont démontré une activité très hautement significative ($p < 0.0001$) entre eux vis-à-vis l'ensemble des bactéries testées par rapport au diamètre de zone d'inhibition en millimètre. La comparaison entre les extraits a révélé des différences avec une grande activité de l'extrait aqueux.

L'activité antibactérienne de ces extraits comparée en terme de sensibilité/ résistance a montré une efficacité autant que les huit antibiotiques de références : **tétracycline**, **lincomycine**, **spiromycyne**, **oxolyne**, **amoxilline**, **erythromycine**, **streptomycine**, **clindomycine** avec exception que nos extraits ont exercé plus d'efficacité contre quelques souches résistantes.

De même l'activité antibactérienne en termes d'action bactéricide ou bactériostatique est confirmée par la mesure de concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB). Les extraits ont présenté soit une de deux actions par rapport à telle ou telle bactérie. L'extrait méthanol est le meilleur bactéricide contre *L.monocytogenes* et *E coli*, mais il est bactériostatique contre *A bumanii*.

Les résultats obtenus sont dus à la teneur et la nature en molécules bioactives dont on a quantifié des différences en teneur de polyphénols des extraits de feuilles qui promettent de les utilisées comme agents antimicrobiens naturels.

Mots- clés : feuilles d'olivier, *Olea europaea*, activité antibactérienne, CMI, CMB, antibiogramme.

Evaluation of antibacterial activity of leaves extracts from *Olea europaea* in eastern Algeria.

Abstract

The antibacterial activity of five extracts: aqueous, methanol, ethanol, acetone, hexane of *Olea europaea* or olive leaves of the Chamlal variety prepared by maceration were tested against seven bacterial strains: *Staphylococcus.aureus* (*S Aureus*), *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia.coli* (*E coli*), *Acenitobacter bumanii* , *Klebseilla oxytoca* , *Pseudomonas.aeruginosa* (*P. aeruginosa*), by the agar diffusion method.

These extracts demonstrated a highly significant ($p < 0.0001$) activity against all the tested bacteria compared to the diameter of the inhibition zone in millimeters. The comparison between the extracts revealed differences with a high activity of the aqueous extract is observed.

The antibacterial activity of these extracts compared in terms of sensitivity / resistance against eight antibiotics: **tetracycline, lincomycin, spiromycyne, oxolyne, amoxillin, erythromycin, streptomycin, clindomycin** showed an identical efficacy of the extracts with exception to some resistant strains.

The antibacterial activity is also confirmed by the minimal inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (CMB) method.

Extracts showed one of the two methods towards bacteria. ;ethanol extract is the best bactericide against *L.monocytogenes* qnd *E coli*, but is bacteriostatic against *A bumanii*.

The results obtained are very interesting and open a promising voice for the use of olive leaves as natural antimicrobial agents.

Key-words: olive leaves, *Olea europaea*, antibacterial activity, MIC, CMB, antibiogram.

Diplôme : Master académique en Microbiologie

Thème : Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles
d'*Olea europaea sativa* de l'est algérien.

Résumé

L'activité antibactérienne de cinq extraits : aqueux, de méthanol, d'éthanol, d'acétone, d'hexane de feuilles d'*Olea europaea sativa* ou d'olivier cultivé de la variété Chemlal, préparés par macération ont été testés vis-à-vis de sept souches bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp*, *Listéria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Acénitobacter bumanii*, *Klebseilla oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, par la méthode de diffusion sur gélose. Ces extraits ont démontré une activité très hautement significative contre l'ensemble des bactéries testées par rapport au diamètre de zone d'inhibition en millimètre. La comparaison entre les extraits a révélé des différences avec une grande activité de l'extrait aqueux.

L'activité antibactérienne de ces extraits comparée en terme de sensibilité/ résistance à huit antibiotiques de références : **tétracycline, lincomycine, spiromycine, oxolyne, amoxilline, erythromycine, streptomycine, clindomycine** a montré une efficacité autant que les extraits avec exception que ces derniers ont exercé plus d'efficacité contre quelques souches résistantes.

De même l'activité antibactérienne en termes d'action bactéricide ou bactériostatique est confirmée par la mesure de concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB). Les extraits ont présenté soit une de deux actions par rapport à telle ou telle bactérie. L'extrait méthanol est le meilleur bactéricide contre *L.monocytogenes* et *E coli*, mais il est bactériostatique contre *A bumanii*.

Les résultats obtenus sont dus à la teneur et la nature en molécules bioactives dont on a quantifié des différences en teneur de polyphénols des extraits de feuilles qui promettent de les utilisées comme agents antimicrobiens naturels.

Mots- clés : feuilles d'olivier, *Olea europaea*, activité antibactérienne, CMI, CMB, antibiogramme.

Devant le Jury

Présidente:	M Abaidia abdelghafour	MAA	Université. Abbés Laghrour-Khenchela
Examinatrice:	M Boussaa Abdelhalim	MAA	Université. Abbés Laghrour- Khenchela
Encadreur :	Dr Derouiche Faouzia	MCB	Université. Abbés Laghrour -Khenchela

Lieu de travail : laboratoire pédagogique de Microbiologie, Université Abbess Laghrour –Khenchela

Année universitaire 2016-2017