



République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abbes Laghrou, Khenchela

Institut des sciences de la nature & de la vie

Département de Biologie

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option: Biotechnologie et amélioration des plantes

Thème:

**Activité antibactérienne des extraits de
Pistacia atlantica Desf.**

Soutenue le: / /

Présenté par : Zaidi Amel & Harnane Oussama..

Devant le comité de jury:

Président: Fercha. A.

Maître assistante A (Unv. Khenchela)

Examineur: Mazouze L.

Maître assistante A (Unv. Khenchela)

Promoteur: Zeraib A .

Maître assistant A (Unv. Khenchela)

Promotion : 2013/2014

Remerciement

Nos remerciements vont tout d'abord à ALLAH. Miséricorde et tout puissant de la foi et la santé, louange ALLAH pour la volonté et la patience qu'il nous' a donné durant ces longues années d'études afin qu'on puisse arriver à ce stade.

*Après des années d'efforts pour acquérir un niveau universitaire acceptable et des connaissances scientifiques nous voilà arriver à la fin du cycle de graduation pour soutenir un mémoire de **Master LMD option Biotechnologie et amélioration des plantes** B on espérant continuer nos études supérieures dans la même filière à savoir doctorat*

*Et en cette heureuse et solennelle occasion nous aimerions dédier ce modeste travail d'abord à notre Enseignant et encadreur **Zeraïb. Azddine** pour ces conseils et sa patience avec nous.*

Nos Remerciements vont également à tous les enseignants qui nous ont enseigné.

Et à membres du jury

A toute la promotion 2014.

ZAIDI AMEL-HARNAË OUSSAMA

DEDICACES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Au nom d'ALLAH, le tout Miséricordieux, Le très Miséricordieux

Je remercie ALLAH le tout puissant, clément et Miséricordieux de m'avoir à motivé à

Réaliser ce modeste travail, ensuite je remercie infiniment mes parents, qui m'ont encouragé et aidé à arriver à ce stade de formation.

*Je dédie ce modeste travail à **ma très chère mère**, qui m'accompagné durant les moments les plus pénibles de ce long parcours de mon éducation, celle qui a fait preuve de ce plus copieux desseins pour me permette de goûter le fardeau de ce monde et de chercher la voie de ma vie avec ces précieux conseils, donc je devais incessamment être de grande compétence et motivation cependant. Je prie ALLAH le Miséricordieux qu'il te portera récompense, car la mienne ne sera guère complète,*

Et te protège et te garde en bonne santé.

A mon père qui a sacrifié sa vie afin de me voir grandir et réussir dans le parcours de l'enseignement. Celui qui a toujours resté à mes cotés dans les moments rudes de ma vie.

A Mes chers frères : HAMZA. SOLIMAN et KHALAD SIHAM ASMA et SOUMIA

Amon binôme OUSSAMA et toute la famille ZAIDI sans exception.

A Toute la promotion 2014.

A tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce mémoire.

...Et a tous ceux qui portent l'Algérie dans leurs cœurs et veulent la construire.

Enfin, à tous ceux qui me reconnaît.

AMAL

DEDICACES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Au nom d'ALLAH, le tout Miséricordieux, Le très Miséricordieux

Je remercie ALLAH le tout puissant, clément et Miséricordieux de m'avoir à motivé à

Réaliser ce modeste travail, je tiens à dédie :

A mon père qui a sacrifié sa vie afin de me voir grandir et réussir dans le parcours de l'enseignement. Celui qui a toujours resté à mes côtés dans les moments rudes de ma vie.

La mémoire de mon chère mère,

A Mes chers frères : SOUHAIB ABDELRAOUF AHMED et KARAOUN.

Amon binôme AMAL et toute la famille HARNAN sans exception.

A Toute la promotion 2014.

A tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce mémoire.

...Et a tous ceux qui portent l'Algérie dans leurs cœurs et veulent la construire.

Enfin, à tous ceux qui me reconnaît.

OUSSAMA

Listes des figures

Titre	Pa ge
Figure 01 : Espèce <i>Pistacia atlantica</i>	03
Figure 02 : Répartition géographique de la famille <i>anacardiceae</i>	05
Figure 03 : Squelette de base des flavonoïdes.....	13
Figure 04 : Structure des tanins condensés et leur monomère.....	15
Figure 05 : Schéma expérimental du protocole d'analyse chimique des HE et d'évaluation des activités antibactériennes.....	20
Figure 06 : localisation de la région de la récolte du matériel végétal.....	22
Figure 07 : dispositif de l'hydro distillation.....	23
Figure 08 : Étapes de séparation des phases du distilla.....	25
Figure 09 : Protocole de préparation de l'extrait brut.....	26
Figure10 : Protocole de préparation des phases.....	27
Figure11 : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne±SD de trois mesures).....	29
Figure12 : La courbe d'étalonnage de la Quercétine et de la Rutine (moyenne ± SD de trois mesures).....	30
Figure 13 : préparation de l'inoculum.....	31
Figure 14 : Aromatogramme sur boîte de pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque imprégné de l'extrait végétale.....	32
Figure 15 : photo presente la déposition des	32

disques.....	
Figure16: testes d'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de <i>Pistacia Atlantica</i>	36
.....	
Figure17: testes d'activité antibactérienne de L'antibiotique (Gentamycine).....	37
.....	
Figure18: testes d'activité antibactérienne de L'antibiotique (Pénicilline)	38

Liste des tableaux

Titre	Page
Tableau01: rendements des extractions des différents métabolites.....	34
Tableau02 : Les résultats des tests phytochimiques de <i>Pistacia atlantica</i> ...	34
Tableau 03: résultats des dosages des polyphénols et les flavonoïdes de <i>P atlantica</i>	35
Tableau 04 : Résultats de l'activité antibactérienne de <i>P. atlantica</i>	35

LISTE DES ABREVIATIONS

°C	Degré Celsius.
g	Gramme
µl	Microlitre.
µm	Micromètre.
ml	Millilitre.
H	Heure.
C	Carbone.
HCl	Acide chlorhydrique.
AlCl₃	Chlorure d'aluminium.
NaCl	Chlorure de sodium.
FeCl₃	Chlorure de fer.
H₂SO₄	Acid sulfurique.
Mg EAG/g	Milligramme d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait.
Mg EQ/g	Milligramme d'équivalent quercétine par gramme d'extrait.
Mg EAG/g	Milligramme d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait.
Mg EQ/g	Milligramme d'équivalent quercétine par gramme d'extrait.
MET	Extrait méthanolique.
EXT	Extrait
H.E	huiles essentielles
CMI	Concentration minimale inhibitrice
mg/ml	Milligramme par Millilitre.
mg/litre	Milligramme par litre
RHE	rendement en huile essentielle
MH	Mueller Hinton
ATCC:	l'American Type Culture Collection
GN	gélose nutritif
S. aureus 43	Staphylococcus aureus 43.

SOMMAIRE

Page de titre.....	I
Remerciements	II
Dédicace	III
Sommaire.....	V
Liste des abreviations.....	X
Liste des tableaux.....	XI
Liste des figures.....	XII
Introduction.....	01
Chapitre 1 : <i>synthèse bibliographique</i>	
I- Aspect Botanique.....	03
I-1- Classification	03
1.2-Etude botanique de la famille de <i>Anacardiaceae</i>	04
1.2.1- Description botanique.....	04
1.2.2-Systématique et répartition géographique d' <i>Anacardiaceae</i>	04
1.3-Le genre <i>Pistacia</i>	05
1.3.1- Description botanique de <i>Pistacia atlantica</i>	05
II- Phytochimie.....	07
II .1- Etude chimique de la famille de Anacardiaceae.....	07
II .2. Etude chimique du genre <i>Pistacia</i>	07
II .3- Huiles essentielles	07
II .3.1-Définition.....	07
II.3.2 - Techniques d'extraction des huiles essentielles.....	08
III.3.2.1-Hydrodistillation.....	08

III.3.2.2- Hydrodistillation-extraction simultanée.....	08
III. 3.2-Huiles essentielles comme agents antimicrobiens.....	09
III.3.1-Généralités.....	09
III.3.2- Mode d'action contre les bactéries.....	10
III.4-Les Huiles Végétales.....	10
III.4.1-Définition.....	10
III.4.2- Classification.....	11
□ Huiles officinales.....	11
□ Huiles alimentaires.....	11
□ Huiles industrielles.....	11
III.4.3- Composition des huiles végétales.....	11
III -Principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce.....	11
III.1-Les polyphénols.....	11
III.1.1-Définition.....	11
III.1.2- Classification des polyphénols.....	12
III. 1.2.1- Acides phénoliques.....	12
III.2- Les flavonoïdes.....	12
III. 2.1-Structure des flavonoïdes.....	13
III.2.2- Effets antivirales et antibactériennes des flavonoïdes.....	13
III .3- Les tanins.....	15
Les tannins hydrolysables.....	15
Les tannins condensés.....	15
III.3.1- Propriétés pharmacologiques des tanins.....	16
III.3. 2- Activités antimicrobiennes des tanins.....	16
III.4- Les alcaloïdes.....	16
IV -Phytothérapie.....	17

IV .1- Utilisation traditionnelle.....	17
IV .2- Propriétés et usages thérapeutiques	18
IV .3- Intérêts pharmacologiques, nutritionnels et industriels du genre <i>Pistacia</i>	19
IV.4-Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne.....	19
IV.4.1-Technique en milieu solide (méthode de la diffusion en disque).....	20
IV.4.2 -Technique en milieu liquide (méthode de dilution).....	21
IV.4.2 .1-La dilution en bouillon.....	21
IV.4.2 .2-La dilution en gélose.....	21
Chapitre II : Matériel et Méthodes	
1. Matériel	22
1.1 Matériel végétal.....	22
1-2- Matériel du test de l'activité antibactérienne.....	22
1-2-1 Souches bactériennes.....	22
1-2-2- Les milieux de culture.....	23
2.3-Les antibiotiques.....	23
2. Méthodes	23
2.1- L'extraction des substances volatiles (les huiles essentielles)	23
(a) Description du dispositif d'extraction.....	24
(b) Procédé d'extraction.....	24
(c) Séparation des huiles essentielles	24
2.2- L'extraction des substances non volatiles (Polyphénols, flavonoïdes et l'huile végétale).	25
2.2.1- Préparation de l'extrait brut	25
2.2.2- Préparation des phases	25
2.3- Calcul du rendement	27
2.4 -Screening phytochimique	27

2.4.1- Tanins.....	28
2.4.2- Les Saponosides.....	28
2.4.3- Les triterpènes hétérosidiques.....	28
2.5- Dosage des métabolites des extraits de <i>Pistacia Atlantica</i>	28
2.5.1- Dosage des polyphénols.....	28
2.5.2- Dosage des flavonoïdes.....	29
2.6- L'évaluation de l'activité antibactérienne.....	30
A. Préparation de l'inoculum.....	30
• Préparation de pré-culture.....	30
• Préparation de la suspension bactérienne.....	30
• Préparation de la couche de milieu de culture	31
• Tests antimicrobiens ' <i>in vitro</i> '.....	31
• Méthode de Vincent (aromatogramme.....	31
- Modes opératoires.....	32

Chapitre III : *Résultats et discussion*

A- RÉSULTATS.....	34
B- Résultats de l'étude hytochimique.....	34
a- Rendement.....	34
b- Tests phytochimique.....	34
c- Dosage des polyphénols totaux.....	34
2. Résultats de l'activité antibactérienne.....	39
B .Discussion.....	39
1. Le rendement.....	39
2. Les teste phytochimiques.....	39
2.1-Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes.....	39
3. Activité antibactérienne.....	40

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

En raison de l'effet secondaire des produits chimiques antimicrobiens et de la résistance que les micro-organismes pathogènes établissent contre les antibiotiques, beaucoup d'attention a été prêtée aux extraits bruts des plantes qui commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses [01]

Le recours aux ressources naturelles en général et aux plantes médicinales en particulier devient alors une des plus importantes et intéressantes pistes à explorer pour la recherche de nouveaux produits antibactériens plus efficaces. Par ailleurs, beaucoup de plantes sont très connues pour leurs grandes potentialités métaboliques de substances dites secondaires. Ces composés sont synthétisés dans les différentes parties de la plante (racines, tige, feuilles...). Quelles que soient les parties et les formes sous lesquelles elles sont métabolisées, ces substances sont extrêmement complexes du point de vue structure et composition chimique. Toutefois, leur métabolisme produit des milliers de constituants différents, dont quelques-uns seulement sont responsables de l'effet thérapeutique

L'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme antimicrobiennes, demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquentes, voire non connues dans la médecine et les traditions médicinales folkloriques. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs. Toutefois, sont rares les plantes qui ont fait l'objet d'études phytochimiques et biologiques très approfondies. Le genévrier est un exemple éloquent d'essence forestière qui n'échappe pas à cette règle [02]

Ce travail vise à étudier l'activité antibactérienne des extraits bruts de *Pistacia Atlantica*, une espèce médicinale, appartenant à la famille des *Anacardiacees*, qui comprend de nombreuses espèces très répandues dans la Méditerranée.

Le manuscrit est partagé en trois chapitres:

Le premier chapitre est une Synthèse bibliographique, il commence par une description botanique ensuite le recueil des principaux résultats phytochimiques

pharmacologique antérieurs relatifs à la famille des (*Anacardiacees*), le genre (*Pistacia*) et de l'espèce (*Pistacia Atlantica*).

Le deuxième chapitre illustre le matériel et les méthodes utilisées dans le cadre de cette étude. Alors que le troisième volet regroupe les résultats et la discussion. Le manuscrit est achevé par une conclusion et références bibliographiques.

1. Matériel

1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal comprend les graines de l'espèce *Pistacia atlantica* récoltées de la région d'Arris Wilaya de Batna (**Figure 06**) en mois d'Octobre 2013. La détermination de l'espèce a été faite à l'aide de la flore de Quezel et Santa (1963) et validée par Mr ZERAIB Azzeddine enseignant dans le Département de Biologie, Université Abbes Laghrour de Khenchela.

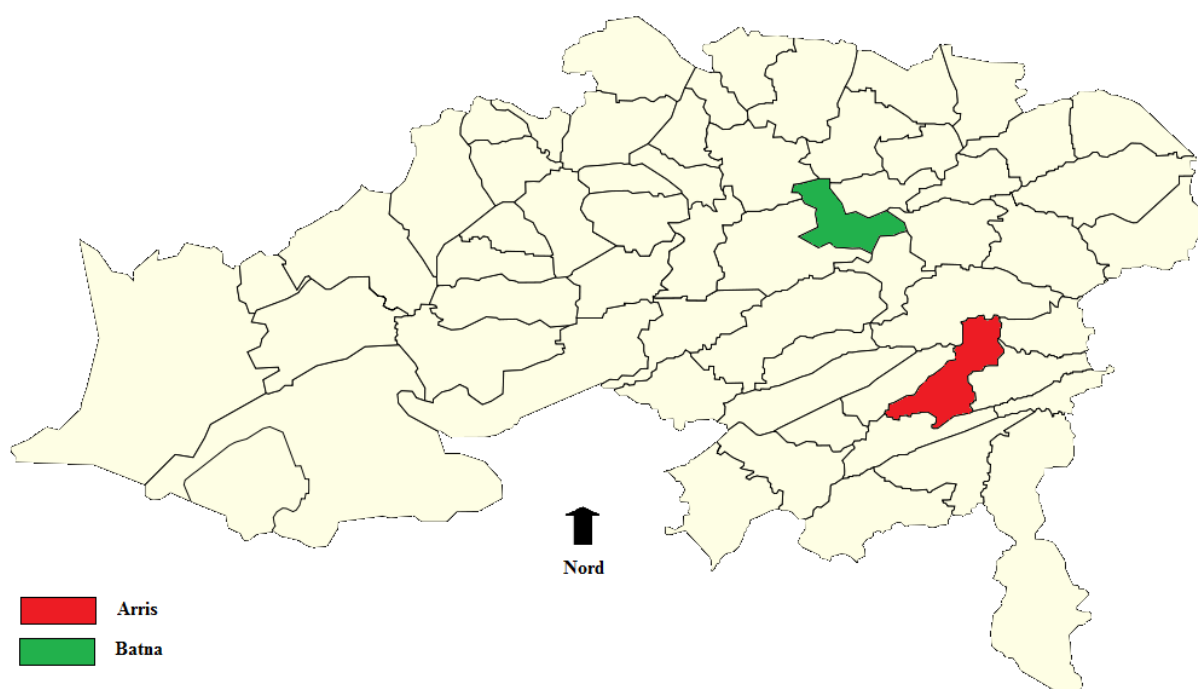


Figure 06: localisation de la région de la récolte du matériel végétal.

1-2- Matériel du test de l'activité antibactérienne

1-2-1 Souches bactériennes

L'activité antimicrobienne des extraits de *P. atlantica*, a été évaluée sur plusieurs souches bactériennes provenant de l'American Type Culture Collection ATTC:

- Gram positif : - *Staphylococcus aureus* ATTC 43300.

- *Staphylococcus aureus* ATTC 25923.

- Gram négatif : - *Proteus sp* ATTC

- *Entérobactér* ATTC
- *Bacillus subtilis* ATTC

1-2-2- Les milieux de culture

- Gélose nutritive pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes
- Gélose Mueller Hinton (MH), coulée en boîtes de pétri sur une épaisseur de 4mm, pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits de *Pistacia atlantica*.

1-2-3- Les antibiotiques

Les antibiotiques utilisés sont: **le Gentamycine** (concentration 20 mg/1ml) et **la pénicilline** (100 µg/disc).

2. Méthodes

2.1- L'extraction des substances volatiles (les huiles essentielles).

La méthode d'extraction adoptée est l'hydrodistillation, elle est réalisée au Clevenger (figure 08). L'hydrodistillation se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles.

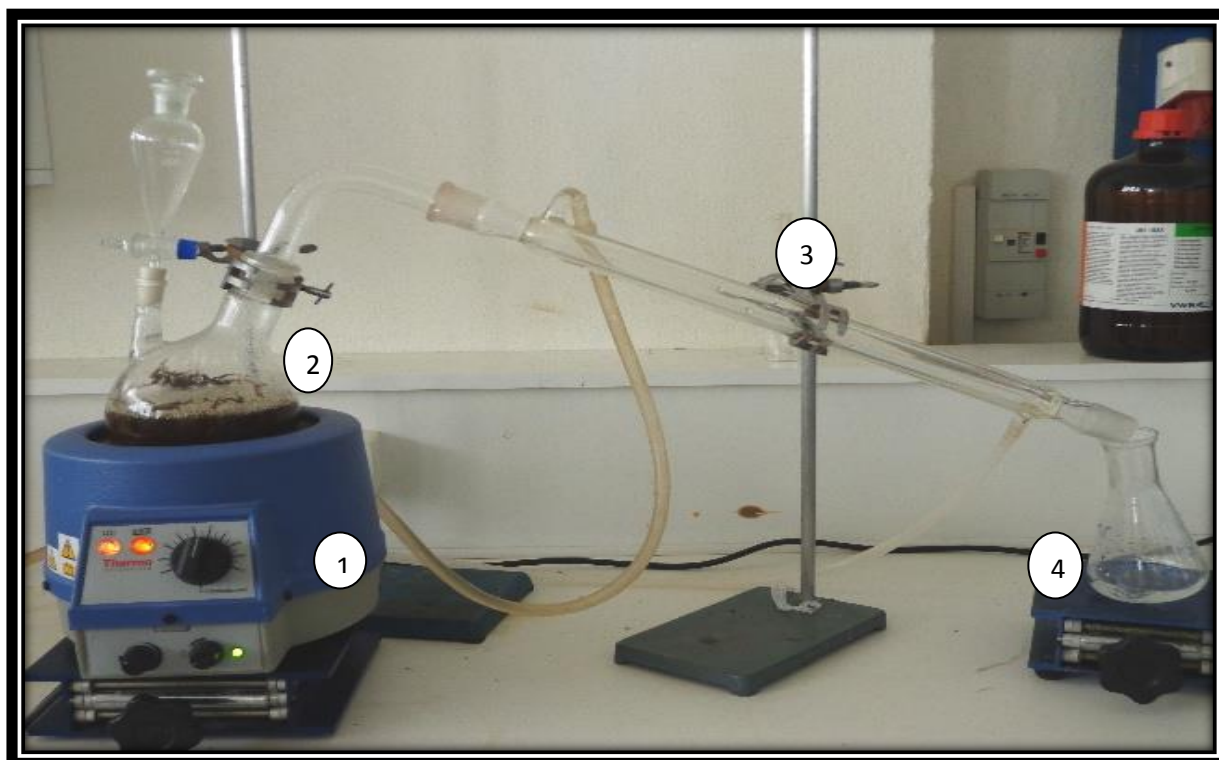


Figure 07: dispositif de l'hydro distillation

(a) Description du dispositif d'extraction

L'appareil utilisé pour l'hydrodistillation est de type Clevenger, il est constitué d'un chauffe ballon (1) qui permet la distribution homogène de la chaleur dans le ballon, un ballon en verre pyrex (2) où l'on place les grains et l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) (3) qui vient de l'échauffement du ballon, un collecteur (erlenmeyer) (4) en verre pyrex également qui reçoit les extraits de la distillation (**figure 07**).

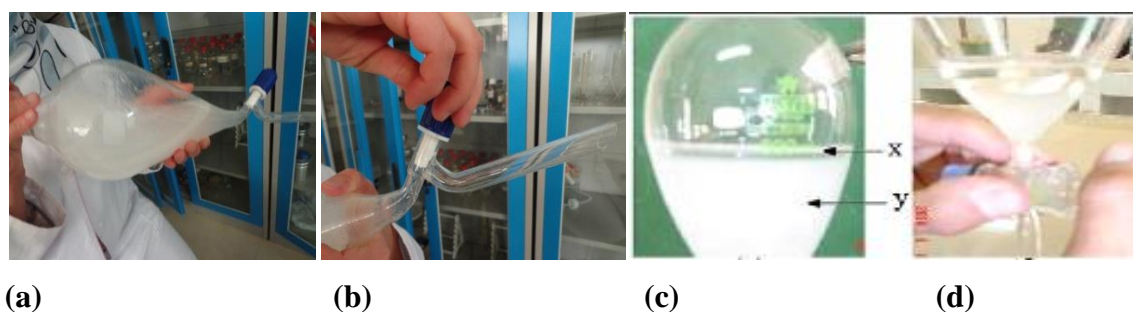
(b) Procédé d'extraction

50 g de la plante sèche est mise dans un ballon à fond rond de 1000 ml, additionnées de 500 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant environ 3 heures. L'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par le condensateur. Le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d'huile mince à la surface qui sera par la suite séparée, après repos du liquide.

(c) Séparation des huiles essentielles

La séparation des huiles essentielles extraites des grains de *P. atlantica* a été réalisée par l'éther de pétrole. Le distillat a été transvasé dans une ampoule à décanter et auquel a été ajouté une quantité de l'éther de pétrole (1/2 le volume de distillat). L'ampoule à décanter a été hermétiquement fermée puis le contenu est agité pendant 3 mn en dégazant de temps en temps (**figure 08 a et b**). L'ampoule est ensuite déposée sur un support pendant quelques minutes pour laisser décanter le contenu. Après décantation, deux phases apparaissent dans l'ampoule (**figure 08 c**), une phase aqueuse, située dans la partie inférieure et une phase organique, de densité plus faible et contenant les huiles essentielles située au dessus. Celles-ci sont recueillies séparément dans des flacons différents (**figure 08 d**). Le séchage de la phase organique a été effectué à l'aide d'un **évaporateur rotatoire**. Cette opération aboutit à l'élimination de l'éther de pétrole de l'H.E.

Les huiles essentielles obtenues ont été conservées à la température de 35°C jusqu'à leur utilisation.



(b) (a) et (b) : agitation et dégazage du contenu de l'ampoule ;(c) : séparation des deux phases [x = la phase organique (H.E. +chloroforme); y = la phase aqueuse (eau distillée + traces d'huile)];(d) : récupération de la phase organique dans un flacon et élimination de la phase aqueuse (H₂O).

Figure 08: Étapes de séparation des phases du distillat.

2.2- L'extraction des substances non volatiles (Polyphénols, flavonoïdes et l'huile végétale).

2.2.1- Préparation de l'extrait brut

Les graines de *Pistacia atlantica* ont été nettoyées des impuretés, et séchées à température ambiante, puis broyées à l'aide d'un mortier pour avoir une poudre à partir de laquelle les extraits ont été réalisés.

L'extrait hydro-méthanolique a été préparé à partir d'un échantillon de 150 g de matériel végétal (graines) a été soumis à macération dans un mélange de méthanol-eau (3-1) pendant 24 heures. Ensuite la solution a été filtrée à l'aide d'un coton et compresse et le solvant a été récupéré du filtrat par évaporation dans un rotavapeur (**Annexe 01**), à une température de 45°C. Cette opération est répétée trois fois avec renouvellement de solvant pour chaque extrait.

2.2.2- Préparation des phases

L'extrait brut a été dissoute dans l'eau distillée, la solution obtenue a été filtrée puis soumise à plusieurs extractions liquide-liquide (**figure 10**).

La première extraction a été faite par l'éther de pétrole, par laquelle l'huile végétale a été obtenue, une deuxième extraction faite par le chloroforme a conduit à extraire les substances glycones. Enfin les substances aglycones ont été séparées par le butanol.

150 g du matériel végétal sec et broyé

Infusé dans

600 ml de méthanol +200 ml d'eau distillée



Macération pendant 24 heures



Filtration : coton +compresse

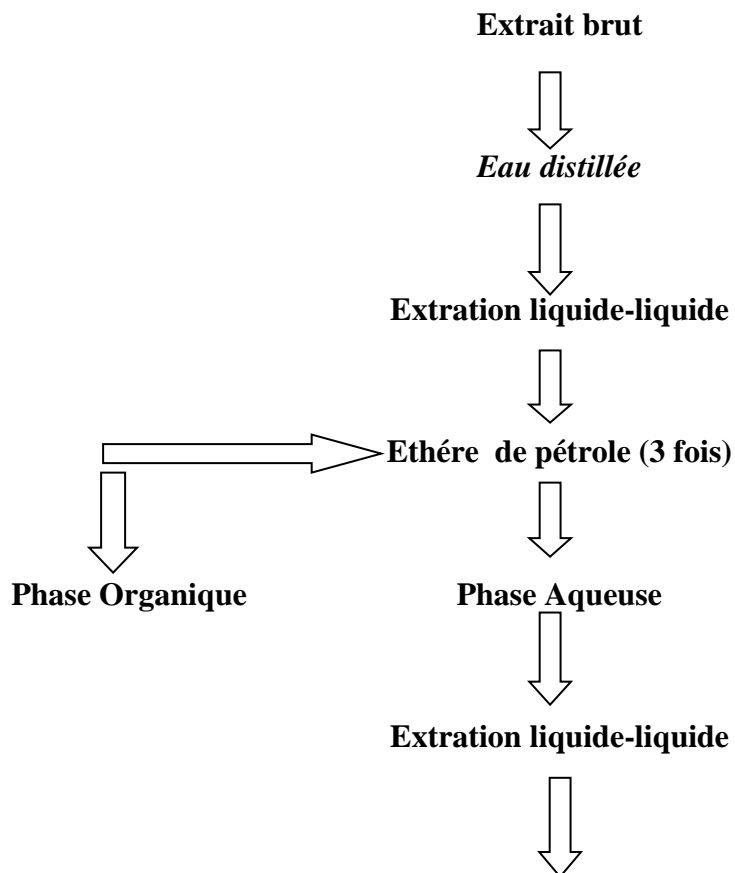


Evaporation au rotavapeur (50°C)



Extrait hydro-méthanolique

Figure09 : Protocole de préparation de l'extrait brut



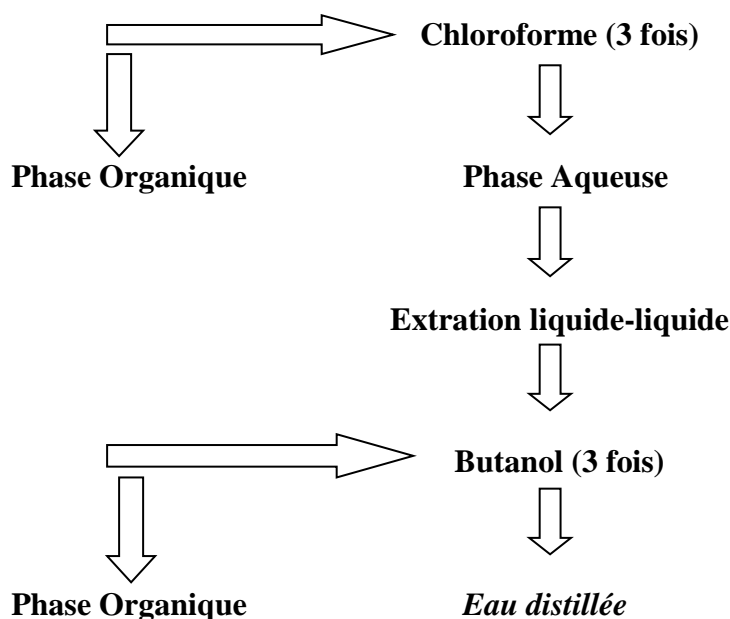


Figure10 : Protocole de préparation des phases

2.3- Calcul du rendement

Le rendement de la plante en extraits est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids de la plante à traiter (Carré, 1953). Le rendement qui est exprimé en pourcentage a été calculé par la formule suivante:

$$R = \frac{P_E}{P_A} \times 100.$$

Où

R= Rendement de l'extrait en pourcentage.

P_E = Poids de l'extrait en gramme.

P_A = Poids de la plante en gramme.

2.4 -Screening phytochimique

L'extrait brut obtenu à partir des graines de *pistacia atlantica* a été soumis aux tests phytochimiques dans le but de mettre en évidence la présence de quelques classes de métabolites secondaires.

2.4.1- Tanins

2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ à (2%) sont ajoutées à 2 ml de solution testée. Un est positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue - noire, et un précipité (laisser reposer quelques minutes)

2.4.2- Les Saponosides

10 ml de l'eau distillée sont ajoutés à 5 ml de la solution testée puis agiter fortement. Une écume persistante confirme la présence des Saponosides. le mélange est laissé pendant 20 minutes. Et procéder à l'évaluation de la teneur en Saponosides:

- pas de mousse = test négatif
- mousse moins de 1 cm = test faiblement positif
- mousse de 1-2 cm = test positif
- mousse plus de 2 cm = test très positif

2.4.3- Les triterpènes hétérosidiques

Un mélange est préparé à partir de 5 ml de la solution testée, 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge-marronne de la couche d'interface indique la présence des triterpènes hétérosidiques

2.4.4- Les Flavonoïdes

5 ml d'extrait méthanolique est traité avec quelques gouttes d'AlCl₃ (1%). tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur jaune se développe en l'espace de 3 minutes

2.5- Dosage des métabolites des extraits de *Pistacia Atlantica*

2.5.1- Dosage des polyphénols

Les polyphénols sont dosés par la technique colorimétrique de Folin ciocalteu

Un aliquote de 50 µl de l'extrait phénolique est mélangé à 950 µl d'eau distillée, 500 µl de solution de Folin ciocalteu (1N) et 2,5ml de carbonate de sodium (Na₂ CO₃ à 20%). Le développement d'une couleur bleue est obtenu après incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 40 min. La lecture s'effectue à 725 nm et la concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec

l'acide gallique (0-40 $\mu\text{g/ml}$) (**Figure11**). Elle est exprimée en milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

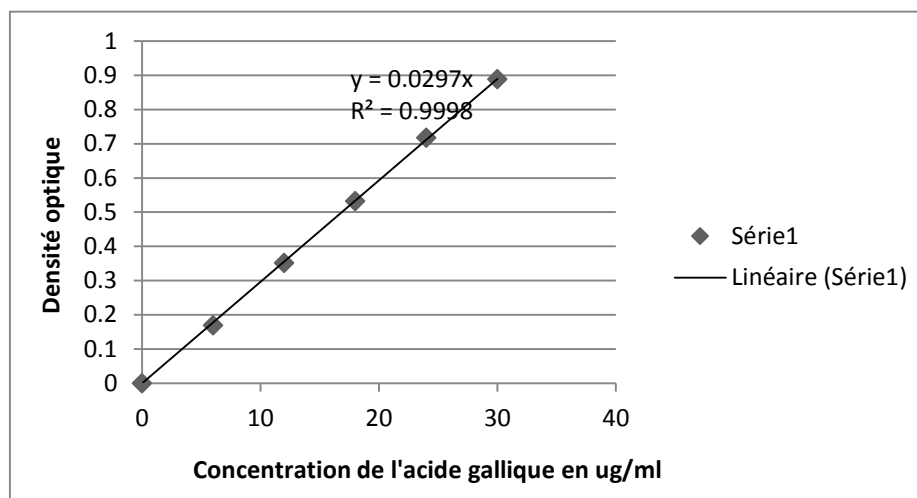


Figure11 : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne \pm SD de trois mesures).

2.5.2- Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode de trichlorure d'aluminium; (AlCl_3) à 1ml de chaque extrait (préparé avec des dilutions convenables dans le méthanol ou l'eau distillée) en ajoutant 1ml de la solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol). Après 30 minutes d'incubation, l'absorbance est effectuée à 420nm. Le calcul de la concentration des flavonoïdes se fait à l'aide des gammes d'étalonnage établies avec la quercétine et la rutine (0-40 $\mu\text{g/ml}$) (**Figure12**) et elle est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine ou de rutine par gramme d'extrait (mg EQ/g).

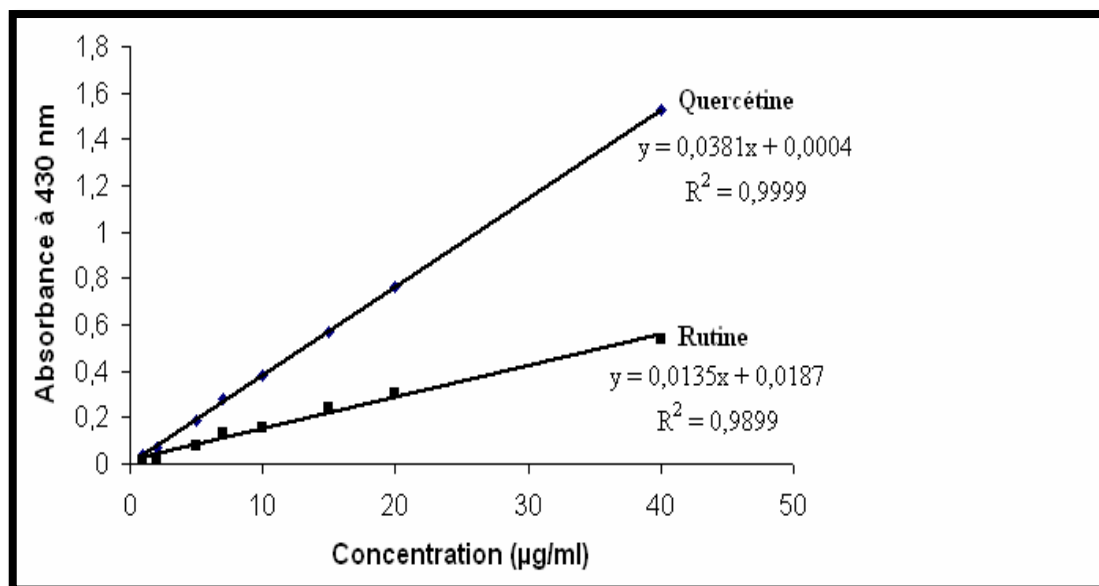


Figure 12 : La courbe d'étalonnage de la Quercétine et de la Rutine (moyenne \pm SD de trois mesures)

2.6- L'évaluation de l'activité antibactérienne

A. Préparation de l'inoculum

• Préparation de pré-culture

Les tests antibactériens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de (18 à 24heures) en phase de croissance exponentielle. La réactivation des souches est effectuée par ensemencement de l'espèce bactérienne dans un milieu liquide (bouillon nutritif).après incubation pendant 18-24heures à 37°C, un deuxième repiquage est réalisé dans des boites de pétri contenant de la gélose nutritif (GN) puis, incubées à37°C pendant 18heures.

• Préparation de la suspension bactérienne

A partir des cultures jeunes sur (GN) (**Annexe 02**), on réalise des suspensions troubles en prélevant 3à5colonies bien isolées et identiques, qu'on dépose dans 5ml d'eau physiologique stérile, puis on agite au vortex et en réalise une première lecture d'opacité qui doit être équivalente à 0,5 **MaC Farland**. L'inoculum doit être utilisé dans les 15 minutes qui suivent la préparation.

Remarque : l'opacité de l'inoculum doit être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible. Ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

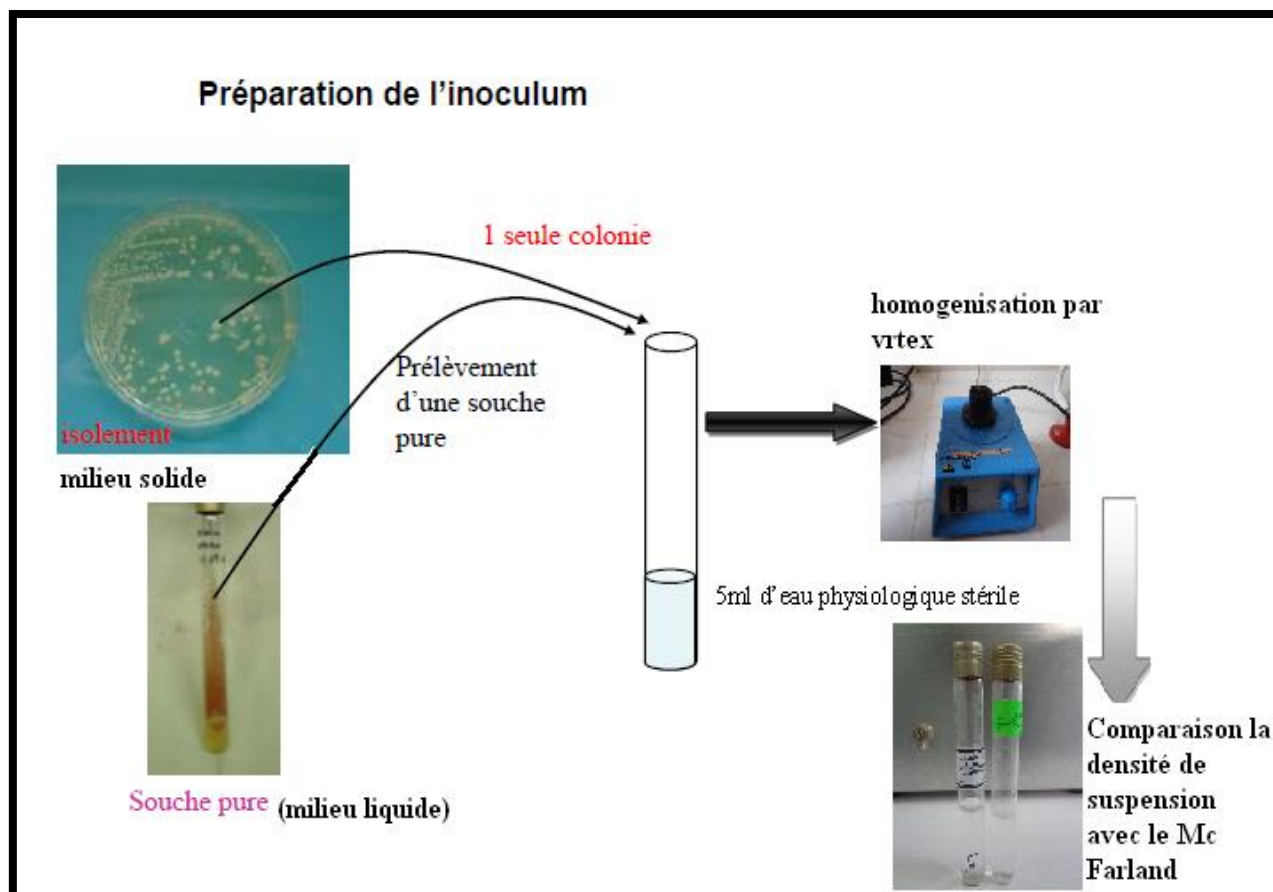


Figure 13: préparation de l'inoculum

- **Préparation de la couche de milieu de culture**

On fait fondre le milieu Muller-Hinton(MH) (**Annexe 03**) dans un bain marie à 95°C, après on verse aseptiquement le (MH) dans des boites de pétri. On laisse refroidir et solidifier sur pailleasse.

B. Tests antimicrobiens 'in vitro'

La technique utilisée pour l'étude de l'activité de l'huile essentielle de *Pistacia Atlantica* sur des souches bactériennes est mise en évidence par:

➤ **Méthode de Vincent (aromatogramme**

1. **Méthode de diffusion sur disques (aromatogrammes)** : C'est une méthode seulement quantitative qui permet de montrer l'existence ou non d'action antimicrobienne des produits à tester Cette dernire consisre à déposer les disques de papier WattmanN°3 imprégnés d'HE(15µl) à la surface du milieu gélosé,Mueller-Hinton ,en boite de pétri préalablement ensemencées par écouvillon en série stries (3 disques par boite);Celles-ci sont ensuite fermées et laissées diffuser pendant 20 mn puis incubées à 37 °C pendant 24

h. Les résultats sont exprimés par la mesure du diamètre des halos d'inhibition à l'aide d'une règle, en cm ou mm.

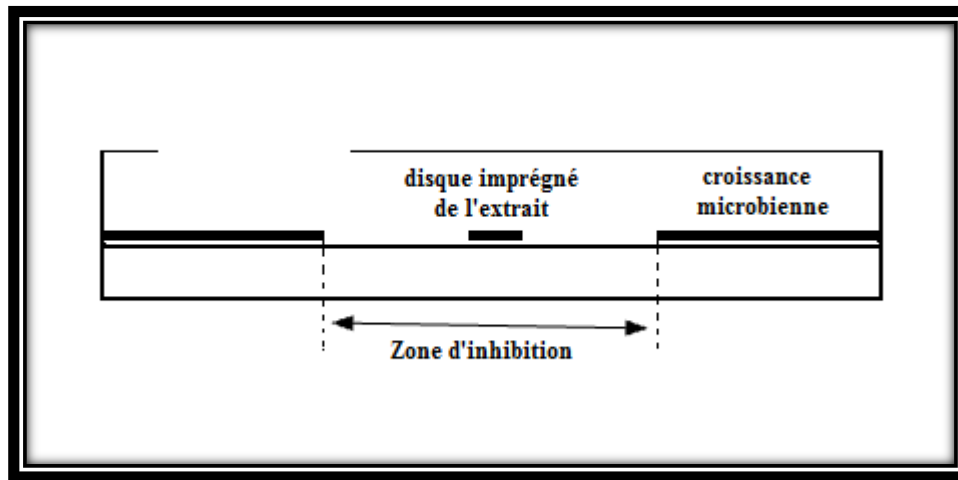


Figure 14: Aromatogramme sur boîte de pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque imprégné de l'extrait végétale.

2- Modes opératoires

Le test est effectué en cultivant les bactéries sur un milieu Muller Hinton. Chaque boîte de pétri de 90 mm a reçu 20 ml du milieu de culture et estensemencée avec 1 à 2 ml de la suspension microbienne contenant Les disques stériles imprégnés de l'extrait sont déposés à la surface du milieu. Ensuite ils ont été incubés et inversés à l'obscurité dans une étuve à une température de 37°C durant 24 h.



Figure 15: photo présente la déposition des disques

La sensibilité des différentes souches vis-à-vis des H.E. étudiées est classée selon le diamètre d'inhibition selon les critères suivants:

- **Non sensible (-)** ou résistante : diamètre < 8 mm.
- **Sensible (+)** : diamètre compris entre 9 à 14 mm.

- **Très sensible** (++) : diamètre compris entre 15à19mm.
- **Extrêmement sensible** (+++) diamètre>20 mm

NB: dans la méthode d'aromatogramme en utilise aussi un disque imprégné par 5µl de méthanol (test négative) et un disque imprégné par 5µl d'antibiotique Gentamicine (test positif).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

A- RÉSULTATS

B- Résultats de l'étude phytochimique

a- Rendement

Les rendements des extractions sont calculés par rapport au poids total de la poudre des graines de *Pistacia atlantica*. Les résultats sont illustrés dans le (tableau 01)

Tableau01: rendements des extractions des différents métabolites

	Rendement obtenu
Extrait hydrométhanolique	13.14%
Huiles essentielles (Hydrodistillation)	0.87 %
Huile végétale (Ether de pétrole)	08.11%

b- Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existants dans les parties étudiées de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés.

Les résultats obtenus des tests phytochimiques sont résumés dans le (tableau 02)

Tableau 02 : Les résultats des tests phytochimiques de *Pistacia atlantica*.

➤ Teste des tanins	Positif
➤ Teste des Saponosides	Positif
➤ Teste des Triterpènes	Positif
➤ Teste des Flavonoïdes	Positif

C. Dosage des polyphénols totaux

L'étude quantitative de l'extrait méthanolique au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif la détermination de la teneur totale des polyphénols et des flavonoïdes.

La quantité des polyphénols et flavonoïde correspondants a été rapportée en équivalent gramme de l'étalon utilisé et déterminé par l'équation $y=ax+b$.

Les résultats des dosages des polyphénols et les flavonoïdes sont illustrés dans le (tableau 03)

Tableau 03: résultats des dosages des polyphénols et les flavonoïdes de *P. atlantica*.

classe chimique	Rendements
Polyphénols	52.3 µg Acide gallique/mg d'extrait brut
Flavonoïdes	23.05 µg Quercétine/mg d'extrait brut

2. Résultats de l'activité antibactérienne

Les résultats du test de l'effet antibactérien obtenu par la méthode de l'aromatogramme sont résumés dans le tableau 04 et les figures 17, 18 et 19.

Tableau 04: résultats de l'activité antibactérienne de *P. atlantica*.

	Chloroforme (0.016 g/ml)	sensibilité	Butanol (0.26 g/ml)	Sensibilité	Ether de pétrole	Hydrodistillation	sensibilité	Pénicilline	sensibilité	gentamycine	sensibilité
Entérobacter	0±Sd	-	18±Sd	+++	07	0	-	0	-	12±Sd	+
Bacillus subtilis	0	-	17±Sd	++	0	0	-	0	-	20±Sd	+++
Staph 25	0	-	14±Sd	+	0	0	-	26±Sd	+++	16±Sd	++
Staph 43	0	-	11±Sd	+	0	10	+	09±Sd	+	17±Sd	++
proteus	0	-	12±Sd	+	0	0	-	0	-	14±Sd	+

Non sensible - ; sensible + ; très sensible ++ ; Extraitement sensible +++

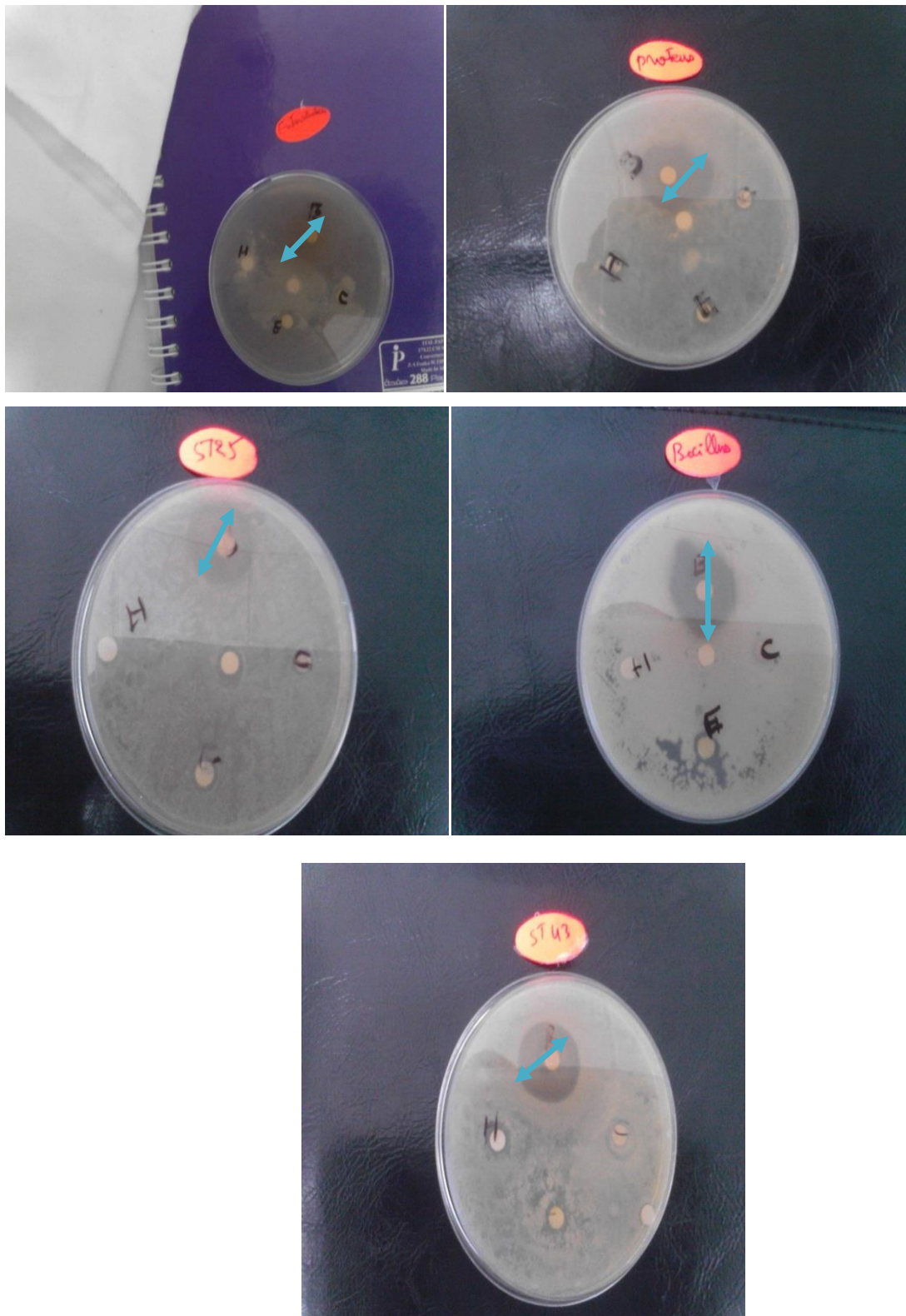


Figure 17: test d'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Pistacia atlantica*.

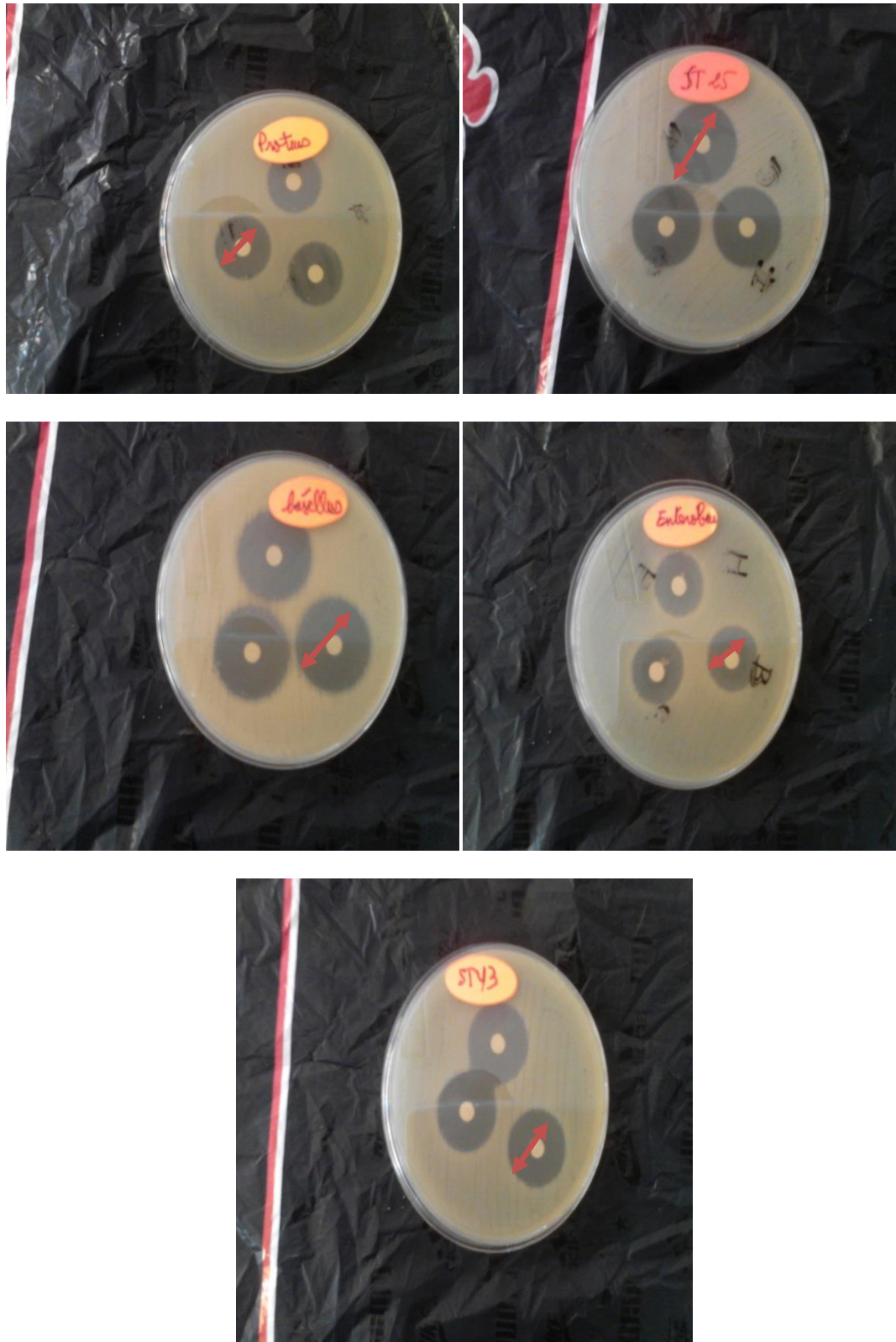


Figure 18: test d'activité antibactérienne de L'antibiotique (Gentamycine).

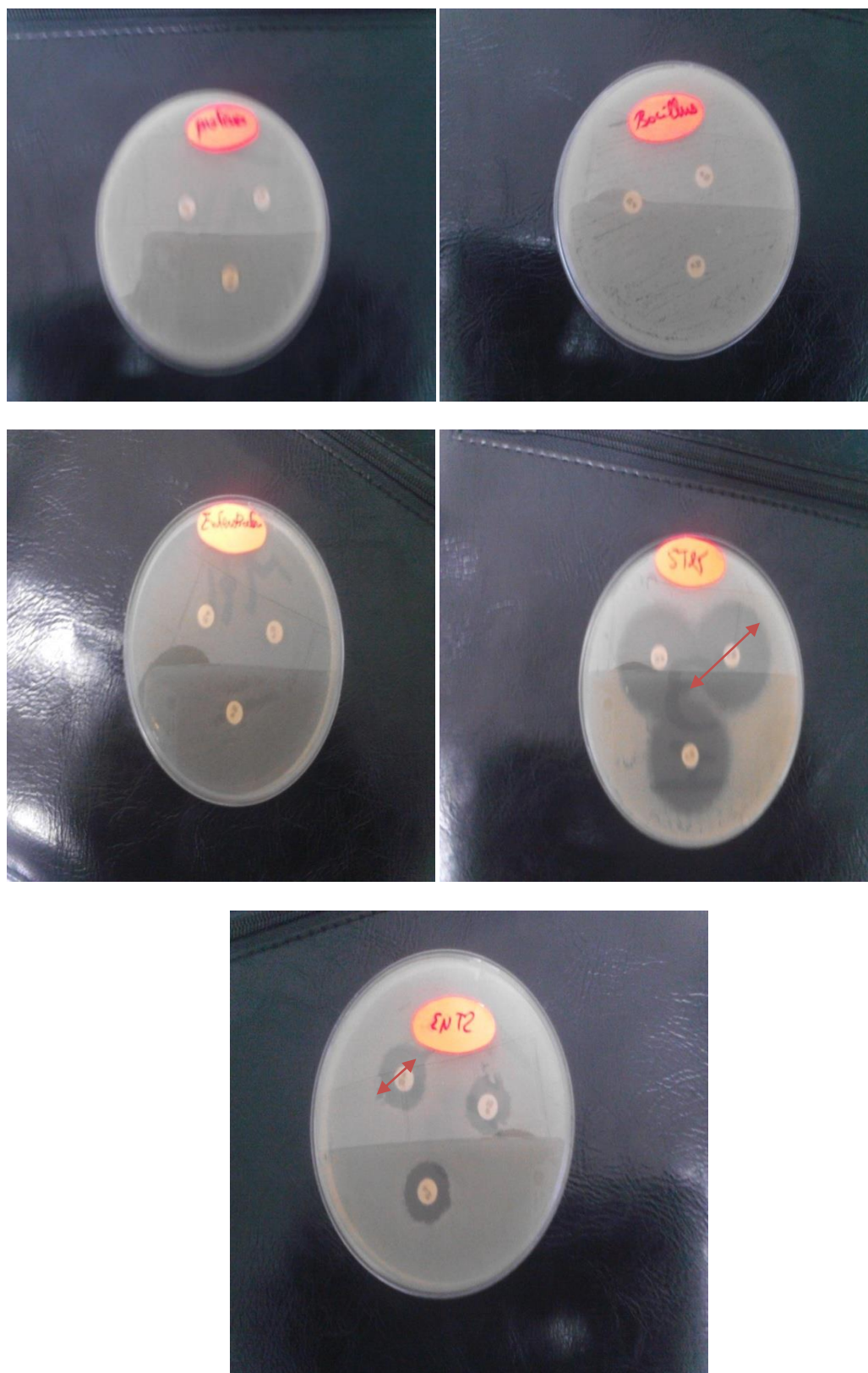


Figure 19: test d'activité antibactérienne de L'antibiotique (Pénicilline)

B .Discussion

1. Le rendement

L'hydrodistillation des graines de *P. atlantica* a donné un rendement de 0.87%, il est très important par rapport aux rendements obtenus des feuilles de la même espèce dans l'ouest algérien qui sont estimés de 0.02 à 0.12%. Les valeurs de rendement sont de $(0.06\% \pm 0.04)$, $(0.06\% \pm 0.02)$, $(0.07\% \pm 0.02)$ et $(0.09\% \pm 0.02)$ respectivement pour Laghouat, le Sud de Laghouat, Hassi R'mel et Aïn-Oussera rapportés par [55]

L'extraction des huiles végétales par l'éther de pétrole a donné un rendement de 08.11%, il est considéré comme très faible par rapport aux rendements obtenus dans les travaux d'Arena et al. [56], Trabelsi et al. [57], et Yousfi et al. [58]; à partir des graines de plusieurs espèces du genre *Pistacia* qui sont estimés de 32.8% à 60%.

La différence entre les rendements d'extraction obtenus par l'extrait méthanolique dépend des méthodes d'extraction ainsi que le type de solvant utilisé. Ces variations peuvent être attribuées aussi aux facteurs écologiques et environnementaux ainsi qu'au stade végétatif de la plante.

2. Les tests phytochimiques

Les tests phytochimiques de l'extrait brut des graines de *P. atlantica* révèlent la présence des (tanins, saponosides, flavonoïdes et les triterpènes). Ce résultat est confirmé par plusieurs travaux sur la même espèce [59].

Plusieurs composés phénoliques (l'acide gallique, catechine, épicatechine) sont identifiés dans les galles, les feuilles de *P. atlantica*, *P. lentiscus* et les graines de *P. vera* [60].

2.1-Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

Les teneurs élevées en composés phénoliques par comparaison aux flavonoïdes sont logiques étant donné que les flavonoïdes représentent les composés majoritaires des polyphénols Ceci peut être aussi expliqué par une augmentation du métabolisme phénolique de la plantes; en plus, l'existence d'une liaison avec les conditions climatiques dures et de culture telles que les températures élevées, la durée d'exposition solaire, la nature du sol. [61]

La richesse de *P. atlantica* en polyphénols (52.38 mg EC/ g d'extrait) a été confirmée par certains auteurs sur d'autres espèces. Les feuilles de *P. lentiscus* sont plus riches en phénols totaux (136.25 ± 18.9 mg EC/ g d'extrait) et en tannins (909.4 ± 42.61 équivalent d'acide tannique/ g d'extrait) et faibles en flavonoïdes (12.93 ± 1.69 mg équivalent de quercétine/ g d'extrait) par rapport aux fruits de *P. atlantica* où nous enregistrons des teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tannins de l'ordre de 285.95, 10.257, mg/ g. 12.441, 0.256 mg/ g et 3.066, 0.151 mg/ g respectivement. D'autres travaux réalisés par ont montré que la teneur la plus élevée des phénols totaux chez *P. vera* est de l'ordre de 34.7 mg équivalent d'acide tannique/g de plante. Chez les fruits de *P. terebinthus*, ont montré la variation des teneurs en polyphénols par rapport à la polarité du solvant d'extraction. Ces quantités égalent à 61.05 et 122.78 μ g équivalent de pyrocatechol/ mg d'extrait dans les extraits acétonique et méthanolique respectivement. [62].

La variabilité des teneurs en polyphénols chez ces espèces végétales est due probablement aux facteurs génotypiques (espèce), les conditions biotiques (organe et l'étape physiologique) et abiotiques; la nature du sol et le type du microclimat et aussi des étages bioclimatiques où poussent ces plantes (facteurs édaphiques) [63].

3. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des substances actives d'origine végétale dépend surtout de la composition de l'extrait testé et aussi de la nature des bactéries Gram+ ou Gram- [64].

La gentamicine s'est révélée très active vis-à-vis des souches bactériennes testées avec des diamètres d'inhibition variant de 12 à 20 mm, tandis qu'elles manifestent une résistance à l'action de la pénicilline. Une résistance dont on peut expliquer par l'utilisation intense de cet antibiotique (pénicilline).

Aucune zone d'inhibition n'a été observée autour des disques après fin d'incubation des cultures bactériennes testées par les huiles essentielles, les huiles végétales (extraites par l'éther de pétrole), la fraction chloroformique.

Il apparaît un effet antibactérien très important de la fraction butanolique sur toutes les souches bactériennes testées. Il est presque similaire à l'effet de la gentamicine. Cela peut être expliqué par le caractère autant qualitatif que quantitatif.

Des études menées sur l'activité antibactérienne des extraits de quelques espèces du genre *Pistacia* confirment la sensibilité de *Staphylococcus aureus* à l'extrait méthanolique et chloroformique [65]

La variabilité du pouvoir des extraits de *P. atlantica* est due certainement à la sensibilité des microorganismes aux différents composés chimiques qui dépend de la nature de l'espèce végétale, et des conditions climatiques [66]. En revanche, l'effet inhibiteur contre les bactéries Gram positif de certaines huiles essentielles, provenant des plantes aromatiques, est dû non pas à leurs principaux constituants mais à la présence de composés mineurs [67]. En outre, le spectre d'action du pouvoir antibactérien des huiles essentielles s'avère très étendu dans la mesure où il reflète en quelque sorte la diversité de leurs composés chimiques. De plus, on ne peut écarter l'action synergétique ou antagoniste de certains composés mono- terpéniques [68].

Les bactéries Gram+ sont plus sensibles que les bactéries Gram- pour les extraits testés. Par ailleurs, la paroi des bactéries Gram+ est riche en protéines tandis que chez les souches Gram-, elle est surtout assemblée en lipopolysaccharides (LPS), la membrane extérieure de ces dernières constitue une barrière de perméabilité efficace. Le LPS, grâce à ses charges négatives de surface qui empêchent la diffusion des molécules hydrophobes, et les protéines excluent le passage des molécules hydrophiles de poids moléculaire élevé. Alors que les bactéries Gram+ sont moins protégées contre les agents antibactériens, le peptidoglycane n'entrave que la diffusion des molécules supérieures à plus de 50 000 D. Cela semble avoir une nette corrélation avec nos résultats obtenus [69].

Conclusion

Notre travail est une contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles et des fractions de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Pistacia atlantica*.

Les tests phytochimiques mettent en évidence la richesse des graines de *P. atlantica* en métabolites secondaires, tels que: les flavonoïdes, polyphénols, tanins, sponosides, et les alcaloïdes. Cette richesse est confirmée par les tests de dosage des polyphénols et des flavonoïdes.

L'objectif de ce travail est de rechercher la classe phytochimique la plus efficace contre les pathogènes d'origine bactérienne. Il ressort de cette étude que la fraction butanolique (riche en flavonoïdes et les substances glucosidique) est la plus active que les autres extraits riches en substances non glycosidiques (la fraction chloroformique); les acides gras et stéroïdes (éther de pétrole) et les terpénoïdes (huiles essentielles).

Enfin, l'ensemble de ces résultats obtenus *in-vitro* ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substances et sources naturelles biologiquement actives. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidences.

I- Aspect Botanique

I-1- Classification

Règne : Plantae

Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Endicots

Sous classe : Rosidées

Ordre : Sapindales (Rutales)

Famille : Anacardiaceés- Térébinthacées

Genre Espèce : *Pistacia atlantica* Desf.

Noms vernaculaires : betoum en arabe local [03]



Figure 01 : Espèce *Pistacia atlantica*

1.2-Etude botanique de la famille des *Anacardiaceae*

1.2.1- Description botanique

La famille des *Anacardiaceae* sont des arbres, des arbustes (exceptionnellement plantes grimpantes), à canaux résinifères schizogènes, à feuilles composées pennées ou trifoliolées, généralement alternes, dépourvues de glandes ponctiformes. Inflorescence en panicules. Fleurs actinomorphes, hétérochlamydées, parfois apétales, 5-mères, (hétérosexées) et/ou unisexuées, généralement hypogynes, diplostémones ou haplostémones (à filets souvent concrets, à la base), apocarpes ou syncarpes. Disque intrastaminal. Gynécée isomère ou réduit à 3-1 carpelle, mais généralement 1-loculaire par avortement, à placentation axile, chaque carpelle étant 1-ovules apotropes 2 (-1)-tegminés Le fruit est généralement une drupe souvent à mésocarpe résineux. Graine exalbuminée ou presque, à embryon courbe. Pollen divers, souvent 2-3-colporé, ou avec 3-8 ouvertures circulaires ou non. Cloisons des vaisseaux à perforation unique [04] (**Figure 01**)

1.2.2-Systématique et répartition géographique des *Anacardiaceae*

La famille des *Anacardiaceae* a été proposée pour la première fois par Lindley en 1830, elle appartient à l'ordre des *Sapindales*, à la sous-classe des Rosidae ou Eudicots moyennes dialypétales (plus de 90 000 espèces connues), à la classe des Magnoliopsida ou Eudicots, au sous-embranchement des Magnoliophyta ou Angiospermes et à l'embranchement des Spermaphyte. Les espèces de cette famille sont des arbres, des arbustes ou des lianes à feuilles alternes, composées et imparipennées [05] que l'on rencontre surtout dans les régions tropicales à subtropicales et dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord., mais aussi dans la région méditerranéenne, dans l'Est de l'Asie et en Amérique.

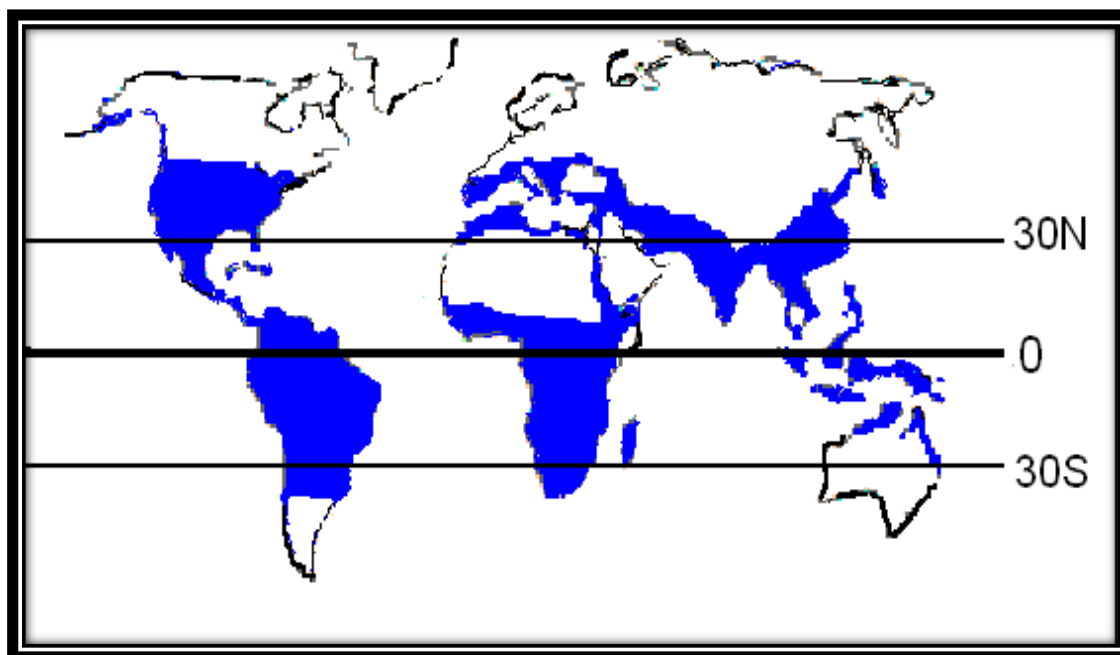


Figure 02: Répartition géographique de la famille des *Anacardiaceae*

1.3-Le genre *Pistacia*

Le genre *Pistacia* appartient à la famille des *Anacardiaceae* et comprend de nombreuses espèces [06]

Les espèces les plus importantes de ce genre dans le monde sont : *Pistacia atlantica*, *Pistacia chinensis*, *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera*, *Pistacia integerrima*, et *Pistacia palestina*

En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, en l'occurrence *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica* [07] (Figure 02)

1.3.1- Description botanique de *Pistacia atlantica* :

Pistacia atlantica Desf. Est un arbre qui peut atteindre jusqu'à 18 m de hauteur. Les grands sujets peuvent atteindre facilement les 1 000 ans. L'arbre est à odeur simplement résineuse [08]. La résine produite par l'écorce peut être distillée mais exsude naturellement par temps chaud. [09] C'est une résine mastic, en quelque sorte un ancêtre méditerranéen du

chewing-gum, dont les populations locales faisaient autrefois quelques usages et dont la pharmacie s'est longtemps servie pour la fabrication d'onguents [10]

Les feuilles sont caduques, composées, imparipennées avec 3 à 5 folioles ovales acuminées. Les fruits sont appelés El Kodori par les populations locales, appellation due à la prédominance de la couleur vert foncé maturité. Ce sont des drupes comestibles de la grosseur d'un pois, légèrement ovales et aplaties, riches en huile dense très énergétique. Ils sont récoltés en septembre octobre. La floraison a lieu en été en panicule de petites fleurs apétales (1 à 3) et 1 à 5 épales. Elle peut atteindre 15 à 20 de la hauteur dont la croissance est lente et ne produit qu'à partir de 5 à 7 ans Il existe à l'état disséminé dans toute l'Algérie : régions semi-arides et arides, dans la région de Djelfa [11]

Les espèces du genre *Pistacia* sont largement utilisées dans les industries agroalimentaires. La résine du pistachier est utilisée dans la production de colle, (dans la restauration des œuvres d'art en verre, en porcelaine, en bois et en métal. Elle est aussi utilisée dans les préparations de certains produits Cosmétiques et en parfumerie, [12] comme ingrédient en odontologie conservatrice L'usage traditionnel de la résine, comme masticatoire (chewing-gum) contre les infections stomacales et comme antiseptique pour les voies respiratoires, est très courant chez les populations Cette plante est aussi utilisée dans le traitement de l'eczéma, la paralysie, les diarrhées, les infections de la gorge, les calculs rénaux et l'asthme. C'est ainsi qu'on la considère comme agent astringent, anti-inflammatoire, antipyrinétique antibactérien et antiviral, Les espèces du genre *Pistacia* ont fait l'objet de nombreuses études sur leurs composés volatils. Ces plantes, et en particulier le pistachier de l'Atlas, se caractérisent par la présence d'une forte teneur en composés mono terpéniques et en flavonoïdes [13] Toutefois et jusqu'à présent, aucune étude ne s'est intéressée au pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de résine de *Pistacia Atlantica* Desf. de l'Algérie. La présente étude vise particulièrement l'évaluation du pouvoir antibactérien et antifongique de trois types d'huiles essentielles de cette essence végétale sur des isolats cliniques de micro-organismes pathogènes du milieu hospitalier.

II- Phytochimie

II .1- Etudes chimiques antérieures de la famille des *Anacardiaceae*

Des études phytochimique effectuées sur la famille des Anacardiaceae révèlent sa richesse en polyphénols, tannins et triterpénoïdes. Une étude phytochimique sur l'extrait éthanolique de l'*Anacardium occidentale*, a permis d'identifier des composés phénoliques qui comprennent deux classes: les flavonoïdes et les tanins condensés. Leurs structures sont identifiées par couplage chromatographie

II .2. Etudes chimiques antérieures du genre *Pistacia*

Les études phytochimiques indiquent que les espèces de *Pistacia* sont riches en monoterpènes [14] triterpénoïdes tétracyclique [15] en plus d'autres triterpénoïdes [03] les flavonoïdes[04] et d'autres composés phénoliques y compris l'acide gallique et les huiles essentielles [16] Une étude chimique réalisée par Liu et ses collaborateurs (2008) sur *Pistacia Atlantica* a permis d'isoler une nouvelle dérivés N-phényl -pyrrolidone. Sa structure a été élucidée sous forme d'acide 4-hydroxy-5-(2-oxo-1-pyrrolidinyl)-benzoïque, appelée pistaciamide (32) par les techniques spectroscopiques (1D-RMN, DEPT, HMBC et HMQC). Deux gallotannins, nommés respectivement Pistafoline A (33) et Pistafoline B (34), ont été isolés des feuilles de *P. weinmannifolia*, ces deux composés ont été séparés par chromatographie liquide à haute performance

II .3- Huiles essentielles

II .3.1-Définition

Les huiles essentielles sont des substances odorantes concentrées, obtenues à partir de plantes par entraînement à la vapeur d'eau, hydrodistillation ou expression (pression à froid). Le terme "huile essentielle" a été inventé au 16ième siècle par le médecin suisse Parascelsus von Hohenheim afin de désigner le composé actif d'un remède naturel. Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles essentielles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums. [17]

II.3.2 - Techniques d'extraction des huiles essentielles

III.3.2.1-Hydrodistillation

L'hydro distillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition et l'opération est généralement conduite à pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage communément appelé cohoba gé. Lors de la distillation des huiles essentielles, plusieurs phénomènes sont à la base d'échanges de matière entre les phases solide, liquide et vapeur, d'où l'influence d'un grand nombre de paramètres sur la qualité et le rendement de la production [18] Les expérimentations conduites jusqu'à épuisement du substrat en essence montrent que la durée de la distillation est plus longue pour les organes de plantes ligneuses que pour les herbacées. Cette différence est fortement liée à la localisation des structures d'élaboration ou de stockage des huiles essentielles pouvant être superficielles ou internes. De ce fait, elles ont une influence sur le déroulement de l'hydro distillation, c'est-à-dire sur les mécanismes successifs mis en jeu, et par conséquent sur la durée. [19]

III.3.2.2- Hydrodistillation-extraction simultanée

La distillation à la vapeur. [20] combine les avantages de l'hydro distillation et de l'extraction au solvant. L'hydro distillation permet d'éviter l'extraction des composés non volatils, et l'utilisation en faible quantité d'un solvant non miscible à l'eau facilite l'extraction des composés organiques [21] Ce procédé très efficace, repose sur le chauffage en parallèle de la matrice (dans l'eau) et ulves. Les vapeurs sont dirigées vers un extracteur central et se condensent sur un doigt froid. Les liquides sont collectés et décantés dans la partie basse de l'appareil, puis retournent dans leurs ballons respectifs. L'avantage principal de cette méthode réside dans ce recyclage, qui assure une faible consommation de solvant et la pré concentration de l'extrait. Bien que tout solvant organique non miscible dans l'eau puisse être utilisé (en ajustant l'appareil en fonction de sa densité), l'inconvénient majeur de cette méthode, tout comme pour l'entraînement à la vapeur, réside dans la formation possible d'artefacts dus au chauffage de la matrice en milieu aqueux. [22] Néanmoins, cette limite a conduit à développer des extractions sous pressions réduites à des températures proches de la température ambiante. [23]

III. 3.2-Huiles essentielles comme agents antimicrobiens

III.3.1-Généralités

Depuis l'Antiquité, les extraits aromatiques des plantes ont été utilisés dans différentes formulations, comme pour les médicaments et la parfumerie. [24] Les huiles essentielles ont été considérées comme les agents antimicrobiens les plus efficaces présents dans ces plantes. Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Ces propriétés antimicrobiennes sont dues à la fraction des huiles essentielles contenue dans les plantes. Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums. Mais la tendance actuelle des consommateurs à rechercher une alimentation plus naturelle, a entraîné un regain d'intérêt des scientifiques pour ces substances [25] Depuis deux décennies, des études ont été menées sur le développement de nouvelles applications et l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles dans le domaine alimentaire. Les effets antimicrobiens de différentes espèces d'herbes et d'épices sont connus depuis longtemps et mis à profit pour augmenter la durée de vie des aliments. Ainsi, les huiles essentielles, actuellement employés comme arômes alimentaires sont également connus pour posséder des activités antimicrobiennes et pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaires, et ce d'autant plus qu'ils sont pour la plupart classés "généralement reconnus comme sains". [26] ou approuvés comme additifs alimentaires par la Food and Drug Administration. Ils n'ont, par conséquent, pas besoin d'autorisation d'emploi dans les aliments. Cependant, des études préalables sont nécessaires afin de mieux cerner leur activité antimicrobienne.

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs [27] Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines. Pour les levures, elles agissent sur la biomasse et la production du pseudo mycéliums alors qu'elles inhibent la germination

des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures.

III.3.2- Mode d'action contre les bactéries

L'activité antimicrobienne des HE a fait l'objet d'un grand nombre de publications à l'échelle internationale. Cependant, la majorité des travaux cités dans ces publications s'arrêtent au niveau de la mise en évidence de l'activité antimicrobienne de ces HE. Les études sur les mécanismes d'action de cette activité sont en nombre négligeable. Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action des HE. Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des HE ait son propre mécanisme d'action. D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases :

- * attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.

- * acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.

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

III.4-Les Huiles Végétales

III.4.1-Définition

Une huile végétale est un mélange à consistance liquide ou semi-liquide à température ambiante, de substances majoritairement hydrophobes, solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires, non volatiles : on parle alors d' « huile fixe ou grasse ». Les huiles végétales s'extraient naturellement par compression de la matière qui les contient, préalablement concassée. La compression est exercée à froid ou à chaud. [28] .

III.4.2- Classification

Selon l'utilisation finale des huiles, on distingue :

□ **Huiles officinales** : Ce sont des huiles utilisées dans un but thérapeutique ou cosmétique. Elles sont exclusivement obtenues par expression à froid. Il s'agit d'huile vierge de première pression.

□ **Huiles alimentaires** : Ce sont des huiles destinées à être utilisées par le secteur agro-alimentaire, obtenues par expression des graines oléagineuses, à froid ou à chaud. Elles peuvent subir des traitements de raffinage pour éliminer les pigments, les substances odorantes, à goût insipide et d'autres contaminants.

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

III.4.3- Composition des huiles végétales

Une huile végétale est constituée majoritairement de triglycérides, d'acides gras, accompagnés de substances lipidiques auxiliaires non glycéridiques, comme les hydrocarbures saturés ou insaturés, des phytostérols, des alcools terpéniques, des alcools dans les huiles une quantité de lipides complexes, comme les phospholipides et les glycolipides. [29]

III -Principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce

La chimie de la plante est relativement peu étudiée. La plante est connue pour contenir une huile essentielle et fixe une huile grasse des tanins condensés et hydrolysables des glycosides flavonoïques des anthocyanes une résine « mastic de chio » et des triterpènes [30]

III.1-Les polyphénols :

III.1.1-Définition

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux. Ils appartiennent à leur métabolisme secondaire et participent à leur défense contre les agressions environnementales. Ce sont des phytomicronutriments et généralement des pigments responsables des teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et fruits (jaune, orange, rouge). C'est une classe constituée d'environ 8 000 composés, divisés en plusieurs

catégories qui sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins issus de la polymérisation des flavonoïdes, les lignanes qui, avec les isoflavones, sont nommées phyto-œstrogènes. On recense 4 000 flavonoïdes dans le règne végétal. Les flavonoïdes sont eux-mêmes classés en fonction de leur degré d'oxydation en 6 grandes classes. [31]

III.1.2- Classification des polyphénoles

III. 1.2.1- Acides phénoliques

Ces composés sont universellement rencontrés chez les plantes. Deux sous-groupes peuvent être distingués:

- Les acides hydroxybenzoïques, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique,
- Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique.

Les acides hydroxycinnamiques peuvent exister sous deux formes diastéréoisomères (présence de la double liaison de la chaîne latérale). [32]

Les formes trans sont les plus abondantes, car thermodynamiquement plus stables. Les acides hydroxycinnamiques sont naturellement présents associés avec diverses molécules provenant de voies métaboliques différentes. On les trouve sous forme :

- D'esters avec des acides-alcools, dont le plus commun est l'acide quinique. L'acide 5-caféoylquinique et l'acide chlorogénique, composé très répandu dans le règne végétal et l'alimentation:
- D'esters glycosidiques (sucres liés à la fonction acide);

III.2- Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des produits largement distribués dans le règne végétal et sont couramment consommés quotidiennement sous forme de fruits, légumes et boissons telles que le vin et le thé. 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, antihépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires, antiulcéreuses et même antitumorales significatives. [33]

III. 2.1-Structure des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) [34]

Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3- C6 en formant une structure de type diphényle propane dont des groupements hydroxyyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule [35]

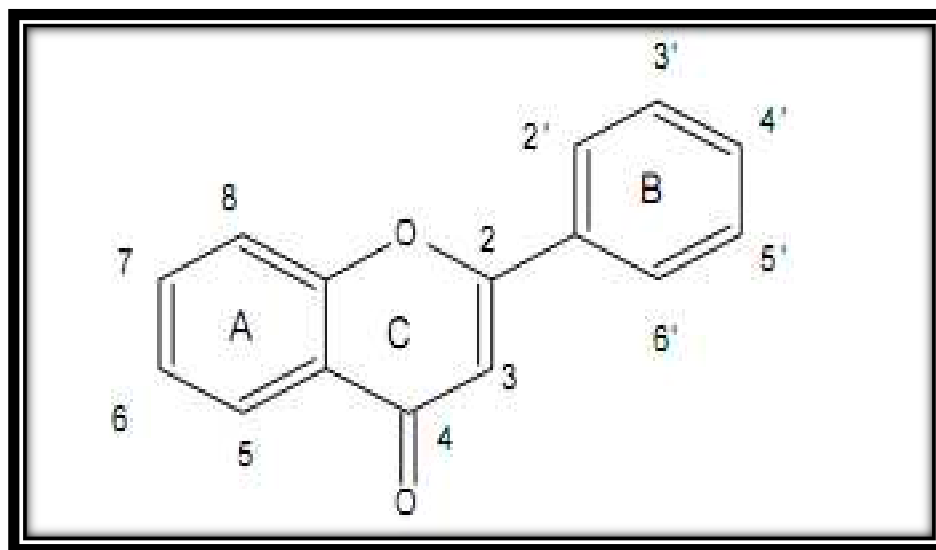


Figure 03: Squelette de base des flavonoïdes

III.2.2- Effets antivirales et antibactériennes des flavonoïdes :

La stratégie de recherche d'un composé antiviral consiste à mesurer la réduction de l'infection virale de cellules en culture. Une substance peut agir à différents niveaux du cycle viral :

- au niveau de l'adsorption du virus sur la cellule hôte,
- au niveau de la pénétration du virus dans la cellule hôte,
- au niveau de la répllication du virus et la synthèse des protéines virales,
- au niveau de l'assemblage et de la sortie du virus hors de la cellule hôte.

Les flavonoïdes sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales. Ce mécanisme semble être impliqué dans la protection des souris vis-à-vis d'une infection virale à

la suite d'une administration journalière de 3-O-méthylquercétine à raison de 20 mg/kg pendant 9. [36] jours ont également montré une corrélation entre l'effet inhibiteur de certains flavonoïdes sur divers virus de l'herpès et leur capacité à augmenter les taux intracellulaires en AMPc dans des cellules infectées. Des travaux ont mis en évidence un impact des flavonoïdes sur le rétrovirus HIV responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). De nombreux agents sont susceptibles d'inhiber la réplication du rétrovirus du SIDA par une inhibition de la reverse transcriptase. Toutefois, ils peuvent être toxiques pour l'organisme. Il a été étudié l'impact des flavonoïdes sur la « reverse transcriptase ». Les flavonoïdes se sont montrés de bons inhibiteurs de cette enzyme[37] Cependant, leur impact semble plus fort sur l'ADN et l'ARN polymérase de la cellule hôte que sur la reverse transcriptase viral[38] e Récemment, des chercheurs ont montré que les flavonoïdes pouvaient avoir une action plus sélective en interagissant avec une glycoprotéine de surface du virus HIV (la gp120), empêchant ainsi la liaison du virus à la cellule hôte Enfin, les flavonoïdes seraient susceptibles d'inhiber l'intégrase rétrovirale du virus HIV-1. Cette enzyme permet l'intégration du génome viral à celui de la cellule hôte. Des études structure-activité devraient permettre de montrer quelles sont les molécules les plus actives [39] En fait, il semble que l'intérêt éventuel des flavonoïdes ou d'autres micro-nutriments pour combattre le virus du SIDA n'ait pas été suffisamment approfondi.

Théoriquement, les flavonoïdes pourraient exercer des effets antibactériens puisqu'ils sont de puissants inhibiteurs *in vitro* de l'ADN gyrase. Une étude a montré l'effet bactéricide de différentes flavanones sur un staphylococcus aureus. [40] Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, il faut citer :

- l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes,
- la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer,
- l'inhibition du métabolisme microbien. [41]

III .3- Les tanins

Les tanins naturels sont des molécules polyphénoliques hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 et, qui outre les réactions habituelles des phénols, provoquent la précipitation des protéines [42]

A cette définition correspondent 2 classes structurales distinctes pouvant être présentes simultanément chez les végétaux: les tanins hydrolysables et les tanins condensés

Les tanins hydrolysables sont des hétéros polymères dont l'hydrolyse chimique ou enzymatique libère outre la molécule de glucose, de l'acide gallique (cas de gallotannins) ou ses formes dimériques: acide m-digallique, acide ellagique (cas des ellagitannins).

Les tanins condensés (tanins vrais ou tannoïdes) résultent de la condensation de molécules élémentaires de type flavane 3 ol (catéchines) ou flavane 3-4 diols (leucoanthocyanidines). Les tanins condensés sont également appelés Proanthocyanidines; en effet leur oxydation en milieu alcool-acide à chaud entraîne la formation de pigments anthocyaniques tel que cyanidine et delphinidine. C'est certainement ce type de molécules qui est dotée de propriétés remarquables chez les plantes qui en pourvues

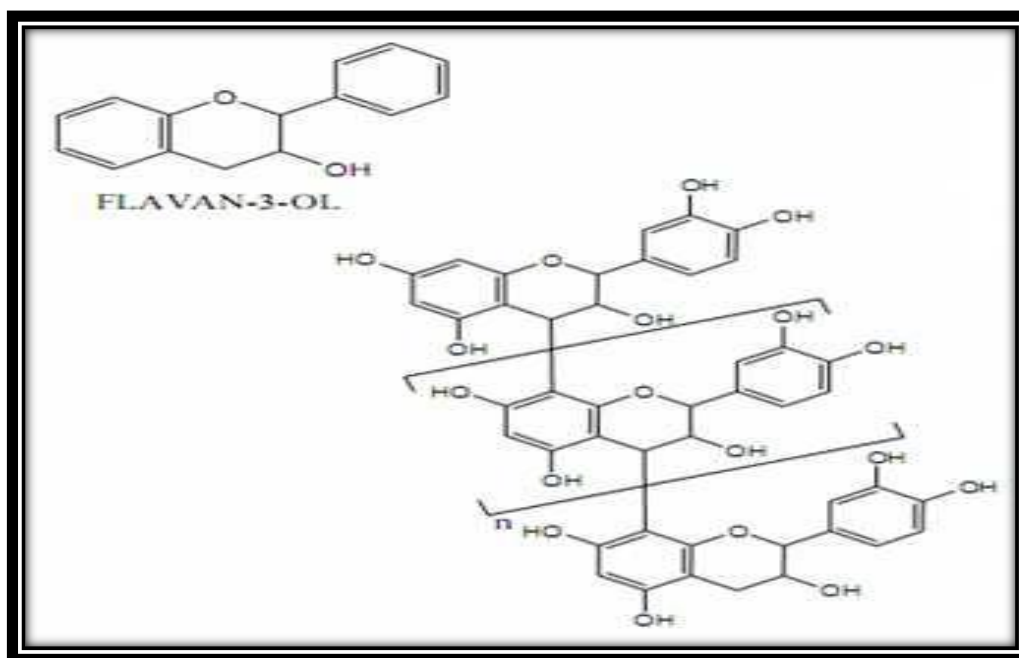


Figure 04 : Structure des tanins condensés et leur monomère

III.3.1- Propriétés pharmacologiques des tannins

Plusieurs observations, chez les humains comme chez les animaux de laboratoires suggèrent que les tannins exhibent un large spectre de propriétés pharmaceutiques, thérapeutiques et chimioprotectrices dues à leur propriété antiradicalaire [43]

En effet, les tannins protègent contre les toxicités induites par différents agents (hydrogène peroxyde, acétaminophène, extraits contenus dans la fumés du tabac...), contre l'hypercholestérolémie et les changements de la formule sanguine [44] Ils jouent aussi un rôle dans la prévention contre les deux formes de mort cellulaire connues, apoptose et nécrose, diminuant ainsi les dommages causés dans le DNA lors de ces 2 dernières. L'action cytoprotectrice des proanthocyanidines est supérieure à celle des vitamines [45]

III.3. 2- Activités antimicrobiennes des tanins

L'activité antimicrobienne des tanins est importante. La croissance de plusieurs bactéries, virus, champignons et levures est inhibée par les tanins [46]

III.4- Les alcaloïdes

Ce sont des produits azotés basiques, d'origine naturelle dont l'atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et dont l'activité pharmacologique est significative. Les pseudo-alcaloïdes ne sont pas des dérivés des acides aminés. On les nomme alors alcaloïdes terpéniques et les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Les alcaloïdes ont, de plus, la propriété de réagir avec des sels de métaux lourds, ce qui permet leur caractérisation aisée (réactifs de Mayer, de Dragendorf, de Wasicky, de Bouchardat). [47]

Des structures de type alcaloïde existent chez les animaux provenant parfois de la transformation d'alcaloïdes trouvés dans le régime alimentaire : ainsi la castoramine est issue de la métabolisation des alcaloïdes des nénuphars consommés par le castor et les alcaloïdes pyrrolizidiniques (ex : sénécionine 38) proviennent de plantes (Senecio) consommées par les insectes (Tyria). D'autres semblent provenir du métabolisme de l'animal et sont excrétés par les glandes exocrines ou encore jouent un rôle dans la communication (phéromones).

La synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique, puis les alcaloïdes se concentrent dans la vacuole. Chez les pavots, ces vacuoles sont spécialisées en

laticifères. Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Ainsi, la nicotine, produite dans les racines, migre vers les feuilles où elle est déméthylée. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines

Si dans les plantes, les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme [48]

- Antitumoraux : vincalécoblastine, vincristine, taxol, camptothécine.
- Antalgiques : morphine, codéine.
- Spasmolytiques : tubocurarine et papaverine.
- Vasodilatateurs : vincamine et ajmalicine.
- Emétiques : émétine.
- Antitussifs : codéine.
- Antiarythmiques : quinidine et ajmaline.
- Antipaludiques : quinine.
- Ils sont également des agents de traitement de la maladie d'Alzheimer : galanthamine.

IV -Phytothérapie

IV .1-Utilisation traditionnelle

Les médecines traditionnelles pratiquées de part et d'autre des rives de la méditerranée, attribuées au lentisque des vertus dans le traitement des ulcères, des plaies et brûlures légères. La médecine traditionnelle algérienne utilise surtout l'huile grasse obtenue par expression des fruits de lentisque dans le traitement des petites blessures, brûlures légères et érythèmes. L'huile est aussi employée par voie orale contre les problèmes respiratoires d'origine allergique et les ulcères de l'estomac. Ces usages sont surtout répandus à l'Est du pays (région d'El-Milia, Skikda, Guelma). [49]

IV .2- Propriétés et usages thérapeutiques :

Les espèces du genre *Pistacia* occupent une place appréciable dans la médecine traditionnelle et pharmaceutique depuis l'antiquité. Elles attirent l'attention des chercheurs grâce à ces potentiels antioxydants et ces activités antimicrobienne, anti-inflammatoire, antipyrétique, antidiabétique, anti radicalaire et cytotoxique Elles sont employées dans le traitement d'eczéma, les infections de la gorge, la lithiase rénale, l'asthme, l'estomac et comme un stimulant *P. atlantica* constitue avec *P. lentiscus* des espèces principales de la production d'oléorésine Cette résine qui est produit par l'écorce et exsudé naturellement de façon bondant par temps chaud est utilisée comme antiseptique du système respiratoire et aussi pour d'autres usages médicaux Chez les marocains, la décoction des feuilles est largement employée pour traiter les infections de l'œil Les fruits trouvent leur application dans la cuisinée les pratiques médicinales algériennes en particulier, dans la région de Djelfa, Laghouat et Ghardaïa. L'huile de ces fruits comestibles est souvent mélangée aux dattes écrasées et peu être consommé à toute heure de la journée avec du petit lait. L'huile à un goût très proche de celui du beurre, elle est très appréciée dans la région. Les graines sont séchées, écrasées ou moulues et ramassées avec de l'eau sucrée et consommées en boulettes ou bien séchées et croquées telles quelles comme des cacahuètes [50]

En médecine traditionnelle, on utilise la résine de pistachier *Atlantica* afin de combattre les ulcères d'estomac. Son efficacité contre la bactérie *Helicobacter pylori* a en effet été confirmée. Cette méthode consiste à éliminer la bactérie *H. pylori* par mastication de résine du pistachier *Atlantica*, comme une gomme à odeur prononcée. L'huile est souvent utilisée en médecine comme astringent, expectorant, et cicatrisant. Les huiles essentielles sont utilisées pour leurs effets pharmacologiques entant que décongestionnant veineux-lymphatique et antispasmodique [51]

En Algérie le fruit du pistachier de l'Atlas (*Pistacia Atlantica*), riche en matière grasse, n'est utilisée que par la population locale d'une façon très artisanale en médecine comme anti diarrhétique et aussi en alimentation des troupeaux. Le suintement du tronc d'arbre donnant l'encre rouge est utilisé dans la tannerie des peaux La résine qui suinte de l'arbre du *Pistacia Atlantica*, dont l'odeur rappelle celle de la térébenthine [52]

IV .3- Intérêts pharmacologiques, nutritionnels et industriels du genre *Pistacia*

Les espèces de *Pistacia* sont utilisées en traitement de l'eczéma, la paralysie, diarrhée, les infections de gorge, la jaunisse, l'asthme et les douleurs d'estomac et des calculs rénales[53] Elles ont diverses activités biologiques, anti- athérogénique, hypoglycémique, antioxydant, anti-inflammatoire et insecticide La résine de différentes espèces de *Pistacia* est traditionnellement utilisée comme une gomme à mâcher et protège les lèvres contre la sécheresse, contre certaines maladies d'estomac et comme antiseptique pour le système respiratoire[54] Les espèces de *Pistacia* ont une large utilisation dans l'industrie alimentaire

La résine est utilisée comme un rafraîchissant dans les boissons alcoolisées et non alcoolisées, dans certains mélanges de cosmétiques et de parfumerie, et dans la production de dentifrice

IV.4-Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antimicrobien des HE a une grande influence sur les résultats. Des difficultés pratiques viennent de l'insolubilité des constituants des HE dans l'eau, de leur volatilité et de la nécessité de les tester à faibles concentrations. A l'heure actuelle, l'activité antimicrobienne *in vitro* d'une substance peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide.

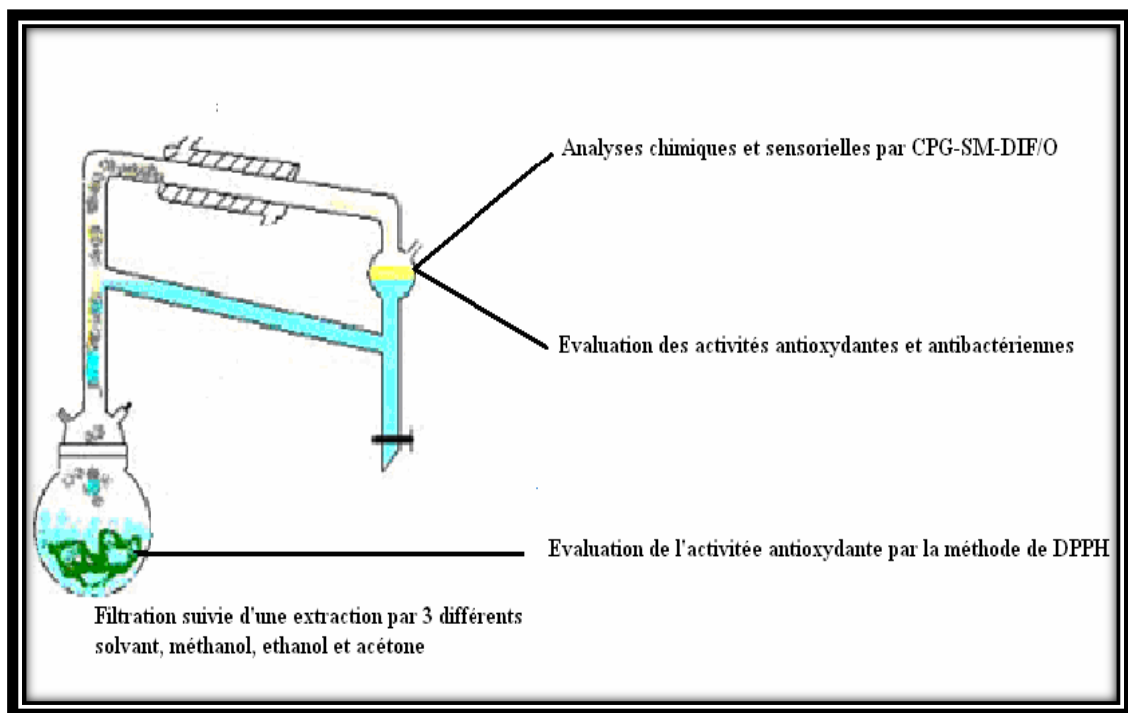


Figure 05: Schéma expérimental du protocole d'analyse chimique des HE et d'évaluation des activités antibactériennes

IV.4.1-Technique en milieu solide (méthode de la diffusion en disque)

La diffusion de l'agent antimicrobien dans le milieu de cultureensemencé résulte d'un gradient de l'antimicrobien. Quand la concentration de l'antimicrobien devient si diluée qu'il ne peut plus inhiber la croissance de la bactérie testée, la zone d'inhibition est démarquée. Le diamètre de cette zone d'inhibition autour du disque de l'antimicrobien est corrélée avec la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour la combinaison particulière bactérie/antimicrobien, la zone d'inhibition correspond inversement à la CMI de l'essai. Généralement, plus la zone d'inhibition est importante, plus la concentration de l'agent antimicrobien nécessaire pour inhiber la croissance bactérienne des organismes est faible. La mesure manuelle des zones d'inhibition peut prendre du temps. Les dispositifs automatisés avec zone de lecture sont disponibles et peuvent être intégrés avec le rapport de laboratoire et .les systèmes de manipulation de données. Les disques devraient être distribués également de sorte que les zones d'inhibition autour des disques antimicrobiens dans l'essai de diffusion en disque ne se chevauchent pas et qu'ainsi la zone d'inhibition puisse être déterminée.

Généralement cela peut être effectué si les disques sont distants d'au moins 24 mm de centre à centre, bien que cela dépende de la concentration du disque et de la capacité de l'antimicrobien à diffuser dans la gélose.

IV.4.2 -Technique en milieu liquide (méthode de dilution)

Le but des méthodes de dilution en bouillon et en gélose est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée (la CMI, habituellement exprimée en mg/ml ou mg/litre). Cependant, la CMI ne représente pas toujours une valeur absolue. La « véritable » CMI est un point entre la plus basse concentration qui empêche la croissance de la bactérie et la concentration inférieure immédiate.

IV.4.2 .1-La dilution en bouillon

La dilution en bouillon est une technique dans laquelle une suspension bactérienne (à une concentration optimale ou appropriée prédéterminée) est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide. La méthode de dilution en bouillon peut être effectuée dans des tubes contenant un volume minimum de 2 ml (macro dilution) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de microfiltration (micro dilution). L'utilisation de ces plaques avec un protocole documenté, y compris les précisions sur les micro-organismes de référence approprié, peut faciliter la comparaison des résultats entre analyses.

IV.4.2 .2-La dilution en gélose

La dilution en gélose implique l'incorporation d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé à des concentrations variables, en général une dilution en série de 2 en 2, suivie de l'ensemencement d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose de la boîte.

- [01] **Yakhlef G., Laroui, S., Hambaba, L, Aberkane, M.-C A. Ayachi, A., (2011).** « Ethnopharmacologie Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle ». DOI 10.1007/s10298-011-0641-6 p 9:209-218 .
- [02] **Adams RP, (1998).** The leaf essential oils and chemotaxonomy of *Pistacia atlantica*. *Biochem Syst Ecol.* 26: 637–45.
- [03] **Gaussen, H, Leroy, J.F, Ozenda, P, (1982).** Précis de Botanique Les Végétaux Supérieurs. 2 tome , Ed. Masson. p26 :310-245.
- [04] **Quezel P., et Santa S., (1963).** Nouvelle Flore De l'Algérie et des régions désertiques méridionales Tome II. Edition Centre National de la Recherche.p1320.
- [05] **Arbonnier M., (2002).** Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. Pont-sur-Yonne (France): CIRAD/MNHN. p. 574.
- [06] **Barrero AF., Herrador MM., Arteaga JF., Akssira M., (2005).** Chemical composition of the essential oils of *Pistacia atlantica* Desf. *JEOR*17(1):52-4.
- [07] **Stern B., Heron C., Corr L., (2003).** Compositional variations in aged and heated *Pistacia* resin found in late bronze age Canaanite amphorae and bowls from Amarna. *Egypt Archaeometry.* 45:457-69.
- [08] **Kordali S., Cakir A., Zengin H., Duru ME., (2003).** Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia Atlantica* grown in Turkey. *302(2) :230-54.*
- [09] **Baytop T., (1999).** Therapy with medicinal plants in Turkey. Istanbul, Nobel Tip Kitap Evleri Press, Istanbul.. 2:144-58.
- [10] **Delazar A., Reid RG., Sarker SD., (2004).** GC-MS Analysis of the essential oil from the oleoresin of *Pistacia atlantica* Var. *mutica*. *Chemistry of Natural Compounds.* 40(1):24-7.
- [11] **Monjauze A., (1980).** Note sur la régénération du Batoum par semis naturels dans la place d'essais de Kef Lefaa. *Bull Soc d'histoire naturelles de l'Afrique du Nord-Alger.* Tome 58, Fasc. 3 ET4 2-8 pp.
- [12] **Giner-Larza E., Manez M., Recio S., et al. (2001).** Oleanonic acid, a 3-oxotriterpene from *Pistacia*, inhibits leukotriene synthesis and HAS anti-inflammatory activity. *J Pharmacol.* 428(1):137-43.

- [13] **Kawashty A., Mosharrata El-Gibali SAM, Saleh NAM, (2000).** The flavonoids of four *Pistacia species* in Egypt. *Biochem Syst Ecol.* 28:915-91.
- [14] **Tutin TG., Heywood VH., Burgess NA., (1968).** *Flora Europaea.* Cambridge University Press: Cambridge, UK. vol 2, p. 237.
- [15] **Tzakou O., Bazos L., Yannitsaros A, (2007).** Volatile metabolites of *Pistacia atlantica* Desf. from Greece. *Flavour Frag J.* 22(5):358-62.
- [03] **Gausсен H., Leroy J.F., Ozenda P., (1982).** *Précis de Botanique. 2 – Les Végétaux Supérieurs,* Ed. Masson, 2ème édition. pp.579.
- [04] **Quezel P., et Santa S., (1962).** *Nouvelle Flore De l'Algérie et des régions désertiques méridionales* CNRS (Eds).France.p1200.
- [16] **Ansari et coll., (1993).** Tree new tetracyclic triterpenoids from *Pistacia integerrima* galls. *Pharmazie.* 49, 356-357.
- [17] **Caputo R., Mangoni L., Monaco., Palumbo G., (1975).** Triterpenes of galls of *Pistacia terebinthus*: Galls produced by *Pemphigus utricularius*. *Phytochemistry* 14, 809-811.
- [18] **Monaco et coll., Monaco P., Previtiera L., Mangoni L., (1982).** Terpenes in *Pistacia* plants: monoterpenes against gall-forming aphids. *Phytochemistry* .21, 2408-2410.
- [19] **Essawi T., et Srour M., (2000).** "Screening of some palestinian medicinal plants for antibacterial activity." *Journal Of Ethnopharmacology,* .70: 343-349.
- [20] **Pollien P., Ott A., Fay L.B., Maignial L., et ChaintreauA., (1998).** "Simultaneous distillation-extraction: preparative recovery of volatiles under mild conditions in batch or continuous operations." *Flavour and fragrance Journal.* 13: 413-423.
- [21] **Chaintreau A., (2001).** "Simultaneous distillation-extraction: from birth to maturity–review." *Flavour and Fragrance Journal.* 16: 136-148.
- [22] **Pillone L., Bosset J.O .,et Tabacchi, R., (2002) .**"Rapid preconcentration and enrichment techniques for the analysis of food volatile." *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie.* 35: 1-14.
- [23] **Heilman J., Merfort I., et WeissM., (1995).** "Radical Scavenging activity of different 3',4' dihydroxyflavonols and 1,5-dicaffeoylquinic acid studied Ed. Springer, 1st edition. 58 :2-19.

- [24] **Essawi T., et Srour M., (2000).** "Screening of some palestinian médicinal antibactérien activity." *Journal Of Ethnopharmacology*.70: 343-349.
- [25] **Goeckeritz D., (1968).** "Essential oil of *Chrysanthemum balsamita*." *Pharmazie*. 23: 515-518.
- [26] **Sipailiene A., Venskutonis R., Baranauskiene R., et Sarkinas A.,(2006).** "Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils." *Journal of Essential Oil Research*. 18: 698-703.
- [27] **Hajji S., Beliveau J., et Simon D., (1985).** "Comparative study of an essential oil obtained according to two different extraction procedures: steam distillation and nstitute. 46: 184-91.
- [28] **Loziene K., Venskutonis R., Sipailien A., et Labokas J., (2007).** "Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes." *Food Chemistry*. 103: 546-559.
- [29] **Grosjean N., (2007)** *L'Aromathérapie*, édition Eyrolles. p 163.
- [30] **Abbas M., Boudriche D., (2007).** Identification et Extraction des Molécules Bioactives de *Pictacia Atlantica* L. et Détermination de Quelques Effets Pharmacologiques, Centre de recherche et de developpement, Saidal, Alger .p204.
- [31] **Middleton E., Kandaswami E., et Theoharides T., (2000).** «The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. » *Pharmacol Rev.* Vol. 52, no 4, p. 673-751.
- [32] **Ez-zohra nkhili., (2009).** « Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant » *Diplôme de Doctorat*. p9-10V378.
- [33] **Ghedira K., (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique . n°4, p.162-169.
- [34] **Erdman JW., Jr., Balentine D., Arab L., Beecher G., Dwyer JT., Folts J., Harnly J., Hollman P., Keen CL., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G., Burrowes J., (2005).** Flavonoids and Heart Health: Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop, Washington. DC. *J Nutr.* 2007;137:718S–737S.

- [35] **Williamson G., Burrowes J., (2007).** Flavonoids and heart health: Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition.* 137 (3 supp 1): 718 s-737 s.
- [36] **Emerenciano P., Barbosa O., Scotti T., et Ferrero M., (2007).** Self organising maps in chemotaxonomic studies of Asteraceae : a classification of tribes using flavonoid data. *Journal of brazilian chemical society.* 18 (5): 891-2899.
- [37] **Narayana R., Reddy S., Chaluvadi R., et Krishna R., (2001).** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology.* 33: 2-16.
- [38] **Vrijssen REL., Van hoof M., Vlietinck J., Vanden berghe A., Boeye A., (1987).** The poliovirus induced shut-off of cellular protein synthesis persists in the presence of 3-methylquercetin, a flavonoid which blocks viral protein and RNA synthesis. *Antivirus. Res.* 7(1): 35-42.
- [39] **Spedding G., Ratty A., Middleton J., (1989).** Inhibition of reverse transcriptase by flavonoids. *Antivirs. Res.* 12(2): 99-110.
- [40] **Ono K., Nakane H., (1990).** Mechanisms of inhibition of various cellular DNA and RNA polymerases by several flavonoids. *J. Biochem.* 108(4): 609-13.
- [41] **Warzecha H., Stöckigt D., (2002).** High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups *Review Journal of Chromatography. A,* 967, 85–113.
- [42] **Silva O., Ferreira E., Vaz Pato M., Canica M., Gomes E.T., (2002).** In vitro anti- *Neisseria gonorrhoeae* activity of *Terminalia macroptera* leaves. *FEMS Microbiology Letters.* 211, 203-206.
- [43] **Merghem R., (2009).** *Eléments de biochimie végétale.* 16(24), pp172.
- [44] **Tohge T., Ohme M., Takagi M., Yamazaki M., Saito K., (2005).** Enhanced radical scavenging activity of genetically modified *Arabidopsis* seeds. *Biotechnol. Lett.* 27 (5): 297-303.
- [45] **Cheruvanky H., (2004).** Method for treating hypercholesterolemia, hyperlipidemia and arteriosclerosis. *Unitet Stat Pat.* 6 (4): 733-799.
- [46] **Ray SD., Wong V., Rinkovsky A., Bagohi M ., Raje RR ., Bagh D., (2000).** Unique organoprotective properties of a novel IH636 grape seed

- proanthocyanidin extract on cadmium chloride induced nephrotoxicity dimethylnitrosamine (DMN) – induced splenotoxicity and mocap-induced neurotoxicity in mice. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* 107 (1-2): 105 – 28.
- [47] **Chung K-t ., et Wei C-I., (2001).** Are tannins a double edged sword in biology and health. *Trends in Food Science et Technology.* 9:168-175.
 - [48] **sabrina kief ., (2003).** Thèse pour obtenir le grade de docteur du muséum national d’histoire naturelle « Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l’alimentation de chimpanzés (*pan troglodytes schweinfurthii*) en ouganda activités biologiques et étude chimique de plantes consommées ».
 - [49] **McCalley V., (2002).** Analysis of the Cinchona alkaloids by high-performance liquid chromatography and other separation techniques, Review. *Journal of Chromatography .A,* 967, 1–19.
 - [50] **Kawashty A., Mosharrata M., El-Gibali M., Saleh M., (2000).** The flavonoids of four Pistacia species in Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology.* 28, 915-917.
 - [51] **Kusmenoglu S., Baser K., Özek, T., (1995).** Constituents of the essential oil from the hulls of *Pistacia vera* L. *Journal of Essential Oil Research .7,* 44-442.
 - [52] **Yahia M., (1992).** La Thérapeutique par les Plantes Communes en Algérie, Ain Taya. p59.
 - [53] **Chief R., (1982).** Les plantes médicinales. ED. Solor. pp. 2276-2277.
 - [54] **Davidson., (1948).** Report on the gum mastic industry in Chios. *Bulletin of the Imperial,* pp1125-1126.
 - [55] **GOURINE N., BOMBARDA I., YOUSFI M., and GAYDOU M., (2010).** Chemotypes of *Pistacia atlantica* leaf essential oils from Algeria *Natural product of communication .vo.l. 5, N° 1,* 115- 120.
 - [56] **Arena E., Campisi S., Fallico B., and Maccarone, E., (2007).** “Distribution of fatty acids and phytosterols as a criterion to discriminate geographic origin of pistachio seeds,” *Food Chemistry.* vol. 104, no. 1, pp. 403–408.

- [57] **Trabelsi H., Cherif A., Sakouhi F., et al ., (2012).** “Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus L.*
- [58] **Yousfi M., Nedjmi B., Bellal R., Ben Bertal DPalla G., (2002).** “Fatty acids and sterols of *Pistacia atlantica* fruit oil,” *Journal of the American Oil Chemists’ Society.* vol. 79, no. 10, pp. 1049–1050.
- [59] **Romani A., Pinelli P., Galardi, C., Mulinacci, N., and Tattini M., (2002).** “Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus L.*,” *Phytochemical Analysis.* vol. 13, no. 2, pp. 79–86.
- [60] **BARRERO F., HERRADOR.M., ARTEAGA J., and AKSSIRA M., (2005).** Chemical composition of the essential oils of *Pistacia atlantica* Desf. *Journal of essential oil research . JEOR23,* 965-968.
- [61] **Topçu M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk M., Ulubelen A.,(2007).** A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus.* *Food Chemistry .103,* 816-822.
- [62] **Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N., (2009).** Antioxydant Capacity and Phenol Content of Selected Algerian Medicinal Plants, *P.Atlantica , Food Chemistry .112 / 303–309.*
- [63] **Ksouri R ., Megdiche H ., Falleh N., Trabelsi M ., Boulaaba A.. Smaoui and C., Abdelly., (2008).** Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *C. R. Biol., 331:* 865-873.
- [64] **PONCE G., FRITZ R., DELVALLE C., ROURA S., (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. **36,** 679-684.
- [65] **Lawrence BM., (1993).** A planning scheme to evaluate new aromatic plants for the flavor and fragrance industries. In: Janick J, Simon JE, eds. *New crops: exploration, research, ommercialization.* John Wiley & Sons, Inc, NY 1:6-9.
- [66] **Belaiche T., Tantaoui-Elaraki A ., Ibrahimy A .,(1995).** Application of a two levels factorial design to the study of the antimicrobial activity of three terpenes. *Sci Aliments.* 15:571-8.

- [67] **Carson CF., Hammer KA., Riley TV .,(2006).** Melaleuca alternifolia (Tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal plants. Clin Microbiol Rev . 9(1):50-62.
- [68] **Ultee A ., Gorris LGM ., Smid EJ ., (1998)** .Bactericidal activity of carvacrol towards the food-borne pathogen Bacillus cereus. J Appl Microbiol .85:211-8.
- [69] **Inouye S., Takizawa T., Yamaguchi H ., (2001).** Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. J Ant Chem .47:565-73.



Annexe 01 : Photo Représente l'appareil Rota vapor

Annexe 2 : Préparation le Gélose nutritive

- Mettre en suspension 20,0 g de milieu déshydraté (BK185) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée

- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.

-Répartir en tubes ou en flacons.

Annexe 2 : Préparation le Gélose Mueller-Hinton

38 g par litre. Stérilisation à l'autoclave. Pour préparer ce milieu il faut peser 38g de poudre et la mélanger dans 1L d'eau. Il faut homogénéiser puis chauffer en agitant. Il faut porter à ébullition pendant environ une minute. Ensuite il faut stériliser la gélose à l'autoclave durant 15 minutes à 116°C.

Résumé

La présente étude est consacrée à l'évaluation de l'activité anti bactérienne des extraits volatils et autres non volatils des graines de *Pistacia atlantica*. L'analyse qualitative de l'extrait hydro-méthanolique révèle la présence des polyphénols, flavonoïdes, tanins, saponosides, et des triterpénoïdes. L'évaluation de l'activité antibactérienne de différents extraits sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300), proteus, Entérobacter, et Bacillus), a mis en évidence le pouvoir antibactérien de la fraction butanolique sur toutes les souches testées. Par contre les huiles essentielles, la fraction chloroformique et la fraction éther de pétrole se sont révélés inactifs sur les souches testées.

Mots clés: *P. atlantica*, polyphénols, huiles essentielles, acides gras, activité antibactérienne.

Abstract:

The present study is devoted to the evaluation of the antibacterial activity of volatile and nonvolatile of seeds *Pistacia* extracts. The qualitative analysis of the hydro-methanolic extract revealed the presence of polyphenols, flavonoids, tannins, saponins, and triterpenoids. The evaluation of the antibacterial activity of various extracts on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, proteus, Entérobacter, et Bacillus) et , showed the antibacterial power of the butanol fraction on all strains tested. Reverse against essential oils, the chloroform fraction and petroleum ether fraction were found inactive on the strains tested.

Keywords: *P. atlantica*, polyphenols, essential oils, fatty acids, antibacterial activity.

ملخص:

تتخصص هذه الدراسة بتقييم النشاط المضاد للبكتيريا على المستخلصات الطيارة والغير طيارة لبذور البطم الاطلسي. وكشف التحليل النوعي لمستخلص المائي المثلي وجود مادة البوليفينول، الفلافونويد والعفص، السابونين، واستخلص تقييم النشاط المضاد للبكتيريا من مستخلصات مختلفة على المكورات العنقودية الذهبية أي تي سي سي 25923، المكورات العنقودية الذهبية أي تي سي سي 43300، وأظهرت قوة مضادة للجراثيم من الكسر بيوتانول على جميع السلالات المختبرة. عكس ضد الزيوت العطرية، وعثر على جزء الكلوروفورم والأثير البترول جزء غير فعال على السلالات التي تم اختبارها .
الكلمات الرئيسية: P. الأطلسية، البوليفينول والزيوت الأساسية والأحماض الدهنية، والنشاط المضاد للبكتيريا.