



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



Faculté des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme
de Master académique en Microbiologie appliquée

Filière : **Biologie**

Spécialité : **Microbiologie appliquée**

Présentée par : **SMAILI Radja**

Thème

**Extraction des huiles essentielles de lentisque et
évaluation de leurs pouvoir antimicrobiens**

Soutenu le, 19juin 2022

Devant le Jury :

BEGHALIA Mohamed	Président	Prof.	Univ-Tissemsilt
DRIS Ibrahim	Encadreur	M.C.B.	Univ-Tissemsilt
SETTI AHMED Kheira	Examinatrice	M.C.B.	Univ-Tissemsilt

Année universitaire : 2021-2022



Dédicaces

Je dédie ce travail, avant tout, à mes très chers parents, merci d'être là pour moi.

A mes chères sœurs.

A toute ma grande famille.

A tous mes amis.

A tous ceux qui me sont chers.





Remerciements

*Au terme de ce travail, je tiens à remercier **Dieu** le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.*

J'ai l'honneur et le plaisir de présenter mes sincères remerciements à mon encadreur Mr. DRIS Ibrahim pour sa précieuse aide, ces orientations et le temps qu'elle m'a accordé pour mon encadrement.

Mes remerciements sont adressés également aux membres du Jury : Mr. BEGHALIA Mohamed et Mme SETTI AHMED Kheira.

Je remercie profondément tous les enseignants qui m'ont encouragé et soutenu pendant mon cursus.

Un grand merci pour Mr. LAAFER Mohamed. l'ingénieur de laboratoire pour sa disponibilité, ses conseils et surtout pour sa patience.

Je remercie également Djamila, Kheira, Manel, Batoul, Maroua, Naziha et tous ceux qui m'ont aidé de prêt ou de loin pour faire ce modeste travail.

MERCI
—
♥

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de l'huile essentielle de feuilles et rameaux fraîches du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.), récoltés dans le parc national de Theniet El Had wilaya de Tissemsilt en évaluant leur activité antimicrobienne.

L'extraction d'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L. a été réalisée par hydrodistillation et qui a donné un rendement de 0,39 %.

L'étude de l'activité antimicrobienne de cette huile par la méthode de l'aromatogramme a révélé une sensibilité pour *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella enterica*, des valeurs de diamètre de zones d'inhibition (15 ; 24 ; 19 ; et 26 mm) et des valeurs de CMI (0,5 ; 0,25 ; 0,25 et 0,25 %) respectivement. Cependant, *Proteus mirabilis* et *Bacillus cereus* ont présentés une résistance avec des valeurs de diamètre de zone d'inhibition de 7 mm, et des valeurs de CMI (0,125 et 0,25 %) respectivement.

Mots clés : *Pistacia lentiscus* L., huile essentielle, activité antimicrobienne.

Abstract

This work is part of the valuation of essential oil of fresh leaves and twigs of *Pistacia lentiscus* L. harvested in the national parc of Theniet El Had wilaya of Tissemsilt by evaluation of its antimicrobial activity.

The extraction of essential oil from *Pistacia lentiscus* L. was carried out by hydrodistillation and gave a yield of 0.39%.

The study of the antimicrobial activity of this oil by the aromatogram method revealed sensitivity for *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica*, inhibition zone diameter values (15; 24; 19; and 26 mm) and MIC values (0.5; 0.25; 0.25 and 0.25%) respectively. However, *Proteus mirabilis* and *Bacillus cereus* showed resistance with inhibition zone diameter values of 7 mm, and MIC values (0.125 and 0.25%) respectively.

Keywords: *Pistacia lentiscus* L., essential oil, antimicrobial activity.

ملخص

هذا العمل هو جزء من تميمين الزيت الاساسي للأوراق والأغصان الطازجة من شجرة *Pistacia lentiscus* (الضرو)، والتي تم حصادها من الحديقة الوطنية لثنية الأحد ولاية تيسمسيلت من أجل تقييم نشاطها المضاد للميكروبات.

تم استخراج الزيت الاساسي من *Pistacia lentiscus* L. عن طريق التقطير المائي وأعطى عائدا بنسبة 0.39%.

كشفت دراسة النشاط المضاد للميكروبات لهذا الزيت بالاروماتوغرام عن حساسية *Pseudomonas aeruginosa* ، *Acinetobacter baumannii* ، *Staphylococcus aureus* و *Salmonella enterica*، قيم قطر منطقة التثبيط (15 ؛ 24 ؛ 19 ؛ و 26 ملم) وقيم CMI (0,25 ؛ 0,25 ؛ 0,25 ؛ 0,5) على التوالي. ومع ذلك، أظهر *Bacillus* و *Proteus mirabilis* مقاومة مع قيم قطر منطقة تثبيط تبلغ 7 مم، وقيم CMI (0,25 و 0,125) على التوالي.

الكلمات المفتاحية : *Pistacia lentiscus* L, زيت أساسسي, النشاط المضاد الميكروبي.

Table des matières

Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	1

Etude bibliographique Chapitre I : les huiles essentielles

I.1. Les huiles essentielles	3
I.2. La localisation des huiles essentielles dans la plante	3
I.3. Les propriétés biologiques majeures des huiles essentielles	3
I.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	4
I.5. Composition chimique des huiles essentielles	5
I.6. Domaines d'utilisation des huiles essentielles	5
I.6.1. L'industrie alimentaire.....	5
I.6.2. Santé	6
I.6.3. Cosmétique et parfumerie	6
I.6.4. Agriculture	6
I.7. Toxicité des huiles essentielles	7
I.8. Les différentes méthodes d'extraction des huiles essentielles	7
I.8.1. Hydro-distillation	7
I.8.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	8
I.8.3. Extraction à froid	9
I.8.4. Extraction par fluide à l'état supercritique	9
I.9. Activité antimicrobienne	10
I.9.1. Les infections microbiennes	10
I.9.2. Les antibiotiques	10
I.9.3. La résistance des bactéries aux antibiotiques	11
I.9.4. L'effet antimicrobien et mécanismes d'actions des huiles essentielles	11

Chapitre II : *Pistacia lentiscus* L. Le pistachier lentisque

II.1. Etude botanique	13
II .1.1 Classification taxonomique	13
II .1.2. Description botanique	14
II.1.3. Répartition géographique	15
II.1.3.1. Dans le monde	15
II.1.3.2. En Algérie	16
II .2. Les huiles essentielles de <i>Pistacia lentiscus</i>	17
II .3. Activités biologiques de <i>Pistacia lentiscus</i>	17
II .4. Utilisation thérapeutique et pharmacologique	18
II .5. Produits et dérivés à base de <i>Pistacia lentiscus</i>	18
II .5.1. La gomme	19
II .5.2. L'huile essentielle	19
II .5.3 Bois	19

Etude Expérimentale

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III.1. Présentation de la zone d'étude	20
III.2. Matériel	21
III.2.1. Matériel végétal	21
III.2.2. Souches microbiennes testées	22
III.2.3. Milieux de culture utilisés	23
III.3. Méthode	23
III.3.1. Extraction des huiles essentielles de <i>Pistacia lentiscus</i>	23
III.3.1.1. Calcul du rendement	25
III.3.2. Revivification des souches et préparation des suspensions bactériennes	25
III.3.3. Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des Antibiotiques (Antibiogramme)...	26
III.3.4. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles	28
III.3.3.1 Aromatogramme	28
III.3.3.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	30

Chapitre IV : Résultats et Discussion

IV. 1. Matériel végétal	33
IV. 1. 1. Rendement en huile essentielle	33
IV. 2. Etude de l'activité antimicrobienne	34
IV. 2.1. L'Antibiogramme	34
IV. 2.2. L'aromatogramme	38
IV. 2.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	40
Conclusion	46
Références bibliographiques	48
Annexes	61

Liste des abréviations

AB : Antibiotique.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

D.O : Densité Optique.

HE : Huile Essentielle.

LPS : Lipopolysaccharide.

McF MAC Farland.

MH : Muller Hinton.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

SFE : Extraction par Fluide Supercritique.

TIA : Toxi-Infections Alimentaires.

v/v : Volume /Volume.

Liste des tableaux

Tableau n°01 : Activité biologique de certains produits de <i>Pistacia lentiscus</i>	17
Tableau n°02 : Fiche technique du site d'échantillonnage.....	22
Tableau n°03 : Liste des souches microbiennes testées.....	22
Tableau n°04 : Les antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme.....	28
Tableau n°05 : Rendement en huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i> extraite par hydrodistillation.....	33
Tableau n°06 : Résultats de l'antibiogramme exprimés par (mm) le diamètre de la zone d'inhibition.....	37
Tableau n°07 : Résultats de l'aromatogramme exprimés en millimètres.....	40
Tableau n°08 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i> visa à vis les bactéries testées.....	44

Liste des figures

Figure n°01 : schéma des Les principales fonctions des huiles essentielles connues.....	04
Figure n°02 : Schéma du principe de la technique d'hydro-distillation.....	08
Figure n°03 : Schéma du principe de la technique de l'entraînement à la vapeur d'eau.....	08
Figure n°04 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne.....	12
Figure n°05 : l'arbuste de <i>Pistacia lentiscus</i>	13
Figure n°06 : <i>Pistacia lentiscus</i> (Anacardiaceae).....	14
Figure n°07 : Description botanique de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	15
Figure n°08 : Distribution géographique de genre <i>Pistacia</i>	16
Figure n°09 : la répartition du <i>Pistacia lentiscus</i> en Algérie.....	16
Figure n°10 : Situation géographique du parc national de Theniet El Had.....	21
Figure n°11 : Dispositif d'hydrodistillateur de type Clevenger pour l'extraction de l'huile essentielle.....	24
Figure n°12 : résultat de la revivification des souches microbiennes.....	25
Figure n°13 : Lecture de la densité optique des suspensions bactériennes sur un spectrophotomètre.....	26
Figure n°14 : ensemencement de la suspension microbienne sur milieu Muller-Hinton.....	27
Figure n°15 : Dépôt des disques d'antibiotiques sur le milieu gélosé.....	27
Figure n°16 : Dépôt du disque vierge sur le milieu Muller-Hinton.....	29
Figure n°17 : l'ajout de l'huile essentielle sur le disque vierge.....	29
Figure n°18 : La série de dilution de l'huile essentielle.....	30
Figure n°19 : La dilution de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	31
Figure n°20 : Ensemencement des suspensions bactériennes sur le milieu gélosé.....	31
Figure n°21 : Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	32
Figure n°22 : l'huile essentielle extraite.....	33
Figure n°23 : Résultat de l'antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34
Figure n°24 : Résultat de l'antibiogramme d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	35
Figure n°25 : Résultat de l'antibiogramme de <i>Proteus mirabilis</i>	35
Figure n°26 : Résultats de l'antibiogramme de <i>Staphylococcus aureus</i>	36
Figure n°27 : Résultats de l'antibiogramme de <i>Bacillus cereus</i>	36
Figure n°28 : Résultats de l'antibiogramme de <i>Salmonella enterica</i>	37

Figure n°29 : Résultats de l'aromatogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Acinetobacter baumannii</i>	38
Figure n°30 : Résultats de l'aromatogramme de <i>Proteus mirabilis</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>	39
Figure n°31 : Résultats de l'aromatogramme de <i>Bacillus cereus</i> et <i>Salmonella enterica</i>	39
Figure n°32 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i> vis à vis <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
Figure n°33 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i> vis à vis <i>Acinetobacter baumannii</i>	41
Figure n°34 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i> vis à vis <i>Proteus mirabilis</i>	42
Figure n°35 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i> vis à vis <i>Staphylococcus aureus</i>	42
Figure n°36 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i> vis à vis <i>Bacillus cereus</i>	43
Figure n°37 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i> vis à vis <i>Salmonella enterica</i>	43

INTRODUCTION

Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la majorité des populations en Afrique et représentent le principal moyen par lequel les individus se soignent (**Badiaga, 2011**). Malgré les progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde (**Tabuti et al., 2003**).

Une huile essentielle peut être un ensemble de molécules pour un chimiste, un arôme pour un parfumeur ou encore la quintessence ou l'esprit d'un végétal pour un alchimiste ! Dans la réalité, une huile essentielle est l'ensemble de tout cela, car il s'agit d'un produit volatil, composé de molécules sécrétées par certains arbres et certaines plantes qui lui confèrent un pouvoir thérapeutique (**Moro Buronzo, 2013**).

Des études visent à trouver des agents thérapeutiques de plus en plus efficaces avec des effets secondaires minimaux, et des alternatives potentielles ont été trouvées dans ces huiles essentielles pour résoudre divers problèmes, en particulier la résistance microbienne aux antibiotiques, notamment les bactéries qui provoquent des intoxications alimentaires (**Hanberger et al., 1999 ; Sieradzki et al., 1999**).

Le lentisque (*Pistacia lentiscus* L.), appelé aussi pistachier lentisque, arbre à mastic, "Derou", est un arbuste qui appartient à la famille des Anacardiaceae (**Iauk et al., 1996**). Il pousse à l'état sauvage, sur tout type de sol dans l'Algérie subhumide et semi-aride. Généralement, il se trouve dans les lieux arides de la région méditerranéenne (**Djerou, 2011**).

Les qualités thérapeutiques de cette espèce sont connues depuis l'antiquité, où les anciens égyptiens ont utilisé le mastic du *Pistacia lentiscus* L. pour l'embaumement (**De Pooter et al., 1991**). Le lentisque constitue une source principale de la production d'oléorésine (**Delazar et al., 2004**). Cette résine est utilisée comme antiseptique du système respiratoire (**Baytop 1999 ; Durua et al. 2003**). Le pistachier est utilisé également dans le traitement des ulcères, l'hypertension, la toux, les maux de gorge, l'eczéma et les calculs rénaux (**Gardeli et al., 2008 ; Djerou, 2011**).

Compte tenu de l'importance de cette plante et des nombreux problèmes liés à l'utilisation des agents synthétiques, la recherche de ressources naturelles est plus importante aujourd'hui. La présente recherche vise à approfondir et élargir nos connaissances sur *Pistacia lentiscus* L. en évaluant leur activité antibactérienne.

Notre travail se divise en deux parties. La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui met l'accent sur deux chapitres. Le premier chapitre traite des informations sur les huiles essentielles, et le deuxième chapitre est consacré à la description botanique de l'espèce végétale étudiée. La partie expérimentale est divisée en deux

chapitres, le premier chapitre (quatrième chapitre) montre les matériels et méthodes utilisés pour accomplir cette tâche, selon :

- Extraction des huiles essentielles du lentisque par hydrodistillation ;
- Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles par la méthode de l'aromatogramme.

Le second (cinquième chapitre) aborde la présentation et à la discussion des résultats obtenus.

ETUDE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

LES HUILES ESSENTIELLES

I.1. Les huiles essentielles

L'huile essentielle se définit comme un mélange de substances parfumées volatiles, sécrété par certains arbres et certaines plantes aromatiques (**Rakotomalala, 2004**).

Selon la norme AFNOR NF'T 75-006, « l'huile essentielle désigne le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe, soit par distillation « sèche ». Elle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (**AFNOR, 2000**).

I.2. La localisation des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles se trouvent dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le protoplasme de différentes cellules sécrétrices selon l'organe végétal considéré. Elles s'accumulent par la suite dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Puis, elles sont stockées dans des structures histologiques spécialisées, à savoir, des cellules à huiles essentielles (*Lauraceae* et *Zingiberaceae*), des poils glandulaires épidermiques qui produisent les essences dites superficielles (*Labiaceae*, *Geraniaceae* et *Rutaceae*), des poches sécrétrices (*Myrtaceae*, *Aurantiaceae*, *Rutaceae*) ou encore des canaux sécréteurs (*Apiaceae*, *Ombelliferaeae* et *Asteraceae*) (**Bruneton, 1999 ; Boz et al., 2009**).

L'extraction des essences se fait de divers organes de la plante : les fleurs (bergamotier), les feuilles (menthe poivrée), mais aussi dans des écorces (cannelier de Ceylan), des bois (santal), des racines (angélique), des rhizomes (gingembre), des fruits (badiane), ou encore des graines (muscade) (**Deschepper, 2017**).

I.3. Les propriétés biologiques majeures des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont utilisées depuis l'antiquité pour traiter et prévenir les maladies. De nombreuses études ont montrés que l'activité biologique d'une huile essentielle est liée à ses constituants chimiques ainsi qu'au groupe fonctionnel majeur (**figure n° 01**) (**Lahlou, 2004**).

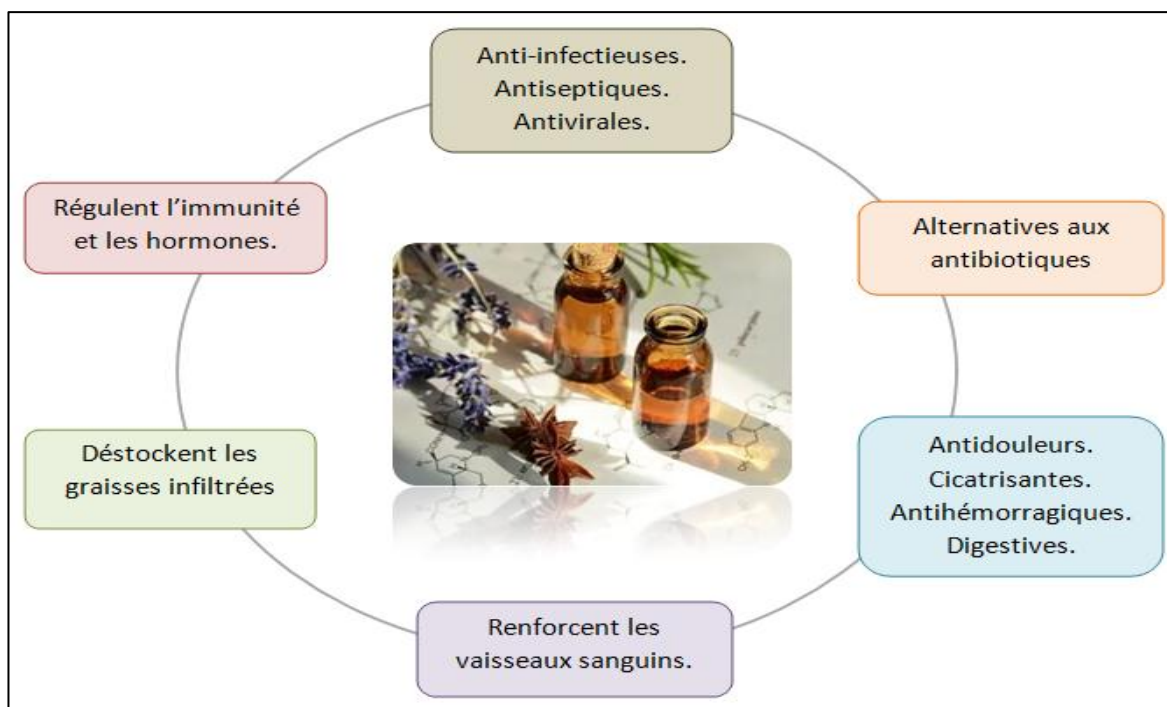


Figure n°01 : schéma des principales fonctions des huiles essentielles connues (Festy, 2014).

I.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

- Elles sont généralement liquides à température ambiante, certaines sont visqueuses (HE de myrrhe, de houblon).
- Elles sont volatiles, inflammables, odorantes et entraînable à la vapeur d'eau.
- Elles sont généralement incolores ou jaune pâle.
- Leur densité est généralement inférieure à 1 sauf exception (HE de saffras, de girofle, ou de cannelle).
- Indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire.
- Peu solubles dans l'eau, elles sont solubles dans les alcools élevés, solubles dans les huiles fixes et la plupart des solvants organiques apolaires (Bruneton, 1999; Charpentier et al., 2008 ; Desmares et al., 2008).
- Elles peuvent parfois sembler grasses ou huileuses, mais ce ne sont pas des corps gras. Contrairement aux huiles fixes (huile d'olive, de tournesol, etc.) qui ne sont pas volatiles et laissent une trace grasse durable sur le papier (Bernadet, 2000).

I.5. Composition chimique des huiles essentielles

Les études des constituants chimiques des huiles essentielles ont montré qu'il s'agit de mélanges complexes et variés de constituants qui se répartissent en deux groupes aux caractéristiques biogéniques distinctes : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Teisseire, 1991 ; Boutayeb, 2013**).

La composition chimique de l'HE varie encore considérablement selon les conditions et les périodes de végétation. Il peut également être modifié lors de l'extraction ou du stockage (**Busta et Foegeding, 1980 ; Jou et al., 1997**).

L'huile essentielle peut contenir jusqu'à 300 composés différents (**Bastien, 2008 ; Piochon, 2008**). En plus des terpènes, des hydrocarbures, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, etc. (**Teisseire, 1991**).

I.6. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont considérées comme des matières premières utilisées dans divers domaines d'activité. Actuellement, 300 des 3 000 huiles essentielles connues sont commercialement importantes (**Bakkali et al., 2008**).

Ceci s'explique par la composition chimique des HE qui leur accorde des propriétés aromatiques et parfumantes ainsi que des propriétés antibactériennes (**Grysole, 2005 ; Fillatre, 2011**).

I.6.1. L'industrie alimentaire

Les huiles essentielles sont employées dans l'industrie agro-alimentaire pour rehausser le goût des aliments (**Heath, 1981 ; Beniamino, 1957**), et la conservation grâce aux effets antimicrobiens et antioxydants de certains de leurs constituants (**Burt, 2004 ; Shan et al., 2005**).

Ces substances naturelles réduisent ou remplacent les conservateurs chimiques ou synthétiques qui ont des effets néfastes sur la santé (**Viuda-Martos, 2009 ; Miguel, 2010**). Elles sont utilisées aussi comme arômes et épices alimentaires pour les boissons gazeuses ou alcooliques, les produits laitiers, les produits carnés, les produits de boulangerie et même pour la nutrition animale (**Bruneton, 1999**).

Les huiles les plus utilisées sont celles de menthe, vanille, poivre, gingembre ...etc (**Mapoli, 2003**).

I.6.2. Santé

En industrie pharmaceutique, selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), 80 % de la population mondiale utilise des médicaments traditionnels pour répondre à leurs besoins de soins de santé primaires (Namiki, 1990 ; Angharad Rees, 2011). Cet intérêt est principalement dû à la nature de la médecine traditionnelle, qui est moins chère et plus accessible que les médicaments conventionnelle importés, qui sont plus couteuses et difficiles à obtenir (Lengani *et al.*, 2010).

Les huiles essentielles sont un outil thérapeutique très puissant (Robard, 2004 ; Millet, 2010). L'HE a de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, il a un effet antiseptique et est utilisé pour les infections bactériennes. Ils ont également des propriétés cytotoxiques, ce qui les rapproche des antiseptiques en tant qu'agents antibactériens (El Kalamouni, 2010).

I.6.3. Cosmétique et parfumerie

L'industrie des cosmétiques, savonneries et parfumerie sont les plus importants consommateurs d'huiles essentielles (Shah *et al.*, 2009).

Ce domaine se caractérise par une grande variété de produits, en faible quantité et souvent à des prix élevés (Scientific Report).

Les HE sont utilisées comme matière première de base dans la production de parfums et autres produits cosmétiques (Fischetti, 2010 ; Muyima *et al.*, 2002).

I.6.4. Agriculture

Les huiles essentielles présentent des activités insecticides (Ünlü *et al.*, 2002 ; Ayvaz *et al.*, 2010). Elles sont également utilisées pour lutter biologiquement contre les ravageurs, donc elles présentent un avantage par rapport aux produits phytosanitaires. Ces bio-pesticides sont caractérisés par leur faible rémanence, leur faible toxicité pour l'homme et par leur mode d'action sur les ravageurs (Shahi *et al.*, 2009). Elles sont utilisées aussi pour l'amélioration de l'équilibre biologique des sols (Jouhanneau, 1991).

I.7. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits utilisables sans risque. Comme tous les produits naturels : "Ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour le corps". Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important compte tenu de l'émergence de nouveaux traitements comme l'aromathérapie, qui rend l'utilisation des huiles essentielles plus courante et généralisée (**Piochon, 2008**).

Les huiles essentielles, en raison de leur composition chimique complexe, peuvent présenter un risque énorme en cas d'abus ou d'utilisation autonome accidentelle et doivent être utilisées avec une extrême prudence (**Bruneton, 1999**).

Certaines HE sont nuisibles pour la peau en raison de leur pouvoir irritant (les huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) (**Smith et al., 2000**) ou photo-toxique (huiles de *Citrus* contenant des furocoumarines) (**Naganuma et al., 1985**). D'autres HE ont un effet neurotoxique (les cétones comme l' α -thujone) (**Franchomme et Pénoel, 1990**).

I.8. Les différentes méthodes d'extraction des huiles essentielles

Diverses méthodes sont utilisées pour obtenir l'essence des plantes (**Sallé, 2004**), selon la partie du végétal à traitée, sa fragilité et le rendement en huile (**Crespo et al., 1991 ; Hellal, 2011**).

I.8.1. Hydro-distillation

C'est la technique la plus simple et la plus couramment utilisée (**figure n°02**). Il s'agit d'immerger la matière première dans un bain-marie puis de faire bouillir le tout. Elle se déroule généralement à pression atmosphérique. La distillation peut être réalisée avec ou sans cohobage des eaux aromatiques obtenues lors de la décantation. L'inconvénient de ce procédé est principalement dû à l'action de la vapeur ou de l'eau bouillante, certains organes végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles pour supporter le traitement de distillation à la vapeur et d'hydrodistillation (**Farhat, 2010**).

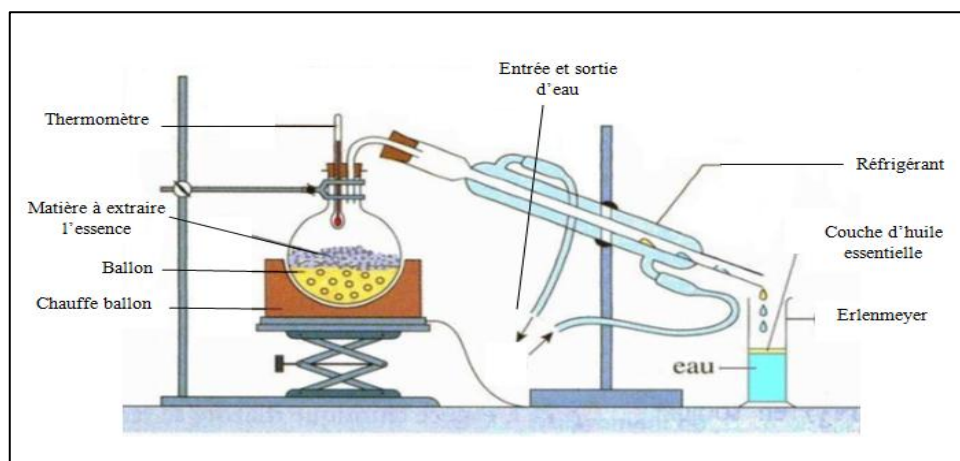
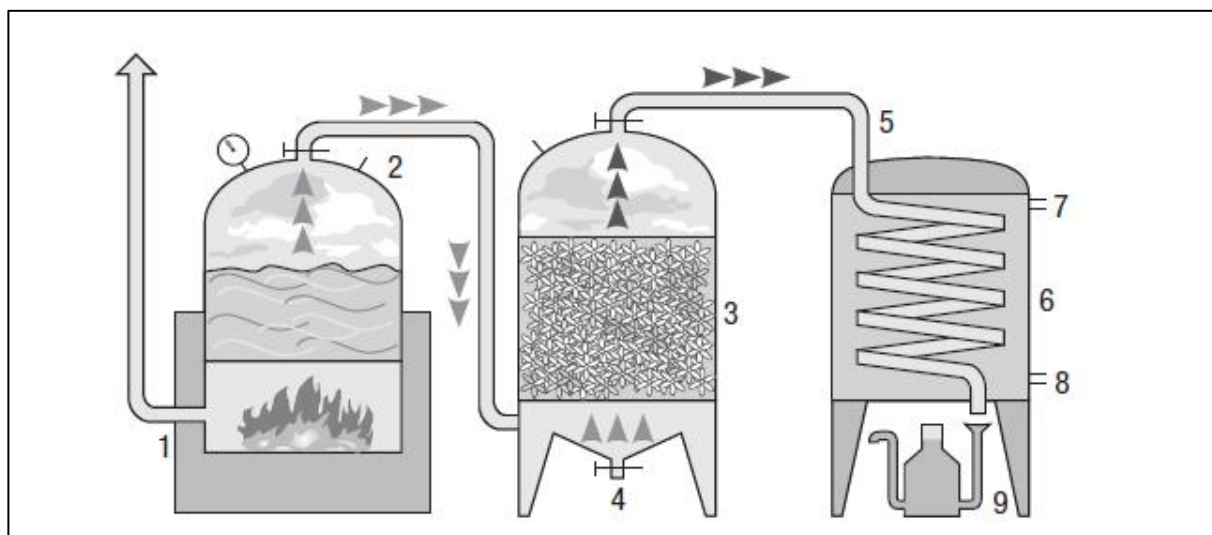


Figure n°02 : Schéma du principe de la technique d'hydro-distillation (**Lucchesi, 2005**)

I.8.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce système d'extraction (steam distillation) (**Figure n° 03**), la matière végétale est placée sur une grille perforée à travers laquelle passe la vapeur, plutôt que d'être directement trempée dans l'eau. Ce dernier endommage la structure des cellules végétales, libérant des molécules volatiles et les transportant vers le réfrigérant. Cette méthode améliore la qualité des huiles essentielles en minimisant les altérations hydrolytiques ; le matériel végétal qui ne sont pas directement immergées dans de l'eau bouillante (**Franchomme et al., 1990 ; Richard, 1992 ; Lucchesi, 2005**).



1. Foyer – 2. Chaudière – 3. Vase à fleurs – 4. Vidange de condensation – 5. Col-de-cygne
 –
 6. Réfrigérant avec serpentín – 7. Sortie d'eau chaude – 8. Arrivée d'eau froide – 9.
 Essencier (vase florentin) où sont décantés hydrolat (en gris foncé) et huile essentielle (en

Figure n°03 : Schéma du principe de la technique de l'entraînement à la vapeur d'eau
 (Jaffrelo, 2019)

I.8.3. Extraction à froid

L'extraction à froid est couramment utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes. Le principe est de casser et d'ouvrir mécaniquement la poche d'essence. Les huiles essentielles sont séparées par décantation ou centrifugation (Nzeyumwami, 2004).

I.8.4. Extraction par fluide à l'état supercritique

L'originalité de la technique d'extraction par fluide supercritique, dite SFE, provient de l'utilisation de solvants dans leur état supercritique, c'est-à-dire dans des conditions de températures et de pressions où le solvant se trouve dans un état intermédiaire aux phases liquide et gazeuse et présente des propriétés physico-chimiques différentes, notamment un pouvoir de solvation accru. Si, en pratique, de nombreux solvants peuvent être employés, 90% des SFE sont réalisées avec le dioxyde de carbone (CO₂), principalement pour des raisons pratiques. En plus de sa facilité d'obtention due à ses pression et température critiques relativement basses, le CO₂ est relativement non toxique, disponible à haute pureté et à faible prix, et il possède l'avantage d'être éliminé aisément de l'extrait (Leszczynska, 2007).

La SFE est une technique dite « verte » utilisant pas ou peu de solvant organique et présentant l'avantage d'être bien plus rapide que les méthodes traditionnelles. Les compositions chimiques des HE ainsi obtenues peuvent présenter des différences, qualitatives et quantitatives, avec celles issues de l'hydrodistillation (Gomes *et al.*, 2007 ; Peterson, 2006 ; Pereira et Meireles, 2010).

L'unique point faible de cette méthode est le coût très élevé des appareillages lié à l'application de pressions de plusieurs centaines de bars (Pellerin, 1991 ; Lagunez Rivera, 2006).

Il reste plusieurs d'autres méthodes que nous ne l'avons pas entamé auparavant, à savoir : hydrodiffusion, l'hydrodistillation assistée par micro-ondes, l'extraction par solvants organiques

I.9. Activité antimicrobienne

I.9.1. Les infections microbiennes

Les bactéries sont responsables de plusieurs infections microbiennes qui représentent la cause majeure de mortalité dans le monde. Leur résistance aux antibiotiques est de plus en plus prononcée. Pour arrêter ce processus de synthèse-résistance, il est nécessaire de chercher une autre approche afin de diminuer ou d'éliminer les affections sans l'utilisation des produits synthétiques, donc il est évident de trouver des solutions par l'utilisation des molécules bioactives qui sont à base de plantes (**Vanden Berghe et Vlietinck, 1991**).

Salmonella sp, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Bacillus cereus* sont des agents impliqués dans les toxi-infections alimentaires (TIA) qui sont des accidents aigus d'intoxication consécutifs à l'ingestion d'aliments contaminés par des bactéries ou par leurs toxines. (**Buisson et Teyssou, 2002**).

Pseudomonas aeruginosa est responsable de 9,2 % de l'ensemble des infections nosocomiales, le plaçant ainsi au 3ème rang des espèces isolées juste après *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (**Amazian et al., 2010**).

Proteus mirabilis est responsables de 80% des infections à Proteus. Parmi les quelles : infections urinaires, infections des voies respiratoires (surtout en milieu hospitalier), infections ORL et pneumopathies, septicémies et bactériémies.

I.9.2. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques naturelles produites par des bactéries et certains champignons, capables d'inhiber d'autres microorganismes (**Nauciel et Vildé, 2005**). Ils agissent soit en bloquant la prolifération des bactéries (molécules bactériostatiques), soit en les détruisant (molécules bactéricides ou bactériolytiques) (**Clos, 2012**).

Par les différents modes d'action qu'ils possèdent, les antibiotiques peuvent agir sur : la synthèse du peptidoglycane et donc sur la paroi cellulaire, les membranes, la synthèse protéique et la synthèse des acides nucléiques (**Demoré et al., 2012**).

Environ 5 000 AB ont été identifiés à partir des cultures de bactéries à Gram négatif, Gram positifs et les champignons filamenteux (**Gebreyohannes et al., 2013**).

I.9.3. La résistance des bactéries aux antibiotiques

L'efficacité des antibiotiques est menacée par la capacité des bactéries à s'adapter et à résister aux traitements. Ce sont les bactéries, et non les humains ou les animaux, qui sont résistantes. On parlera donc de résistance lorsque les bactéries deviennent insensibles aux AB, mais les bactéries qui répondent aux antibiotiques sont dites sensibles. Les souches résistantes peuvent provoquer des infections chez les humains et les animaux qui sont plus difficiles à traiter que les souches non résistantes ou sensibles, et finissent par mourir si aucune solution n'est trouvée (Veyssiere, 2019).

Chez l'homme, l'usage excessif des AB et le mauvais suivi des traitements (Li et Wang, 2005) sont les causes majeures de l'apparition de cette résistance. L'utilisation des AB en élevage animal compte également une part de responsabilité dans le développement général de la résistance (Wegener, 2003).

I.9.4. L'effet antimicrobien et mécanismes d'actions des huiles essentielles

Les propriétés antibactériennes des huiles essentielles sont connues de longue date. Leur effet inhibiteur affecte les espèces bactériennes (gram-positives et gram-négatives). Certaines molécules des huiles essentielles ont des propriétés antibactériennes. En particulier, phénol (carvacrol, thymol, eugénol, etc.), alcool (linalool, etc.), aldéhyde (cinnamaldéhyde, etc.). Les huiles essentielles riches en telles molécules ont généralement le plus grand effet antibactérien (Bouhdid et al., 2012).

De nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (Burt, 2004). Leur spectre d'activité est très large, car ils sont efficaces contre un grand nombre de bactéries, y compris celles qui développent une résistance aux antibiotiques (Toure, 2014).

Cet effet est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (Kalemba et Kunicka, 2003 ; Oussou, 2009).

Les HE ont une double action contre les microorganismes, elles peuvent les tuer (effet bactéricide) et elles en arrêtent la prolifération (effet bactériostatiques) (Moro Buronzo, 2013).

Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (Sipailiene et al., 2006 ; Oussou, 2009).

En général, les bactéries Gram-négatives sont plus résistantes que les bactéries Gram-positives en raison de leur structure de membrane externe. Cette dernière est en effet riche en lipopolysaccharide (LPS), qui augmente l'hydrophilie et empêche les composés hydrophobes des huiles essentielles (Cristiani et al., 2007).

Les HE agissent en empêchant leur multiplication, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines (Tohidpour et al., 2010 ; Warnke et al., 2013).

D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases (Calsamiglia et al., 2007 ; Goetz et Ghedira, 2012) :

- Attaque de la paroi bactérienne, ce qui provoque une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ;
- Acidification de l'intérieur de la cellule provoquant la coagulation des constituants cellulaires par la dénaturation des protéines, ce qui bloque la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ;
- Destruction du matériel génétique, ce qui cause la mort de la bactérie.

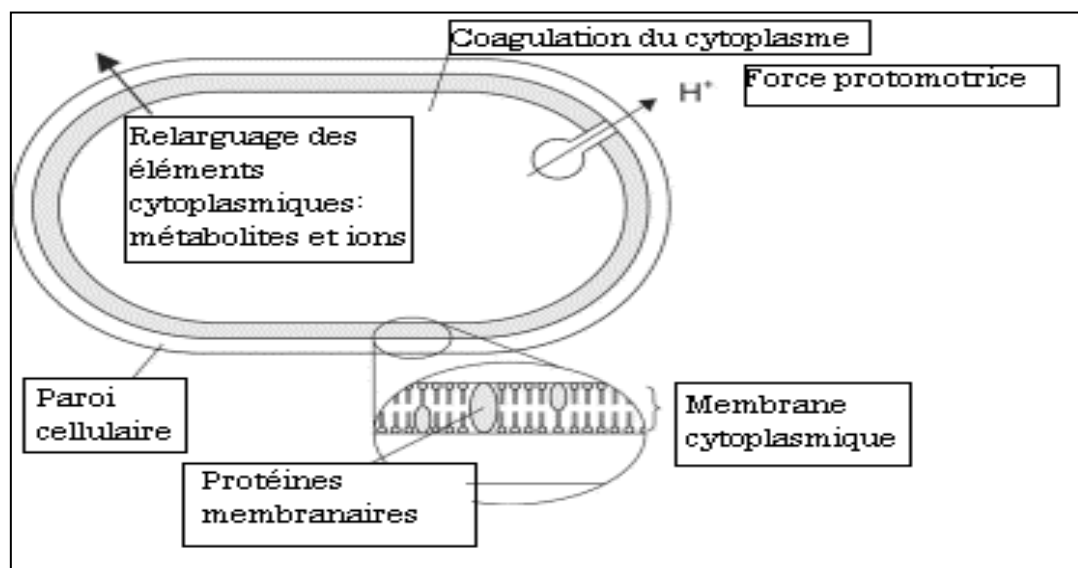


Figure n°04 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (Burt, 2004).

CHAPITRE II

LE PISTACHIER LENTISQUE

"PISTACIA LENTISCUS L."

Le pistachier lentisque *Pistacia lentiscus* L. connu selon les régions d'Algérie sous différents noms. Dans la région littorale de Jijel, à l'Est du pays, la plante se dénomme en dialecte local: « tro ou troo »; dans la région de la Kabylie (centre du pays): « amadagh » et dans la région extrême-Est comme les localités de Guelma, Souk Ahras, Annaba et El Tarf, «Dharou» (**Beldi et al., 2021**).



II.1. Etude botanique

II .1.1 Classification taxonomique

Le pistachier appartient à *Pistacia*, un genre de onze espèces de la famille des *Anacardiaceae* réparties dans le bassin méditerranéen. (**Benhammou et al., 2008**). Plusieurs espèces colonisent le territoire Algérien (*Pistacia lentiscus*, *Pistacia therebintus* et *Pistacia atlantica*) (**Benabderrahmane et al., 2009**).

Parmi les espèces du genre *Pistacia*, le *Pistacia lentiscus* L. est un arbrisseau très commun dans notre pays (**Baudière et al., 2002**) :

- Règne: *Plantae*
- Embranchement: *Spermatophyta*
(*Angiospermae*)
- Classe: *Dicotyledones*
- Ordre: *Sapindales*
- Famille: *Anacardiaceae* (*Pistaciaceae*)
- Espèce : *Pistacia lentiscus* L.

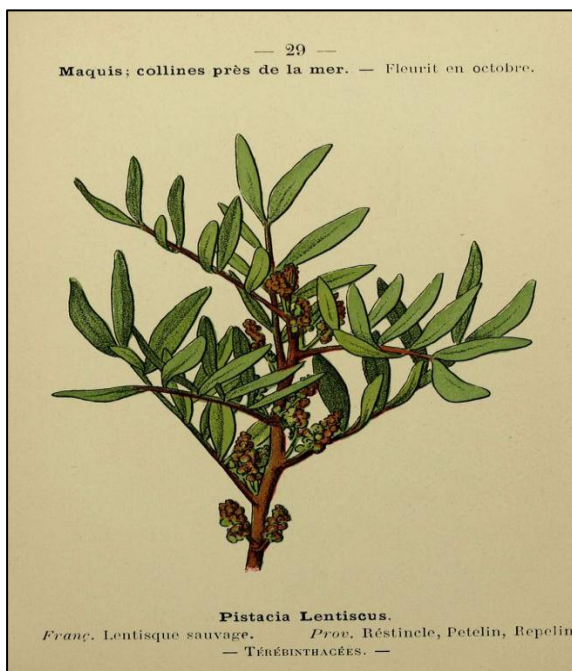


Figure n°06 : *Pistacia lentiscus*
(*Anacardiaceae*).

II .1.2. Description botanique

Cet arbrisseau de 1 à 3 mètres de hauteur, est courant en sites arides de la région méditerranéenne (de l'Asie, l'Europe, l'Afrique, jusqu'aux Canaries) (**Belakhdar, 2003**).

- Les feuilles de ce petit ligneux sont persistantes, paripennées, avec 4 à 10 folioles elliptiques, coriaces et luisantes et le pétiole est nettement ailé (**Hans, 2007**).

- Les fleurs, brunâtres, constituent des denses grappes spiciformes. Elles sont à l'origine de petites drupes rouges, puis noires à maturité, subglobuleuses (**Boullard, 2001**).

- Fruit : Est une baie globuleuse (de 2 à 3 mm), monosperme, remplie par nucléole de la même forme; d'abord rouge, il devient brunâtre à sa maturité, qui est complète à l'automne.

- Mastic : Si l'on incise le tronc de ce végétal, il s'en écoule un suc résineux nommé mastic qui, une fois distillé, fournit une essence employée en parfumerie (**Belfadel, 2009**).



Figure n°07 : Description botanique de *Pistacia lentiscus* L. (Belfadel, 2009).

II.1.3. Répartition géographique

II.1.3.1. Dans le monde

Pistacia lentiscus est un arbrisseau que l'on trouve couramment en sites arides Asie et région méditerranéenne de l'Europe et d'Afrique, jusqu'aux Canaries (Figure n°08) (Belfadel, 2009). Elle est largement distribuée dans les écosystèmes extrêmes du bassin méditerranéen, notamment dans les régions ensoleillées à basse altitude (Bhourri et al., 2010).

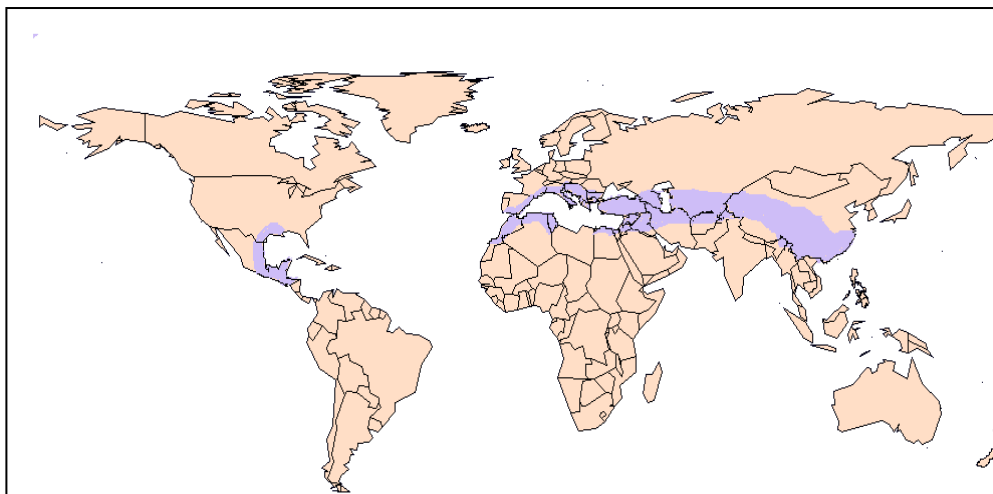


Figure n°08: Distribution géographique de genre *Pistacia* (Belfadel, 2009).

II.1.3.2. En Algérie

En Algérie, le lentisque se trouve dans les zones forestières sur le long du nord algérien (More et White, 2005). Il occupe l'étage thermo-méditerranéen. Sa limite méridionale se situe aux environs de Saïda, sa présence au sud de l'Atlas saharien n'est pas signalée. On le retrouve sur tout type de sol, dans l'Algérie subhumide et semi-aride (Saadoun, 2002), plus précisément dans le bassin du Soummam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège. (Figure n°09) (Belhadj, 2000).

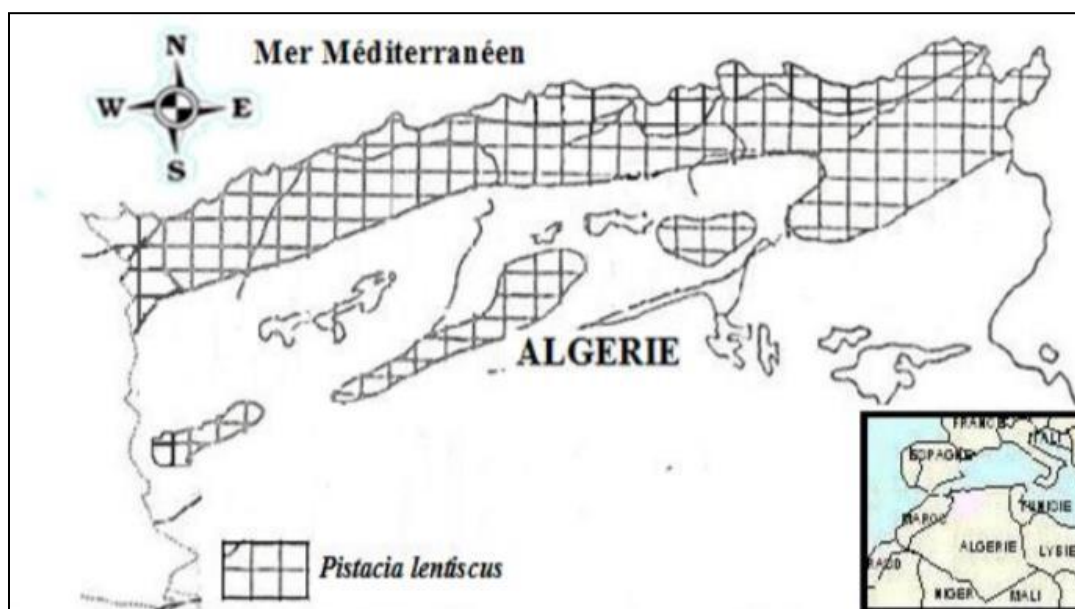


Figure n°09 : la répartition du *Pistacia lentiscus* en Algérie. (Quezel et Sente, 1962, 1963)

II .2. Les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L.

Les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* sont obtenues par hydrodistillation des différentes parties aériennes de la plante ainsi que de sa résine (Amhamdi *et al.*, 2009).

L'huile obtenue présente un aspect liquide et limpide, elle est de couleur jaune dégageant une odeur aromatique, très puissante et pénétrante (Arab *et al.*, 2014).

Pour 100g de matière végétale, le rendement moyen en huile essentielle peut varier de 0.14 à 0.4% en fonction de l'origine de la plante, la nature de ses parties utilisées, la période de récolte et la méthode d'extraction (Arab *et al.*, 2014).

II .3. Activités biologiques de *Pistacia lentiscus*

De nombreuses études pharmacologiques ont rapporté que les molécules contenues dans les différentes parties (feuilles, fruits, partie aérienne) de cette plante ont de multiples activités biologiques à savoir : anti-oxydantes, antimicrobienne, antifongique, anti-inflammatoire, anticancéreuse, etc, qui sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau n°01 : Activité biologique de certains produits de *Pistacia lentiscus* (Kettoufi, 2020).

Parties de la plante	Les effets	Référence
Feuilles	anti-inflammatoire, antibactérien, antifongique, antipyrétique, astringent et hépatoprotecteur, antihypertenseur, antispasmodique, diurétique, insecticides et agents anti-stress.	Boudieb <i>et al.</i>, 2019 Kıvçak <i>et al.</i>, 2004
Huile essentielle (des parties aériennes)	antioxydant, anti-inflammatoire, antimicrobien, antifongique et antiathérogénique .	Khiari <i>et al.</i>, 2018
Mastic	antifongique, anti-inflammatoire, antiviral, activités anticancéreux epolipidémique .	Arab <i>et al.</i>, 2014 Attouba <i>et al.</i>, 2014
Fruits	antioxydants et antimutagènes.	Bozorgi <i>et al.</i>, 2013

II .4. Utilisation thérapeutique et pharmacologique

Pistacia lentiscus est une source importante de substances actives, en effet, plusieurs parties de cette plante sont utilisées en médecine traditionnelle depuis la civilisation grecque (**Ljubuncic et al., 2005; Delille, 2007**).

La décoction des racines séchées est efficace contre l'inflammation intestinale et d'estomac ainsi que dans le traitement de l'ulcère (**Palevitch, 2000**).

La résine obtenue de *Pistacia lentiscus* est connue par son effet analgésique, antibactérien, antifongique, antioxydant, antithérogénique, expectorant, stimulant, diurétique et dans le traitement d'hypertension, d'eczéma, des douleurs gastriques et les calculs rénaux, mais aussi contre les infections de la gorge, la jaunisse, l'asthme, les troubles digestifs et la diarrhée (**Prichard, 2004 ; Dellai et al., 2013 ; Chekchaki et al., 2015**).

Les feuilles sont pourvues d'activités anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique, astringente, hépatoprotective, expectorante et stimulante (**Ferradji, 2011**).

Le mastic est aussi souvent cité comme un remède efficace contre certaines maladies telles que l'asthme, diarrhée, ulcères gastro-dodénaux et comme un agent antiseptique du système respiratoire (**Baytop, 1999**).

L'huile de fruit de lentisque est utilisée pour son intérêt médicinal, conseillée pour les diabétiques, pour le traitement des douleurs d'estomac (Hmimsa, 2004). En plus, elle est utilisée comme un remède sous forme d'onguent pour soigner les brûlures (Bensegueni, 2007) ou les douleurs dorsales (**Bellakhdar, 1997**).

Cette huile est aussi employée par voie orale contre les problèmes respiratoires d'origine allergique et les ulcères de l'estomac (**Iserin, 2001; Baudoux, 2003**).

II .5. Produits et dérivés à base de *Pistacia lentiscus*

Le traitement de l'arbre à mastic peut conduire à la production de trois produits principaux: la gomme de mastic, huile pressée extraite des baies et l'huile essentiel des fleurs, des feuilles et des branches (**Barra et al., 2007**) :

II .5.1. La gomme

Est une résine naturelle blanche semi-transparente (**Kottakis et al., 2009**), connu sous le nom de mastic, qui est obtenu sous forme d'exsudat de tronc provenant d'arbres à mastic (**Koutsoudaki et al., 2005**).

Le mastic est utilisé depuis l'Antiquité dans la médecine traditionnelle grecque (**Derong et al., 2016**). Il est considéré comme une matière première importante pour l'industries pharmaceutiques (**Yildirim et al., 2019**). Il est employé dans l'industrie agro-alimentaire évidemment comme agent masticatoire, aussi pour aromatisées certaines confitures, confectionner des pâtes ou des gommes à mâcher. Encore utilisé dans l'industrie photographique et dans les soins dentaires (dans les amalgames).

II .5.2. L'huile essentielle

Elle est extraite à partir des différentes parties (feuilles, résine, fruits, rameaux et fleurs) par distillation.

L'huile entre dans la confection de parfums, produits cosmétologiques et pharmaceutiques, de vernis de grande qualité recherché par les peintres œuvrant à la peinture à l'huile et aussi dans l'industrie photographique (**Seigue, 1985**).

II .5.3 Bois

Pour sa robustesse et la finesse de sa texture, le bois de cette espèce est très apprécié en ébénisterie (**Seigue, 1985**).

ETUDE

EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE III

MATÉRIEL ET

MÉTHODES

Le but de notre étude était de mettre en évidence l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L. de Theniet El Had (wilaya de Tissemsilt) contre les souches bactériennes qui sont responsables essentiellement d'intoxication alimentaires, infections nosocomiales, à savoir : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enterica*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*.

III.1. Présentation de la zone d'étude

Le Parc national de Theniet El Had est un massif forestier qui situe au nord-ouest de l'Algérie dans la wilaya de Tissemsilt (**figure n° 10**). C'est le premier espace naturel protégé en Algérie (3 août 1923 par le gouvernement colonial français) (**Belkaid, 2018**).

L'altitude varie de 1 150 à 1 600 m et la pente est généralement abrupte (25° en moyenne). Le climat est méditerranéen avec des températures annuelles moyennes de 12 °C, variant de – 1 à 30 °C. Les précipitations moyennes atteignent 760 mm/an (**PNTH, 2006**), ce qui soumet la zone d'étude à un bioclimat subhumide à hiver froid, selon la classification d'Emberger (**Emberger, 1955**).

La flore comprend 450 espèces dont beaucoup sont endémiques à l'Algérie. La strate arborée comprend 1000 ha de cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*), 1000 ha de chêne vert (*Quercus ilex*), 504 ha de chêne zéen (*Quercus faginea*), 460 ha de chêne liège (*Quercus suber*) et 460 ha d'autres espèces dont 40 ha de pistachier (**Belkaid, 2018**).

Le Parc se situe entre les coordonnées géographiques :

35° 49' 41" et 35° 54 '04" de latitude Nord.

01° 52' 45" et 02° 02' 04" de longitude Est.

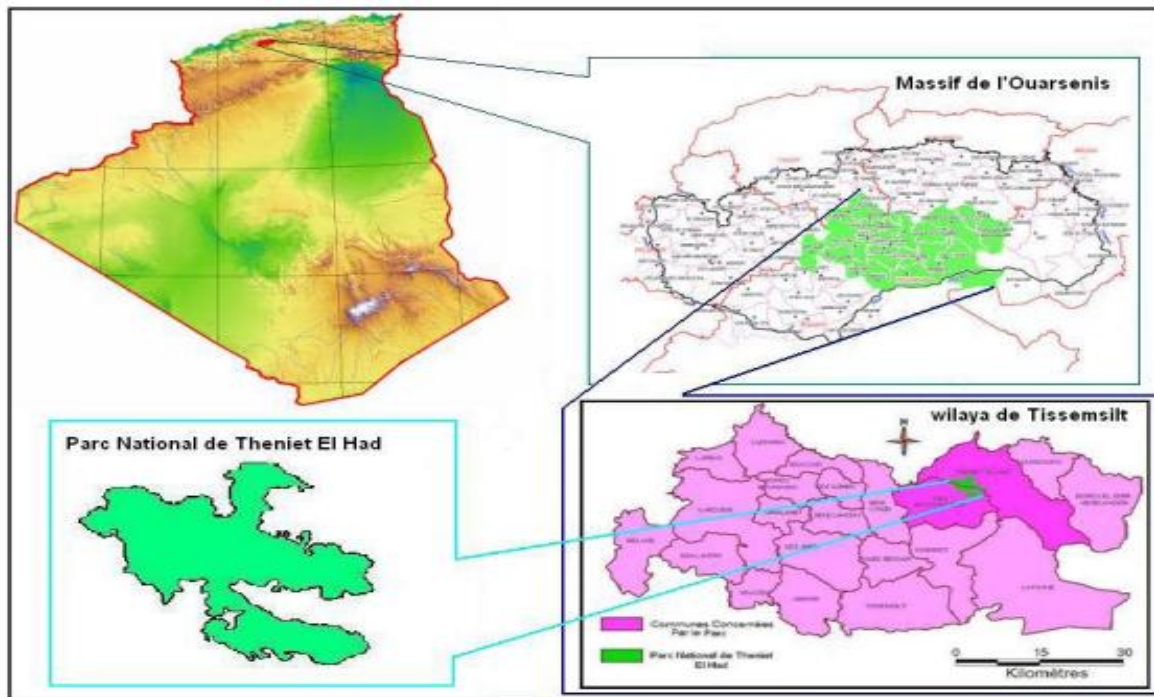


Figure n°10 : Situation géographique du parc national de Theniet El Had (Mairif, 2013).

III.2. Matériel

III.2.1. Matériel végétal

Les parties aériennes (feuilles et rameaux) de *Pistacia lentiscus* L. ont été récoltés au mois de février 2022 vers 11, 00 heures du matin dans la zone extrême Est du Parc national de Theniet el Had. Le tableau suivant (tableau n°02) contient des informations sur le site d'échantillonnage.

Tableau n°02 : Fiche technique du site d'échantillonnage (Belkaid, 2018).

Coordonnées géographiques	(Latitude) 35.9589328 N; (longitude) 2.1050994 E
Altitude	800 m
Exposition	Nord - Est
Cortège floristique	Juniperus oxycedus, chamaerops humilis, quercus ilex, thapsia garganica
Type de Sol	Marne bleu

III.2.2. Souches microbiennes testées

Six (06) souches bactériennes (**Tableau n°03**) de référence obtenue de l'Institut Pasteur d'Alger. Toutes les souches testées sont connues pour leur pathogénicité, le plus souvent attribuées à diverses infections et intoxications alimentaires.

Tableau n°03 : Liste des souches microbiennes testées

Souche	Code	Gram
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Négatif
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC 19606	Négatif
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 35659	Négatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	positif
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 14579	positif
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 35664	Négatif

III.2.3. Milieux de culture utilisés

Les milieux de culture que nous avons utilisés (annexe n°01) sont:

- Gélose de Muller-Hinton.
- Gélose nutritive.

III.3. Méthode

III.3.1. Extraction des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus*

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par la technique de l'hydrodistillation à l'aide d'un hydrodistillateur de type Clevenger. Il s'agit de placer 100 grammes de matériel végétal frais dans un ballon contenant 750ml d'eau distillée (**Duru et al., 2003**). Faire bouillir le tout pendant 3 heures à l'aide d'un chauffe-ballon. L'huile essentielle obtenue a été séchée par le sulfate de sodium anhydre (Na₂SO₄) puis stockée dans des flacons en verre opaque à 4°C à l'abri de la lumière (**Gardeli et al., 2008**).



Figure n°11: Dispositif d'hydrodistillateur de type Clevenger pour l'extraction de l'huile essentielle (Originale 2022)

III.3.1.1. Calcul du rendement

Selon la norme **AFNOR (1986)**, le rendement en huile essentielle (RHE) exprimé en (%) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle (MEH) en (g) obtenue et la masse de matière végétale fraîche (MF) en (g). Il est calculé par l'équation suivante :

$$\text{RHE} = \frac{\text{MEH}}{\text{MF}} \times 100$$

RHE : Rendement en huile essentielle en % ;

MEH: Masse d'huile essentielle en gramme ;

MF : Masse de la plante fraîche en gramme.

III.3.2. Revivification des souches et préparation des suspensions bactériennes

Tout d'abord, Nous avons réalisé un repiquage des souches bactériennes à partir d'une culture conservée sur gélose nutritive inclinée (**Benzine, 2013**).

A partir de culture jeune de 18 à 24h (**figure n° 12**), nous avons préparé les suspensions bactériennes standardisées à 0,5 McF (MAC Farland), dans des tubes à essais contenant 9 ml de l'eau physiologique, d'une densité optique (D.O) de (0,8 à 1,20 nm) lue à une longueur d'onde de 625 nm sur un spectrophotomètre (**figure n° 13**).



Figure n°12 : résultat de la revivification des souches microbiennes (**Originale 2022**).



Figure n°13: Lecture de la densité optique des suspensions bactériennes sur un spectrophotomètre (**Originale 2022**).

III.3.3. Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des Antibiotiques (Antibiogramme)

La sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les antibiotiques est effectuée selon la méthode de diffusion de disques au milieu gélosé, cela permet de déterminer la sensibilité ou la résistance des bactéries aux antibiotiques.

Le principe de cette méthode consiste à déposer des disques d'antibiotiques sur la surface d'un milieu Muller Hinton écouvillonné par une suspension bactérienne préalablement préparée. Les boîtes de pétri ont été par la suite incubée à 37°C pendant 24 à 48h (**figure n° 14-15**) (**Denis et al., 2011**).

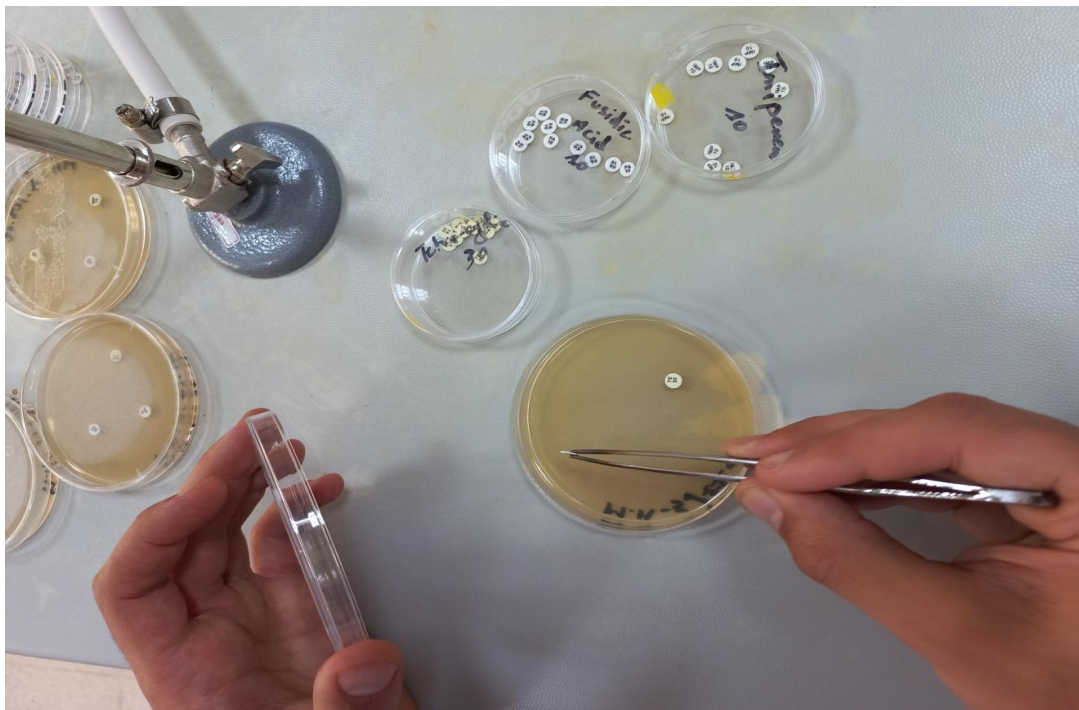


Figure n

Les antibiotiques testés sont listés dans le tableau n°04 :

Tableau n°04: Les antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme (Ammari et al., 2011 ; Jehl et al., 2015)

Signe	Antibiotique	Charge du disque en µg
VA	Vancomycin	30
AX	Amoxycillin	25
FA	Fusidic acid	10
TE	Tetracycline	30
IPM	Imipenem	10
E	Erythromycine	15
FF	Fosfomycin	50

La lecture se fait par la mesure de diamètre des auréoles (zones d'inhibition de croissance de la souche microbienne),

La sensibilité ou la résistance aux antibiotiques est différente pour chaque souche microbienne.

Les résultats obtenus permettent de classer les bactéries en: sensible (S), résistante (R) ou intermédiaire (I), selon la standardisation nationale de l'antibiogramme en médecine humaine et vétérinaire de l'année 2011 et le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (2015) (Ammari et al., 2011 ; Jehl et al., 2015).

III.3.4. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles



III.3.3.1 Aromatogramme

L'aromatogramme est un test qui permet d'analyser *in vitro* l'activité antibactérienne des huiles essentielles et de sélectionner plus précisément les huiles essentielles capables de tuer ou de détruire les germes pathogènes (Damian et Damian, 1995).

L'évaluation de l'activité antibactérienne des HE est réalisée par la méthode de diffusion sur gélose (Toroglu, 2011 et Abu-Darwish et al., 2012).

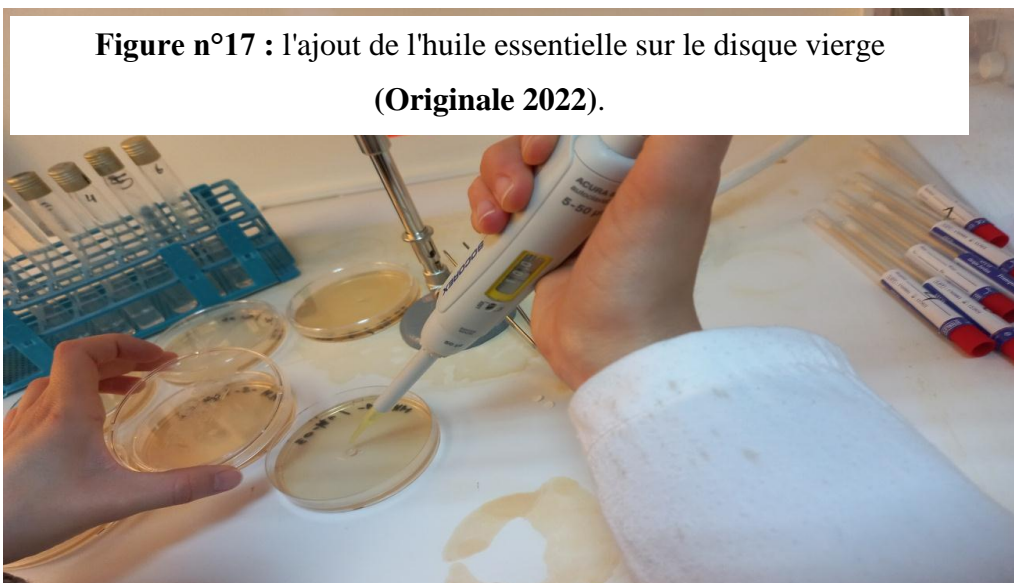
Des disques de papier Wattman de 6 mm stérilisés ont été déposés à la surface des boîtes de pétri contenant un milieu de culture Muller Hinton écouvillonnées par les suspensions bactériennes (un disque par boîte), puis 10 μ l de l'HE sont chargés sur chaque disque (figure n° 16-17).

Les boîtes sont ensuite laissées diffusées pendant 20 min à une température ambiante puis incubées à 37°C pendant 24h.

Trois essais sont réalisés pour chaque test avec témoins utilisés comme contrôle négatif.. Les diamètres des auréoles sont mesurés en millimètre et le résultat étant la moyenne de trois essais.

**Figure n°16 : Dépôt du disque vierge sur le milieu Muller-Hinton
(Originale 2022).**

**Figure n°17 : l'ajout de l'huile essentielle sur le disque vierge
(Originale 2022).**



III.3.3.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance microbienne (Skandamis et Nychas, 2001). Sa détermination a été effectuée en milieu solide selc **Figure :**

Une émulsion de l'HE a été préparée à raison de 10% (DMSO) pour le disperser et pour améliorer leur contact avec les bactéries.

La solution obtenue a ensuite été diluée en série pour obtenir les dilutions suivantes 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320 et 1/640 dans le DMSO.

1,5 ml de chacune dilutions est mélangé avec 13,5 ml du milieu MH dans une boîte Pétri en tournant les boîtes d'un mouvement circulaire jusqu'à obtenir un milieu homogène. les concentrations finales sont : 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600, 1/3200, 1/6400 (v/v).

L'ensemencement des suspensions bactériennes ce fait par des stries à l'aide d'un écouvillon stérile. Les boîtes sont ensuite incubée à 37°C pendant 24 à 48h (**figure n° 20**).

Des contrôles négatifs ne contenant que le DMSO et l'inoculum ont été également préparés. Trois essais sont effectués pour chacune des concentrations d'huile essentielle utilisée.

La lecture des résultats se fait par observation macroscopique et la CMI correspond à la plus faible concentration d'huile sans aucune croissance microbienne n'est visible (**CLSI, 2002; Oussou et al., 2004**).

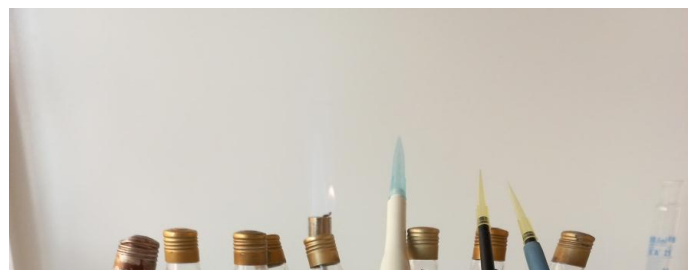


Figure n°18 : La série de dilution de l'huile essentielle (**Originale 2022**).





Figure n°19 : La dilution de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L.
(Originale 2022).

Figure n°20 : Ensemencement des suspensions bactériennes sur le milieu gélosé
(Originale 2022).



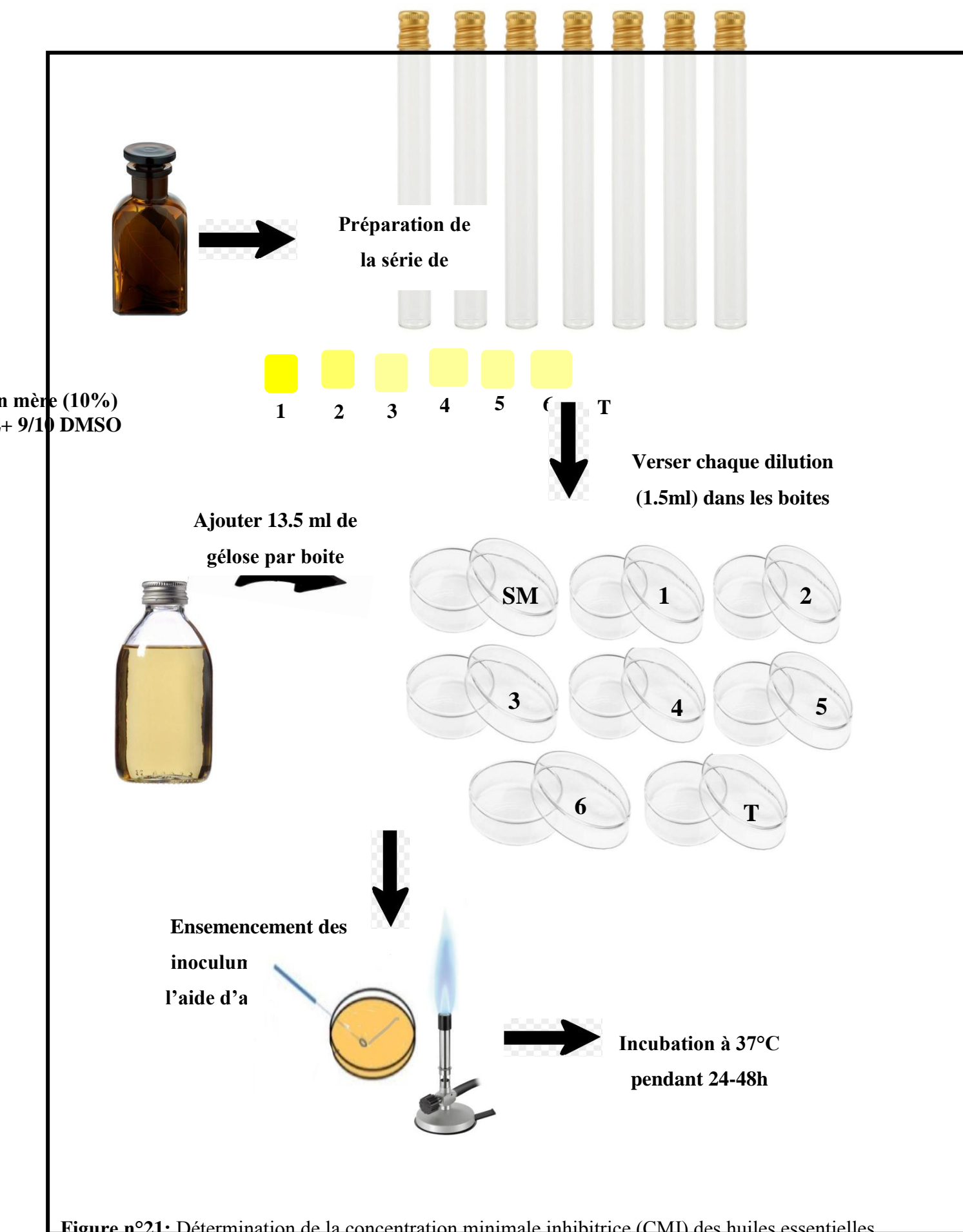


Figure n°21 • Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L. (Originale 2022).

CHAPITRE IV

RÉSULTATS ET DISCUSSION

IV. 1. Matériel végétal

IV. 1. 1. Rendement en huile essentielle

L'huile essentielle obtenue est de couleur jaune, d'aspect liquide, de bonne fluidité, limpide et transparente, avec une odeur aromatique.

Le rendement en huile essentielle obtenues à partir des feuilles et rameaux du *Pistacia lentiscus* par hydrodistillation (**figure n°22**) est calculé comme suit (**Vagi et al., 2005**) :



Figure n°22 : l'huile essentielle extraite (**Originale 2022**).

$$\text{Le rendement} = \frac{\text{Masse d'huile essentielle (g)}}{\text{Masse du matériel végétal utilisé (g)}} \times 100$$

Les résultats obtenus sont classés dans le tableau suivant (**tableau n°05**) :

Tableau n°05 : Rendement en huile essentielle de *Pistacia lentiscus* extraite par hydrodistillation.

Essai N°	Masse du matériel végétal utilisé en g	Volume d'eau distillée utilisé en ml	Masse des huiles essentielles extraites en g	Rendement en huile essentielle %	Rendement Moyen %
1	800	6000	3,151	0,393	
2	800	6000	3,114	0,389	
3	800	6000	3,196	0,399	0,39
4	800	6000	3,176	0,397	

Les résultats résumés dans le tableau n°05 indiquent que le rendement en huile essentielle de *Pistacia lentiscus* est de l'ordre de 0,39%.

Cette valeur est proche de celle obtenue par **Milia et al. (2020)** en Sardaigne du Nord (Italie) ; **Arab et al. (2014)** dans la région de Boumerdes et **Driss (2020)** dans le parc national de Theniet El Had entre 0.38 et 0,42 %.

Par ailleurs, les résultats que nous avons obtenus semblent relativement élevés que celle reporté par **Benhammou et Atik Bekkara (2009)** dans la région de Tlemcen et **Amhamdi et al. (2009)** au Maroc allant de 0,07 à 0,14 %.

En outre, un rendement beaucoup plus élevé signalé par **Amara et al. (2019)** qui révèle une valeur de 1,18%.

Les raisons de cette variation peuvent s'expliquer par diverses conditions environnementales (climat et situation géographique), de périodes de récolte et de techniques de distillation (**Lahlou, 2004**). Il convient également de noter que la production des huiles essentielles et aromatiques à partir de plantes est le résultat d'une série de régulations physiologiques, biochimiques, métaboliques et génétiques (**Costa et al., 2003**).

IV. 2. Etude de l'activité antimicrobienne

IV. 2.1. L'Antibiogramme

Les figures (23-28) et le tableau n°06 montrent l'évaluation de la sensibilité bactérienne par les tests d'antibiogramme.



Figure n°23 : Résultats de l'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa* (Originale 2022).

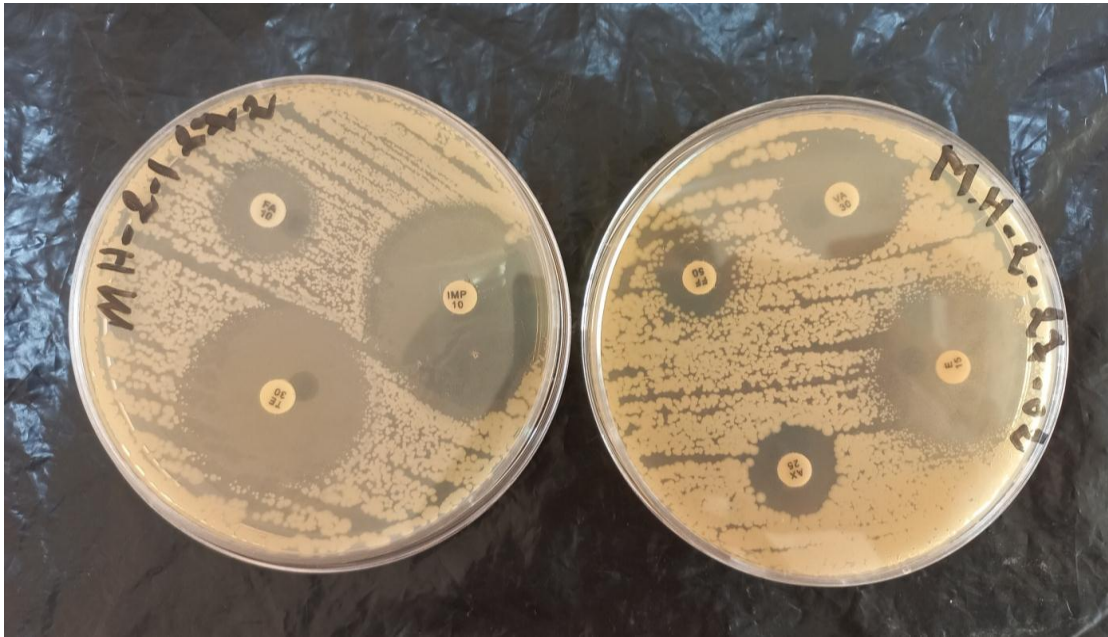


Figure n°24 : Résultat de l'antibiogramme d'*Acinetobacter baumannii*
(Originale 2022).

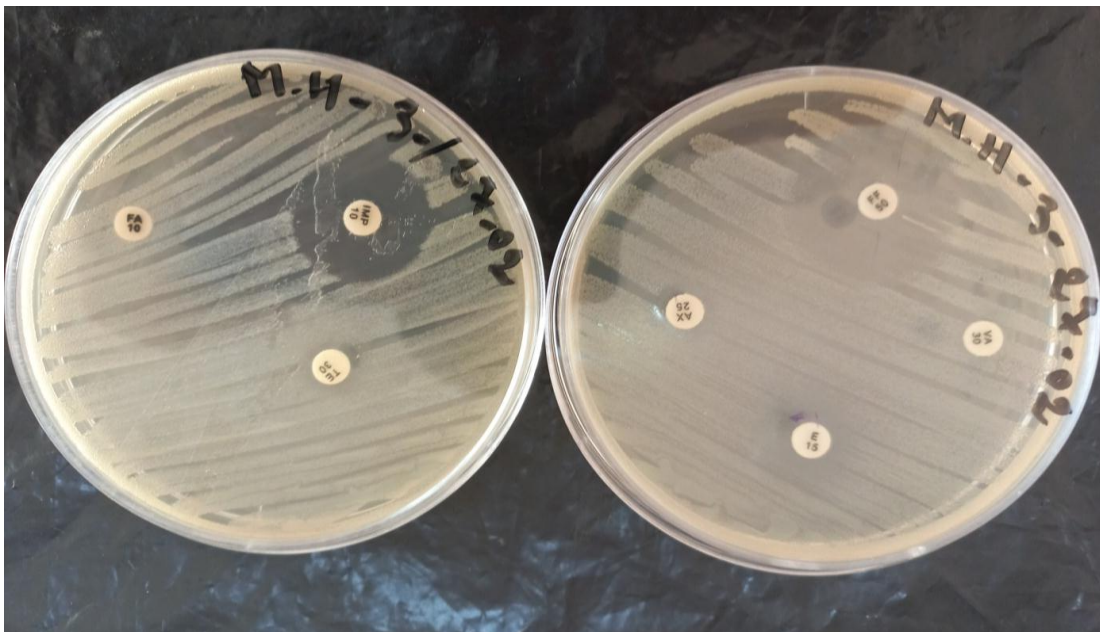


Figure n°25 : Résultat de l'antibiogramme de *Proteus mirabilis*
(Originale 2022).

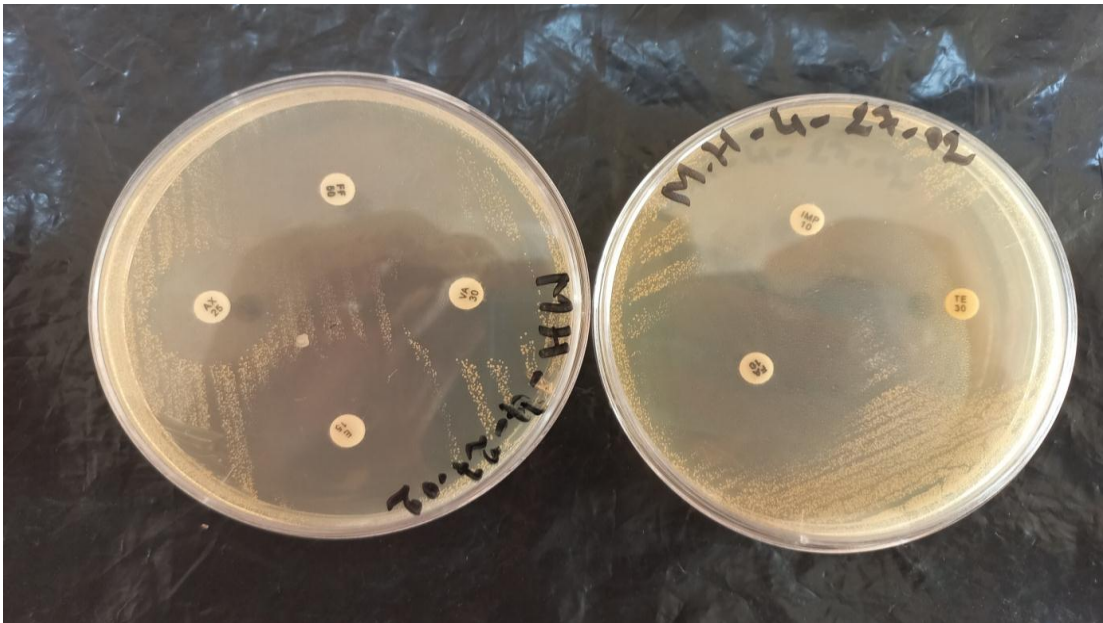


Figure n°26 : Résultats de l'antibiogramme de *Staphylococcus aureus* (Originale 2022).

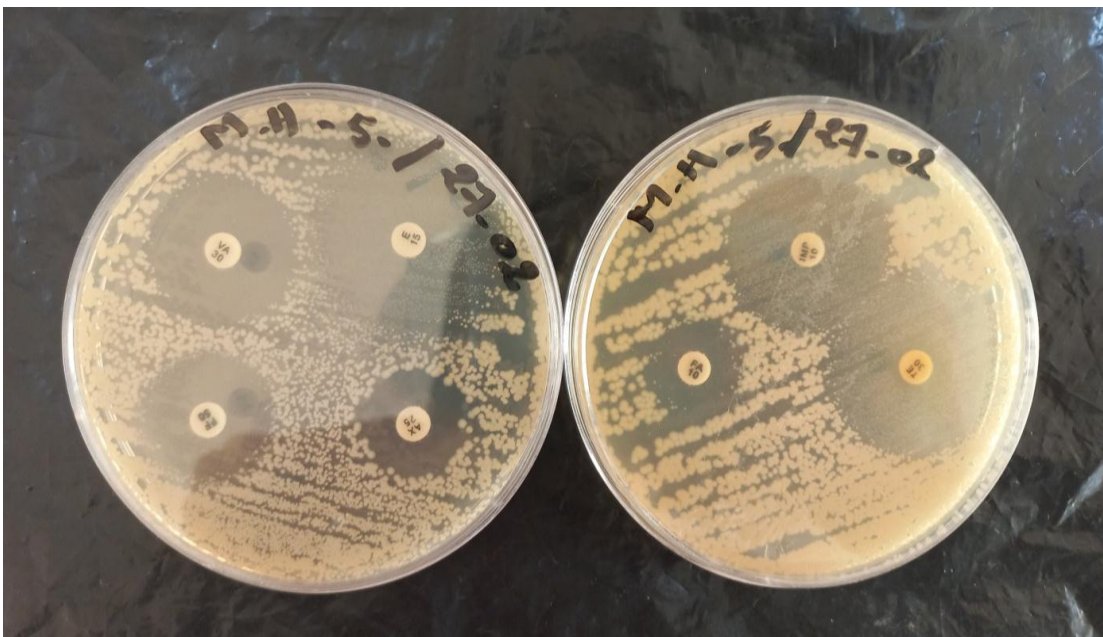


Figure n°27 : Résultats de l'antibiogramme de *Bacillus cereus* (Originale 2022).



Figure n°28 : Résultats de l'antibiogramme de *Salmonella enterica* (Originale 2022).

Tableau n°06 : Résultats de l'antibiogramme exprimés par (mm) le diamètre de la zone d'inhibition.

Souches AB	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter baummannii</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Salmonella enterica</i>
Vancomycin	13	23	0	26	25	0
Amoxicillin	15	16	10	22	18	0
Fusidic acid	12	16	0	42	18	0
Tetracycline	29	31	09	36	34	18
Imipenem	30	39	22	44	30	21
Erythromycine	31	29	11	35	32	17
Fosfomycin	16	13	26	28	22	07

<10 mm Résistant (non sensible);

10 à 14mm sensible ;

15 à 20mm très sensible :

>20mm Extrêmement sensible.

- Nous avons marqué deux souches résistantes : *Proteus mirabilis* vis-à-vis Tetracycline, *Salmonella enterica* vis-à-vis Fosfomycin.
- Les souches sensibles sont : *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis Vancomycin et Fusidic acid, *Acinetobacter baumannii* contre Fosfomycin, *Proteus mirabilis* vis-à-vis Amoxicillin et Erythromycine.
- Les souches qui sont très sensibles : *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis Amoxicillin et Fosfomycin, *Acinetobacter baumannii* et *Bacillus cereus* vis-à-vis Amoxicillin et Fusidic acid, *Salmonella enterica* vis-à-vis Tetracycline et Erythromycine.
- Ceux qui sont extrêmement sensible sont : en premier lieu *Staphylococcus aureus* vis-à-vis tous les 7 AB, suivie par *Bacillus cereus*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enterica*.
- Cependant, les AB qui sont inactifs contre les bactéries sont: Fusidic acid vis-à-vis *Proteus mirabilis* et Fusidic acid, Amoxicillin, Vancomycin vis-à-vis *Salmonella enterica*.

IV. 2.2. L'aromatogramme

Les résultats présentés dans le tableau n°07 et les figures (29-31) ont été obtenus en évaluant l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé.

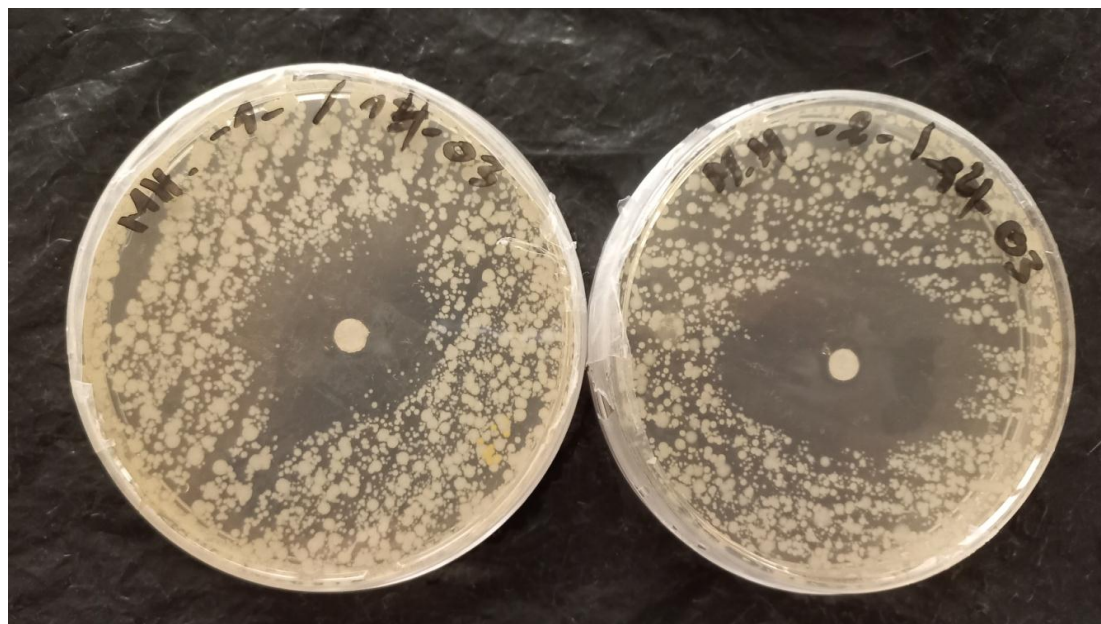


Figure n°29 : Résultats de l'aromatogramme de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (Originale 2022).

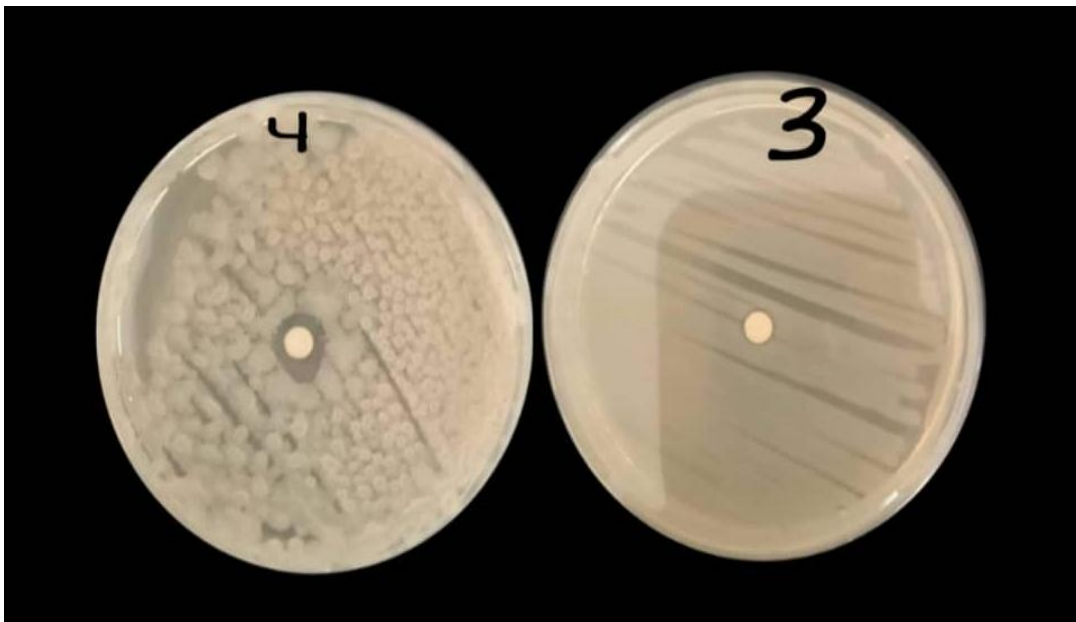


Figure n°30 : Résultats de l'aromatogramme de *Proteus mirabilis* et *Staphylococcus aureus* (Originale 2022).

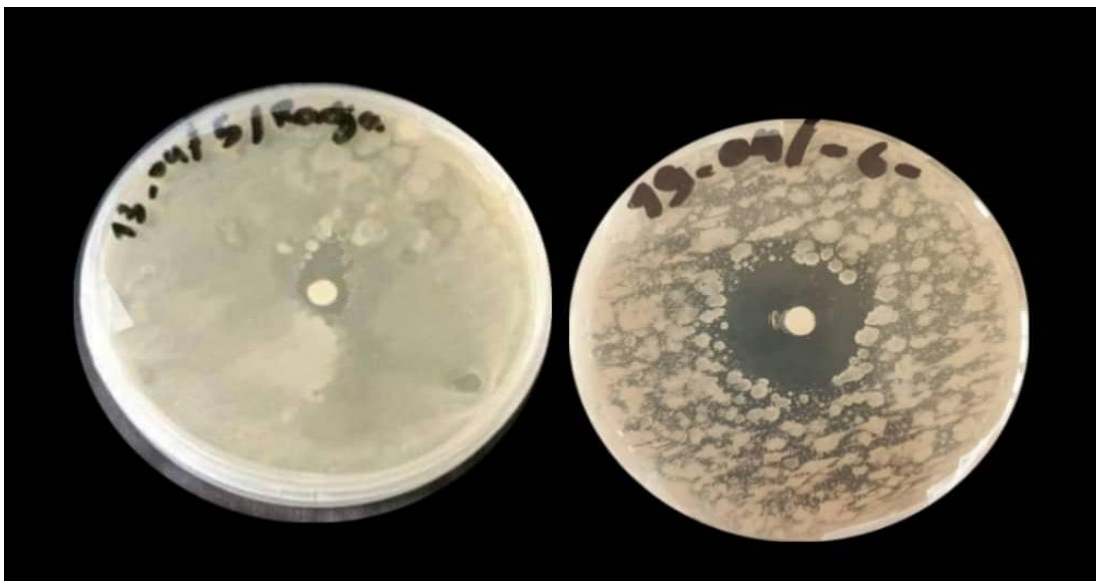


Figure n°31 : Résultats de l'aromatogramme de *Bacillus cereus* et *Salmonella enterica* (Originale 2022).

Les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle varient d'une souche à l'autre.

Tableau n°07 : Résultats de l'aromatogramme exprimés en millimètres.

Souches	Diamètres (mm)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
<i>Acinetobacter baumannii</i>	24
<i>Proteus mirabilis</i>	07
<i>Staphylococcus aureus</i>	19
<i>Bacillus cereus</i>	07
<i>Salmonella enterica</i>	26

Nous avons enregistré deux souches extrêmement sensibles aux huiles essentielles : *Salmonella enterica* (26 mm) et *Acinetobacter baumannii* (24 mm), suivis par deux souches très sensibles : *Staphylococcus aureus* (19 mm) et *Pseudomonas aeruginosa* (15 mm), ainsi que deux souches résistantes contre les HE : *Proteus mirabilis* et *Bacillus cereus* (07 mm), ces valeurs sont proches de celles reportées par **Amara et al. (2019)**.

Les résultats de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* sont en accord avec les valeurs signalées par **Benhamou et Atik Bekkara (2009)**, **Hafsé et al. (2013)**, **Benabdallah et al. (2015)**.

IV. 2.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L. a été testée à des concentrations allant de 1/100 à 1/6400 (v/v) (**Tableau n°08**) (**figure n°32-37**).

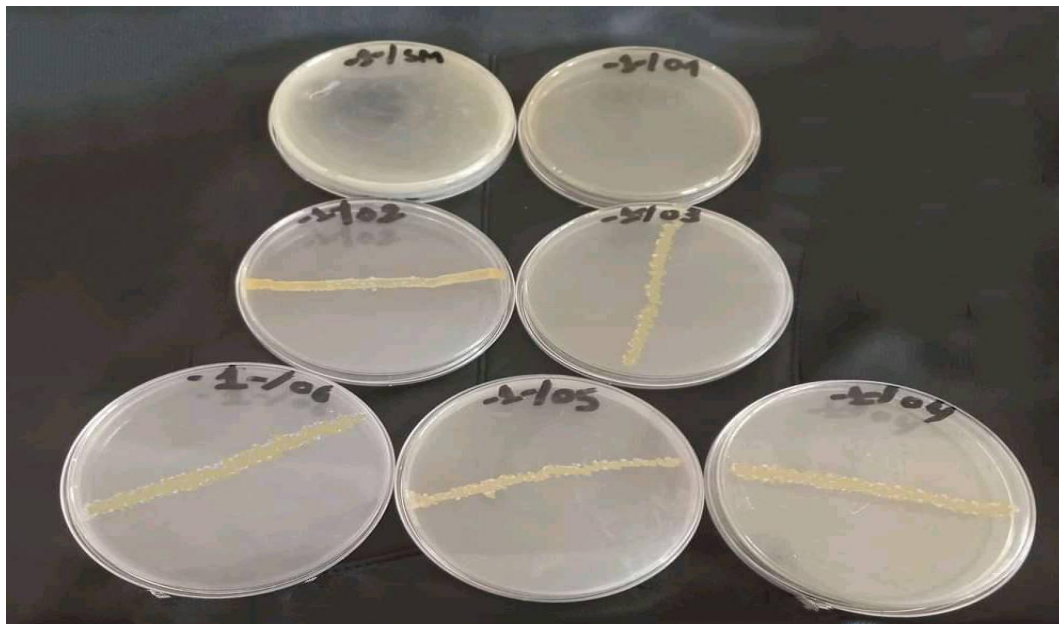


Figure n°32 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* vis à vis *Pseudomonas aeruginosa* (Originale 2022).



Figure n°33 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* vis à vis *Acinetobacter baumannii* (Originale 2022).

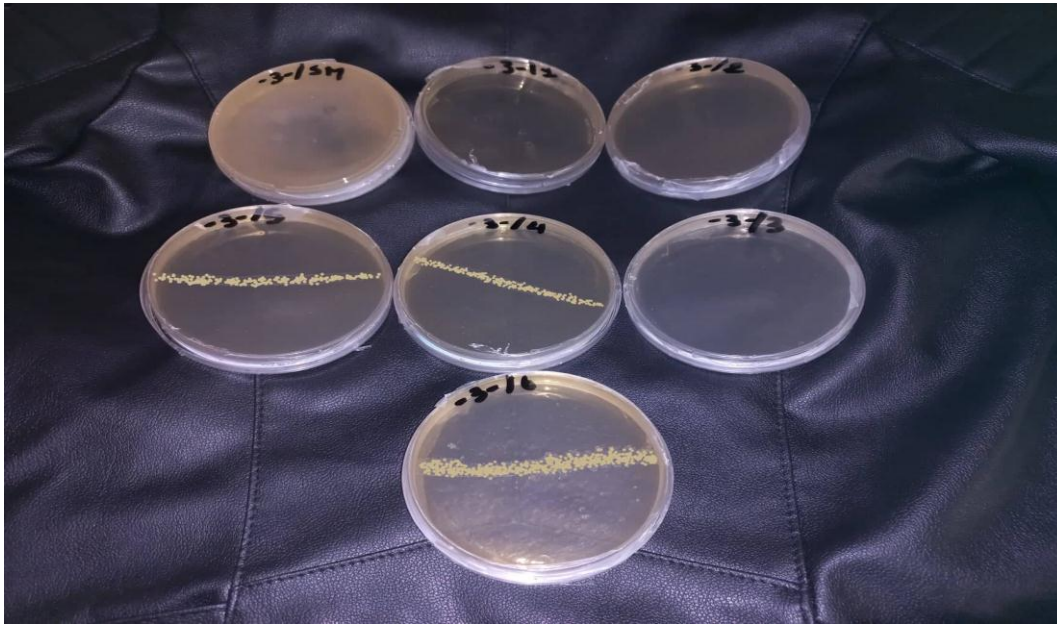


Figure n°34 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* vis à vis *Proteus mirabilis* (Originale 2022).

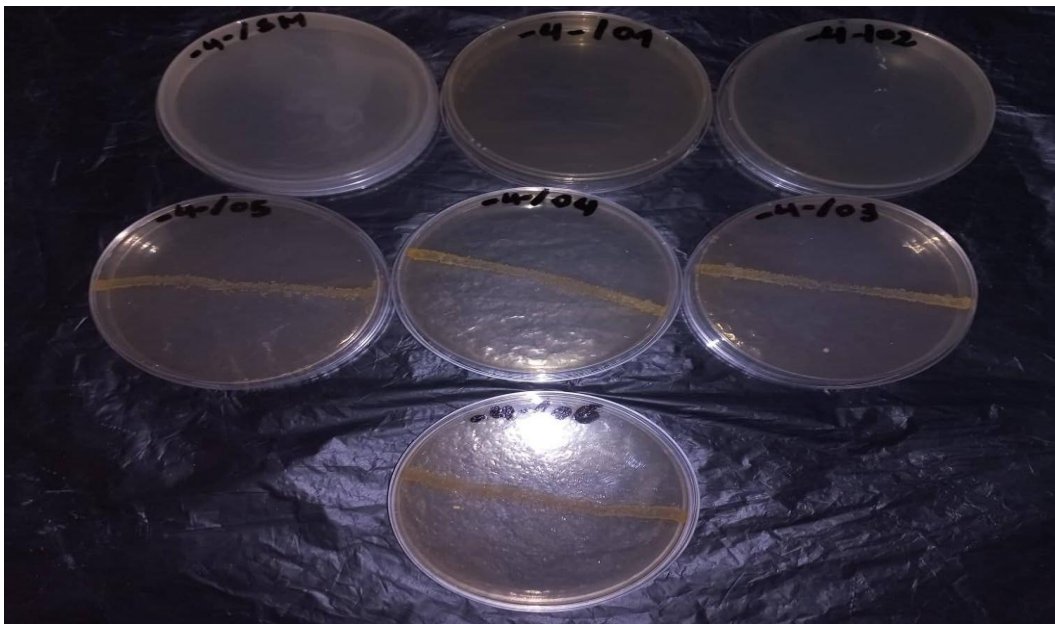


Figure n°35 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* vis à vis *Staphylococcus aureus* (Originale 2022).

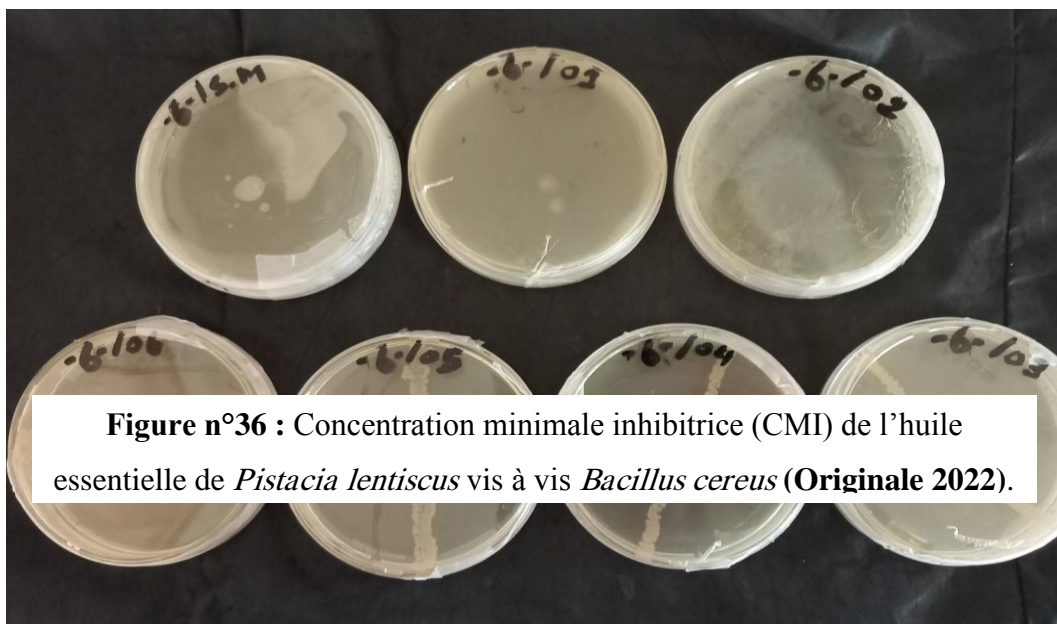
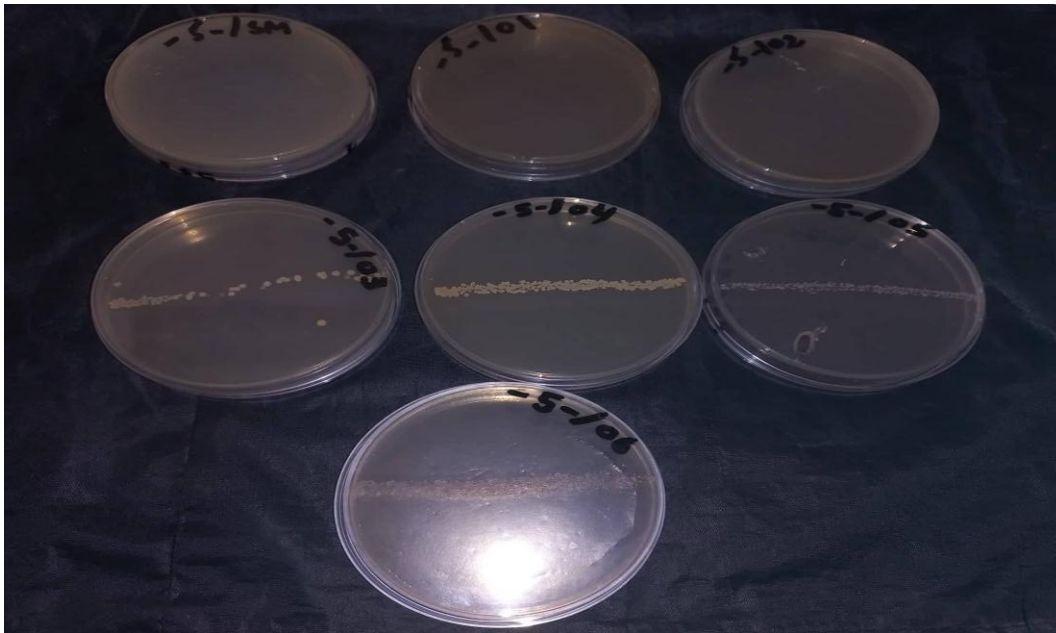


Figure n°36 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* vis à vis *Bacillus cereus* (Originale 2022).

Tableau n°08 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* visa à vis les bactéries testées.

Bactéries	Concentration de l'huile essentielle de Lentisque							
	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	T
	1%	0.5%	0.25%	0.125%	0.0625%	0.0312%	0.0156%	0%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Salmonella enterica</i>	-	-	-	+	+	+	+	+

- : Absence de croissance ; + : Présence de

D'après les résultats mentionnés dans le tableau n°08, il semble que *Pseudomonas aeruginosa* a été inhibée par la plus grande concentration de 1/200 (v/v), alors que *Proteus mirabilis* a été inhibée par la plus petite concentration de 1/800 (v/v), en outre *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Salmonella enterica* ont inhibées par une concentration moyenne de 1/400 (v/v).

Selon **Haloui et al. (2015)**, les valeurs de la concentration minimale inhibitrice pour *Bacillus sp.*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* sont 0.5 ; 4 et 16% respectivement.

D'après **Hafse et al. (2017)**, la CMI pour *Bacillus sp.* et *Staphylococcus aureus* était de 1/250 (v/v), tandis que la CMI pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella sp.* était de 1/125 (v/v).

Vu la CMI des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* observées chez *Proteus mirabilis* et *Bacillus cereus*, malgré leur résistance dans l'aromatogramme (méthode de diffusion des disques), cela confirme que la méthode utilisée peut être considérée comme un facteur influant sur l'activité antibactérienne.

L'absence de relation entre les deux méthodes de recherche peut s'expliquer par l'environnement dans lequel l'huile essentielle se trouve, ainsi que le type de contact. Dans l'aromatogramme, les constituants actifs sont difficiles à diffuser sur la gélose ; tandis que dans la méthode de dilution, les constituants actifs sont en émulsion avec les ingrédients du milieu de culture et sont donc en contact direct avec les constituants du milieu, ces résultats ont été déjà rapportés par **Bouguerra (2012)**.

CONCLUSION

Les plantes médicinales ont toujours été utilisées comme médicaments pour leurs propriétés thérapeutiques. Aujourd'hui nous recherchons d'une vie saine, d'un retour à la nature et aux valeurs essentielles. L'aromathérapie est une « super-phytothérapie » ; les hommes se traitent ainsi depuis des milliers d'années. Cela indique l'utilité des molécules naturelles qui composent les plantes médicinales.

La cédrie de Theniet El Had, wilaya de Tissemsilt, se caractérise par une intensité et une diversité végétale, car elle contient de nombreuses plantes médicinales qui ont une importance thérapeutique.

Le présent travail a fait l'objet d'une étude biologique de l'espèce végétale *Pistacia lentiscus* en évaluant leur pouvoir antimicrobien.

L'extraction par hydrodistillation des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L. de Theniet el Had a donné un rendement de l'ordre de 0.39%.

L'évaluation de l'activité antibactérienne a permis de mettre en évidence une activité inhibitrice vis-à-vis quatre souches testées par la méthode de l'aromatogramme (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella enterica*), où la souche la plus sensible est *Salmonella enterica* d'une zone d'inhibition de 26 mm, ainsi que deux souches résistantes aux HE à savoir *Proteus mirabilis* et *Bacillus cereus* d'une zone d'inhibition de 7 mm.

Les antibiotiques n'étaient pas tous actifs contre les souches bactériennes, et certains étaient même inactifs, par rapport aux huiles essentielles de *P. lentiscus* tels que Vancomycin et Fusidic acid contre *Proteus mirabilis* et *Salamonella enterica*.

Pour les valeurs des concentrations minimales inhibitrices, *Pseudomonas aeruginosa* a été inhibée par la plus grande concentration de 1/200 (v/v), alors que *Proteus mirabilis* a été inhibée par la plus petite concentration de 1/800 (v/v), en outre *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Salmonella enterica* ont inhibées par une concentration moyenne de 1/400 (v/v).

L'ensemble des résultats obtenus lors de notre recherche représentent une étape préliminaire dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives, Il serait intéressant de soutenir ce travail par :

- L'analyse biochimique des substances constituant les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* ;
- Extraction des huiles essentielles d'autres parties de l'espèce de *Pistacia lentiscus* ;
- Tester d'autres méthodes d'extraction et leurs influences sur le rendement en huiles essentielles ;
- Évaluation de l'activité antioxydante, anti inflammatoire et antivirale ;
- L'étude des mécanismes d'action des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus*.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abu-Darwish M.S., Al-Ramamneh E.M., Kyslychenko V.S. et Karpiuk U.V., 2012.** The antimicrobial activity of essential oils and extracts of some medicinal plants grown in Ash-shoubak region – South of Jordan. *Pak. J. Pharm. Sci.* 25(1), 239-246.
- AFNOR (Association Française de Normalisation), 1986.** Recueil des normes françaises “huiles essentielles”. *AFNOR, Paris*, 57p.
- AFNOR (Association Française de Normalisation), 2000.** Recueil des normes françaises “huiles essentielles”. Monographies relatives aux huiles essentielles. *AFNOR, Paris*.
- Amara N., Benrima A., Anba C., Belkhir H., 2019.** Actévitité antimicrobienne de l’huile essentielle des fruits du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.). *Revue Agrobiologia* 9(2): 1669-1676.
- Amazian K., Rossello J., Castella A., Sekkat S., Terzaki S., Dhidah L. et al., 2010.** Prevalence of nosocomial infections in 27 hospitals in the Mediterranean region. *East Mediterr Health J* 16: 1070-1078.
- Amhamdi H., Aouinti F., Wathelet J.P., Elbachiri A., 2009.** Chemical composition of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from eastern Morocco. *Rec. Nat. Prod.* 3, (2) : 90-95.
- Ammari H., Benslimani A., Rahal K., Tali-Maamar H., Kechih-Boumar S., 2011.** Standardisation de l’antibiogramme a l’échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire), 6e édition, OMS, 195.
- Angharad Rees L., 2011.** Face aux défis des systèmes publics de santé, quel rôle pour la médecine traditionnelle dans les pays en développement ? Hors Collection, pp. 337 – 345.
- Arab K., Bouchenak O., Yahiaoui K., 2014.** Etude phytochimique et évaluation de l’activité antimicrobienne et antioxydante de l’huile essentielle et des composés phénoliques du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.). *J. Fundment. Appl. Sci.* 6, (1):79-93.
- Attouba S., Karam M.S., Nemmar A., Arafat Kh., Johnd W.F., Al-Dhaherib M., Al Sultana A. et Razad H., 2014.** Short-Term Effects of Oral Administration of *Pistacia Lentiscus* Oil on Tissue Specific Toxicity and Drug Metabolizing Enzymes in Mice. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 33, 1400-1410.
- Ayvaz A., Sagdic O., Karaborklu S. et Ozturk I., 2010.** Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-Product insects. *Journal of Insect Science*, Vol. 10, N°1.

B

- Badiaga M., 2011.** Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* (Smith). Une plante médicinale africaine récoltée au Mali, Thèse de Doctorat, Université de Bamako, 137 p.

- Barra A., Coroneo V., Dessi S., Cabras P. et Angioni A., 2007.** Characterization of the Volatile Constituents in the Essential Oil of *Pistacia lentiscus* from Different Origins and its antifungal and antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55, 7093-7098.
- Bastien F., 2008.** Effet larvicide des huiles essentielles sur *Stomoxys calcitrans* à la Réunion. Thèse de Doctorat. Toulouse: Université Paul Sabatier, 25-26.
- Baudoux D., 2003.** L'aromathérapie : Se soigner par les Huiles Essentielles. Edition Amyri. p. 145-146.
- Baytop T., 1999.** Therapy with medicinal plants in turkey- Past and Present, Second ed. Nobel Publishers, Istanbul.
- Beldi M., Merzougui H. et Lazli A., 2021.** Etude ethnobotanique du Pistachier lentisque *Pistacia lentiscus* L. dans la wilaya d'El Tarf (Nordest algérien) - Ethnobotanical study of *Pistacia lentiscus* L. in El Tarf region (Northeastern Algeria).
- Belfadel F.Z., 2009.** Huile de fruits de *Pistacia lentiscus*-Caractéristiques physicochimiques et effets biologiques. Mémoire de Magistère en chimie organique, Université Constantine 1, 2009, p 139.
- Belhadj S., 2000.** Les pistacheraies algériennes: Etat actuel et dégradation, Centre Universitaire de Djelfa, Algérie. 108 p.
- Bellakhdar J., 1997.** Pharmacopée traditionnelle marocaine. Ibis Press, Paris P.764.
- Bellakhdar J., 2003.** La pharmacopée marocaine traditionnelle, Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. *Ibis Press*, Paris, p 764.
- Benabderrahmane M., Benali M., Aouissat H., et Jordan, M.J., 2009.** Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. L'Algérie. *Phytothérapie*, Vol. 7, No6, 304-308.
- Benabdallah F.Z., Kouamé R.O., El Bentchikou M., Zellagui A. et Gherraf N., 2015.** Études ethnobotanique, phytochimique et valorisation de l'activité antimicrobienne des feuilles et de l'oléorésine du pistachier de l'atlas (*Pistacia atlantica* Desf.). DOI 10.1007/s10298-015-0926-2.
- Benhammou N., Atik Bekkara F. and Tatjana Panovska K., 2008.** Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. y Vol. 2(2). pp. 022-028.
- Benhammou N. et Atik Bekkara F., 2009.** Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L. de deux stations de la région de Tlemcen (Algérie). H. Greche & A. Ennabili. *Recherches sur les plantes aromatiques et médicinales. Mezraoua (Taounate) & Fès, Maroc*, 281-285.
- Benzine, O., 2013.** Caractérisation par HPLC de quelques composés chimique de l'huile de nigelle (*Nigella Sativa*), et recherche d'une activité antimicrobienne. Mémoire de Master II en science des aliments. Université de Tlemcen, Algérie. 85p.
- Bernadet M., 2000.** Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles. Dictionnaire thérapeutique de 530 affections courantes. *Dangles, Toulouse, France*, 384p.

- Bhourri W., Derbel S., Skandrani I., Boubaker J., Bouhleb I., Sghaier B., Kilani S., Mariotte A. M., Dijoux-Franca M. G.; Ghedira K. et Chekir-Ghedira L., 2010.** Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Toxicology in Vitro*, 24: 509–515.
- Boudieb K., Ait Slimane S. et Amellal Ch.H., 2019.** Effect of Maturation degree on the fixed oil chemical composition, phenolic compounds, mineral nutrients and antioxidant properties of *pistacia lentiscus* Fruits. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 47, 1842-4309.
- Bouhdid S., Jamal Abrini J., Baudoux D., Angeles Manresa A., Zhiri A., 2012.** Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan : pouvoir antibactérien et mécanisme d'action. *Pharm Clin*; 31 (3) : 141-8.
- Boullard B., 2001.** Dictionnaire des plantes médicinales du monde: Réalités et Croyance, Ed: Estem, p414, 415.
- Boutayeb A., 2013.** Etude bibliographique sur les huiles essentielles et végétales. Mémoire de licence. Université Ibn Tofail-licence, chapI.
- Boz I., Burzo I., Zamfirache M.M., Toma C., Padurariu C, 2009.** Glandular trichomes and essential oil composition of *Thymus pannonicus* All. (*Lamiaceae*). *Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie*, 36-39p.
- Bozorgi M., Memariani M., Mobli M., Hossein M., Salehi S., Reza M., Ardekani S. et Rahimi R., 2013.** Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. *The ScientificWorld Journal*, 10, 2-28.
- Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition, Tec & Doc.Lavoisier, Paris, 1120p.
- Buisson Y. et Teyssou R., 2002.** Les toxi-infections alimentaires collectives. *Revue française des laboratoires*. 348, 61-66.
- Burt S., 2004.** *Essential Oils: Their Antibacterial Properties and Potential Applications in Foods— A Review*, *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 94, pp. 223 – 253.
- Busta F. F. et Foegeding P. M., 1980.** Chemical food preservatives In S.block. “Disinfection, sterilization and preservation”, Lea and febiger Eds, Philadelphia. USA. 656-694.

C

- Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L. et Ferret A., 2007.** Invited Review : Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*. 90, 2580- 259.
- Charpentier B., Hamon-Lorleach F., Harlay A., Huard A., Ridoux L., Chanselle S., 2008.** Guide du préparateur en pharmacie. 3^{ème} édition, Elsevier Masson, Paris, 1358p.

- Chekchaki N., Boumendjel A., Debabi S.H., Salem L. et Messarah M., 2015.** Effets anti-inflammatoires de *Pistacia lentiscus* dans un modèle d'asthme expérimental, *Thérapeutiques / Revue française d'allergologie* 3, 266–273.
- Clos J., 2012.** Immunité chez les animaux et les végétaux : Aspects fondamentaux et physiopathologiques. Lavoisier, Paris, 432p.
- Costa M., Nogueira J.M.F., Miguel M.G. et Romano A., 2003.** In vitro mass clonal propagation of *Dittrichia viscosa* subsp. *revoluta* and analysis of its secondary metabolites. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 78(3): 310-3.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), 2002.** Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi. *Wayne (Approved Standard M38-A)*.
- Crespo M.E., Jiménez J., Navarro C., 1991.** Special methods for the essential oils of the genus *Thymus*. In: *Modern Methods of Plant Analysis*, (edited by H.F. Linskens and J.F. Jackson), pp 41-46. *Vol 12, New series, Essential oils and waxes. Springer-Verlag, Berlin*.
- Cristiani M., D'arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M.G. et Micieli D., 2007.** Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(15), 6300-6308p.

D

- Damian P., Damian K., 1995.** Aromatherapy : Scent and Psyche ; Using Essential Oils for Physical and Emotional Well-Being, edition Healing Arts Press, 264.
- De Pooter HL., Schamp N.M., Aboutabl E.A., El Tohamy S.F. et Doss S.L., 1991.** Essential oils from the leaves of three *Pistacia* species grown in Egypt. *Flavour and Fragrance Journal* 6: 229-232.
- Delazar A., Reid R.G. et Sarker S.D., 2004.** GC-MS analysis of the essential oil from the oleoresin of *Pistacia atlantica* var. *mutica*. *Chemistry of Natural Compounds* 40(1): 24-27.
- Delille L., 2007.** Les plantes médicinales d'Algérie. Berti. P: 147-148.
- Dellai A., Souissi H., Borgi W., Bouraoui A., Chouchane N., 2013.** Anti inflammatory and anti-ulcerogenic activities of *Pistacia lentiscus* L. leaves extracts, *Industrial Crops and Products* 49 879– 882.
- Demoré B., Grare M. et Duval R.E, 2012,** Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. In : *Pharmacie clinique et thérapeutique* (coordonné par J Calop., S Limat., C Fernandez et G Aulagner), pp 801-844. *4ème édition, Elsevier Masson, Paris*.
- Denis F., Bingen E., Martin C., Ploy M.C., Quentin R., 2011.** Bactériologie médicale : Techniques usuelles. 2nd Edition Elsevier Masson, 640.

Derong L., Mengshi X., Jingjing Z., Zhuohao L., Baoshan X., Xindan L., Maozhu K., Liangyu L., Qing Z., Yaowen L., Hong C., Wen Q., Hejun W. et Saiyan C., 2016. An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. *Journal of molecules*, 21, 1-19.

Deschepper R., 2017. Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de doctorat. Université d'Aix, Marseille. 172p.

Desmares C., Laurent A. et Delerme C., 2008. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. *AFSSAPS. Anatole, France*, 18p.

Djerou Z., 2011. Etude des effets pharmaco-toxicologique de plantes médicinales d'Algérie : L'activité cicatrisante l'innocuité de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L. Thèse de doctorat sciences, Univ Mentouri, Fac Sci Nat Vie, Constantine, 156p.

Dris I., 2020. Caractérisation chimique des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L. Evaluation du pouvoir antimicrobien et antioxydant. Thèse de doctorat. Université Ahmed Ben Yahia El wancharissi-Tissemsilt. 137p.

Duru M.E., Cakir A., Kordali S., Zengin H., Harmadar M., Izumi S. et Hirata T., 2003. Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species. *Fitoterapia* 74, 170-176.

Durua M.E., Cakirb A., Kordalic S., Zenginc H., Harmandara M., Izumid S. et Hiratad T., 2003. Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species. *Fitoterapia* 74: 170-176.

E

El Kalamouni C., 2010. Caractérisation chimique et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de Doctorat. Toulouse, INPT.

Emberger L., 1955. Projet d'une classification biogéographique des climats. *Annales de Biologie*, 31 (5- 6) : 249-455.

F

Farhat A., 2010. Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Sciences des Procédés, Sciences des Aliments), Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France) & Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès (Tunisie).

Festy D., 2014. Ma bible des huiles essentielles. Editions Leduc's 17. France. 31p.

Ferradji A., 2011. Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcoolique et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*, Mémoire Présenté Pour l'obtention du Diplôme de Magister en biochimie Sétif.

Fischetti F.Jr., 2010. Flavoring Materials, Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology.

Franchomme P. et Pénoel D., 1990. L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. *Edition Roger Jallois, Limoges, France*, 445p.

Farah A., Satrani B., Fechtal M., Chaouch A. et Talbi M., 2001. Composition chimique et activités antibactérienne et antifongique des huiles essentielles de *Eucalyptus camaldulensis* et son hybride naturel (clone 583). *Acta Botanica Gallica*, 148 (3), 183-190.

G

Gardeli C., Vassiliki P., Athanasios M., Kibouris H. et Komaitis M., 2008. Essential of composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* of methanolic extracts. *Food chemistry* 107 (3), p. 1120-1130.

Gebreyohannes G., Moges F., Sahile S., Raja N., 2013. Isolation and characterization of potential antibiotic producing actinomycetes from water and sediments of Lake Tana, Ethiopia. *Asian Pac J Trop Biomed.* 3(6): 426-435.

Goetz P. et Ghedira K., 2012. Phytothérapie anti-infectieuse. Edition : Springer-Verlag France, Paris. Pp 4-194.

Gomes P.B., Mata V.G. et Rodrigues A.E., 2007. Production of rose geranium oil using supercritical fluid extraction. *Journal of Supercritical Fluids*, 41(1), 50-60.

H

Hafsé M., Fikri Benbrahim K., Abderrahim Saidi A. et Abdellah Farah A., 2013. Volatile components and antibacterial profile of essential oils extracted from leaves and twigs of *Pistacia lentiscus* L. *British Microbiology Research Journal* 3(4): 602-611,

Hafse M., Fikri Benbrahim K. et Farah A., 2017. Biological activities of taounate's *Pistacia lentiscus* essential oil. *Journal of Advances in Biology*, 10(1), 2039-2043.

Haloui T., Farah A., Balouiri M., Chraïbi M., Fadil M., Fikri Benbrahim K. et Belrhiti Alaoui A., 2015. Bacteriostatic and bactericidal profile of leaves and twigs essential oils of Moroccan *Pistacia lentiscus* L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(6), 50-53.

Hanberger H., Garcia-Rodriguez J.A., Gobernado L., Goossens H., Nilsson L.E. et Struelens M.J., 1999. Antibiotic susceptibility among aerobic gram-negative bacilli in intensive care units in 5 European countries. French and Portuguese ICU Study Groups. *JAMA*, 281(1), 67-71p.

Hans W. et Koth., 2007. 1000 plantes aromatiques et médicinales. Ed: Terre. p 242.

Heath H.B., 1981. Source Book of Flavors, Springer, XXVI, 864 p.

Hellal Z., 2011. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). *Mémoire de magister. Université de Tizi-Ouzou, Algérie*, 120p.

Beniamino O., 1957. Grasse, Centre Mondial des Matières Premières Aromatiques, Revue de Géographie Alpine, Vol. 45, N°4, pp. 763 – 774.

I

Iauk L., Ragusa S., Rapisarda A., Franco S. et Nicolosi VM., 1996. : In vitro antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* L. extracts : Preliminary report. *Journal of Chemotherapy* 8(3): 207-209.

Iserin, P., 2001. Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soins. 2ième édition Ed Larousse/VUEF. p13-16, 250, 291-296.

J

Jaffrelo A., 2019. Aromathérapie pour les soignants. Les nouveaux chemins de la santé. 30p.

Jehl F., Lina G., Bonnet R., Bru J.P., Caron F., Cattoir V., Chardon H., Courvalin P., Dubreuil L., Jarlier V., Lambert T., Lefort A., Merens A., Nicolas-Chanoine M.H., Plesiat P., Poly M.C., Soussy C.J., Varon E. et Weber P., 2015. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (Recommandation de 2015). The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST, 117.

Microbiol., 35 : 1161-1165.

Jou N.T., Yoshimori R.B., Masong R.J.S. et Liebling M.R., 1997. Single-tube. Nested, reverse transcriptase PCR for detection of viable *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Clin.*

Jouhanneau D. G., 1991. La médecine des plantes aromatiques : Phyto-aromathérapie et huiles essentielles de l'Océan Indien. Ed. Diffusion Océan Indien, 154 p.

K

Kalembe D. et Kunicka A., 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*. 10: 813-829.

Kettoufi I., 2020. Caractérisation phytochimique des feuilles de *Pistacia lentiscus*. Mémoire de Master, OUM EL BOUAGHI. 59p.

Khiari M.b., Kechrid Z., Klibet F., Elfeki A., Shaarani M.d.S. et Krishnaiah D., 2018. Preventive effect of *Pistacia lentiscus* essential oil. *Toxicology reports*, 549, 1-29.

Kıvçak B., Akay S., Demirci B. et Bahser K., 2004. Chemical Composition of Essential Oils from Leaves and Twigs of *Pistacia lentiscus*. *Pistacia lentiscus* var. chia, and *Pistacia terebinthus* from Turkey. *Pharmaceutical Biology* , 42, 360–366.

Koutsoudaki C., Krsek M. et Rodger A., 2005. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the Gum of *Pistacia lentiscus* Var. chia. *Agricultural and food chemistry*, 53, 7681-7685.

Kottakis F., Kouzi K.K., Pendasa S., Kountouras J. et Papadopoulou C.T., 2009. Effects of mastic gum *Pistacia lentiscus* var. Chia on innate cellular immune effectors .European Journal of Gastroenterology & Hepatology , 21 , 143–149.

L

Lahlou M., 2004. Methods to Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential Oils. Phytother. Res. 18, 435–448.

Lagunez Rivera L., 2006. Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat, Université de Toulouse, France, 335p

Lengani A., Lompo L.F., Guissou I.P. et Nikiema J.B., 2010. Médecine Traditionnelle et Maladies des Reins au Burkina Faso, Néphrologie & Thérapeutique, Vol. 6, N°1, pp. 35 – 39.

Leszczynska D., 2007. Management de l'innovation dans l'industrie aromatique: Cas des PME de la région de Grasse. Editions l'Harmattan, Paris, France.

Li L.J. et Wang P.S., 2005. Self-medication with antibiotics : a possible cause of bacterial resistance. Med Hypotheses; 65 : 1000-1.

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

M

Mairif M., 2013. La typologie de la cédraie du Parc National de Théniet El Had, Un outil de description au service des gestionnaires forestiers. Mémoire de Magistère en sciences Forestières, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen (Algérie), 144p.

Mapoli G., 2003, Variations individuelle et saisonnière de la teneur et de la composition des huiles essentielles de *E. citriodora* acclimaté à Pointe-Noire (Congo-Brazzaville). *Mémoire d'études approfondies, Université de Congo*, 58p.

Miguel M.G., 2010. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review, Molecules, Vol. 15, N°12, pp. 9252 - 9287.

Milia E., Usai M., Szotáková B., Elstnerová M., Králová V., D'hallewin G., Spissu Y., Barberis A., Marchetti M., Bortone A., Campanella V., Mastandrea G., Langhansová L. and Eick S., 2020. The Pharmaceutical Ability of *Pistacia lentiscus* L. leaves essential oil against periodontal bacteria and *candida* sp. and its anti-inflammatory Potential. 9, 281; doi: 10.3390/antibiotics9060281. 1-16

- Millet F., 2010.** Les Formes Galéniques et les Huiles Essentielles. *Phytothérapie*, Vol. 8, pp. 33 – 36.
- More D. et White J., 2005.** Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde. 1e édition, Flammarion, 832.
- Moro Buranzo A., 2013.** Grand guide des huiles essentielles santé, beauté, bien-être. HACHETTE Pratique. Edition. 251 p.
- Muyima N.Y.O., Zulu G., Bhengu T. et Popplewell D., 2002.** The Potential Application of Some Novel Essential Oils as Natural Cosmetic Preservatives in an Aqueous Cream Formulation, *Flavour and Fragrance Journal* Vol. 17, N°4, pp. 258 – 266.

N

- Naganuma M., Hirose S., Nakayama Y., Nakajima K. et Someya T., 1985.** A study of the phototoxicity of lemon oil. *Arch. Dermatol. Res*, **278**, 31-36p.
- Namiki M., 1990.** Antioxidants/Antimutagens in Food, *Critical Reviews in Food Science Nutrition*, Vol. 29, N°4, pp. 273 – 300.
- Nauciel C., Vildé J.L., 2005.** Bactériologie médicale : Abrégés. Connaissances et pratique. 2 ème édition, Elsevier Masson, Paris, 257p.
- Nzeyumwami J.K. 2004.** Caractérisation des huiles essentielles de trois plantes aromatiques : *Hyptis Spicigera, Pluchea Ovalis et Laggera Aurita*. Thèse de Doctorat, Université de Lome-Togo, DEA.

O

- Oussou K.R., Kanko C., Guessennd K.N., Yolou S., Koukoua G., Dosso M., N’guessan Y.T., Figueredo G., Chalchat J.-C, 2004 :** Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes de Côte d’Ivoire. *C. R. Chimie*, **7**(10-11), 1087-1086p.
- Oussou K.R., 2009 :** –Etude chimique et activité biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Doctorat de l’Université de Cocody-Abidjan, 241p.

P

- Palevitch D. et Yaniv Z., 2000.** Medicinal plants of the Holy Land. Modan Publishing House, 9-88.
- Pellerin P., 1991.** Supercritical fluid extraction of natural raw materials for the flavour and perfume industry. *Perfum. Flavor*, **16**(4), 37-39p.
- Pereira C.G. et Meireles M.A.A., 2010.** Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: fundamentals, applications and economic perspectives. *Food and Bioprocess Technology*, **3**(3), 340-372.
- Peterson A., Machmudah S., Roy B. C., Goto M., Sasaki M., et Hirose T., 2006.** Extraction of essential oil from geranium (*Pelargonium graveolens*) with supercritical carbon dioxide. *Journal of*

Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology, 81(2), 167- 172.

Piochon M., 2008. Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. *Mémoire. Université du Québec à Chicoutimi. Canada, 200p.*

PNTH, 2006. : Atlas des parcs nationaux algériens. Alger, Algérie, ED-DIWAN, 98 p.

Prichard A.J.N., 2004. The use of essential oils to treat snoring. *Phytotherapy Research* 18, 696-699.

Q

Quezel P. Et Santa S., 1962- 1993. :Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Paris C.N.R.S., 2 volumes. 1170p.

R

Rakotomalala H., 2004. Etude des huiles essentielles de *Cedrelopsis grevei*. Caractérisation-Identification des constituants-Activités biologiques. Thèse de Doctorat : Sciences. La Réunion : Université de la Réunion. 15-16.

Robard I., 2004. Plantes Médicinales d'Outre-Mer et Pharmacopées: Aspects Juridiques, Economiques et Culturels, *Phytothérapie*, Vol. 2, pp. 16 – 21.

Remmal A., Tantaoui-Elaraki A., Bouchikhi T., Rhayour K., Ettayebi M., 1993. Improved method for determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *Journal of Essential Oil Research*, 5(2), 1179-1184.

S

Sallé J.L., 2004. Les huiles essentielles, Synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. *2ème édition, Frison Roche*, 168p.

Scientific Report. Technology Offer-Essential Oils, National Research Development Corporation (NRDC), Sous Presse.

Seigue A., 1985. La Forêt Circumméditerranéenne et ses Problèmes : Techniques agricoles et productions méditerranéennes. Edition Maisonneuve and Larose, 502.

Shahi C., Leitch M. et Laforest S., 2009. Marketing Intelligence System for Small-Scale Essential Oils Industry of North-Western Ontario, IUFRO 3.08 Small Scale Forestry Symposium Proceedings, pp. 227 – 236, Morgantown, West Virginia, June 7-11.

Shan B., Cai Y.Z., Sun M. et Corke H., 2005. Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of their Phenolic Constituents, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Vol. 53, N°20, pp. 7749 – 7759.

Sieradzki K., Roberts R.B., Haber S.W. et Tomasz A., 1999. The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *NEJM*, 340(7), 517-523p.

Sipailiene A., Venskutonis P.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.

Skandamis P.N. et Nychas G.J.E., 2001. Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *Journal of Applied Microbiology*, 91(6), 1011-1022p.

Smith C.K., Moore C.A., Alahi E.N., Smart A.T., Hotchkiss S.A., 2000. Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 168, 189-199p.

T

Tabuti J.R.S., Lye K.A. et Dhillon S.S., 2003. Traditional herbal drugs of Bulamogi Uganda : plants, use and administration, *Journal of Ethnopharmacology*, 88: 19-44.

Teisseire P.J., 1991. Chimie des substances odorantes. Paris : Lavoisier, Technique et Documentation. 480 p.

Tohidpour A., Sattari M., Omidbaigi R., Yadegar A. et Nazemi J., 2010. Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) . *Phytomedicine*. 17, 142-145.

Toure D., 2014. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatique medicinales de côte d'ivoire. Thèse de doctorat. Université de Félix HOUPHOUËT- BOIGNY. 153p.

Toroglu S., 2011. *In-vitro* antimicrobial activity and synergistic/antagonistic effect of interactions between antibiotics and some spice essential oils. *Journal of Environmental Biology*. 32 (1), 23-29.

U

Ünlü M., Daferera D., Dönmez E., Polissiou M., Tepe B. et Sökmen A., 2002. Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of *Achillea setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae). *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 83, pp. 117 - 121.

V

Vagi E, Simandi EB, Suhajda A, Hethelyi E. 2005.: Essential oil composition and antimicrobial activity of *origanum marorana* L. extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. *Food Research International*, 38, 51-57.

Vanden Berghe D.A. et Vlietinck, A.J., 1991. Screening for antibacterial and antiviral agents. In: Hostettmann, K. (Ed.), *Methods in Plant Biochemistry*, Vol. 6, Assays for Bioactivity. London, Academic Press, 47-59.

Veysié A.J., 2019. La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux. 107p.

Viuda-Martos M. ; Ruiz Navajas Y. ; Sánchez Zapata E. ; Fernández-López J. and Pérez-Álvarez J.A., 2009. : ‘*Antioxidant Activity of Essential Oils of Five Spice Plants Widely Used in a Mediterranean Diet*’, *Flavour and Fragrance Journal*, Vol. 25, N°1, pp. 13 – 19.

W

Warnke P.H., Lott A.J.S., Sherry E., Wiltfang J. et Podschun R., 2013. The ongoing battle against multi-resistant strains: In-vitro inhibition of hospital-acquired MRSA, VRE, Pseudomonas, ESBL E.coli and Klebsiella species in the presence of plant-derived antiseptic oils. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery*. 41, 321-326.

Wegener H.C., 2003. Antibiotics in animal feed and their role in resistance development. *Curr Opin Microbiol* ; 6 : 439-45.

Y

Yildirim H., Onay A., Gunduz K., Ercisli S., Karaat E.F., 2019. An improved micropropagation protocol for lentisk (*Pistacia lentiscus*). *Folia Horticulturae* , 31 , 61-69.

Z

Ziti-Freville N., 2019. L’aromathérapie anti-infectieuse est-elle une alternative essentielle à l’officine ? Thèse de doctorat. Université de Lille, France. 187p.

ANNEXES

Annexe n° 01**Milieux de culture****Gélose nutritive (GN) (g/l)**

Peptone.....	10 g
Extrait de viande.....	3 g
Extrait de levure.....	3 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Agar.....	18 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH = 7,3 ± 0,2

Mueller Hinton gélosé (M-H) (g/l)

Extrait de viande.....	3 g
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5 g
Amidon.....	1.5 g
Agar.....	16 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH = 7,3

Annexe n°02

D.M.S.O



3050 Spruce Street
 Saint Louis, Missouri 63103 USA
 Telephone 800-325-5832 • (314) 771-5765
 Fax (314) 286-7828
 email: techserv@sial.com
 sigma-aldrich.com

Product Information

Dimethyl sulfoxide

Product Number D 8418
 Store at Room Temperature

Product Description

Molecular Formula: C₂H₆OS
 Molecular Weight: 78.13
 CAS Number: 67-68-5
 Melting Point: 18.45 °C
 Boiling Point: 189 °C
 Density: 1.1 g/ml
 Dielectric Constant: 45
 Viscosity: 1.1 centipoises (27 °C)
 Synonyms: DMSO, methyl sulfoxide, dimethyl sulphoxide

This product is designated as Molecular Biology grade and is suitable for molecular biology applications. It has been analyzed for the presence of nucleases and proteases.

Dimethyl sulfoxide (DMSO) is a highly polar organic reagent that has exceptional solvent properties for organic and inorganic chemicals. Among its uses in organic synthesis is the oxidation of thiols and disulfides to sulfonic acids.² Other reactions in which DMSO participates include the hydrolysis of epoxides, the thioalkylation of phenols, and the oxidation of primary alcohols, primary halides, and esters of primary alcohols to aldehydes.³

Protocols have been reported for the use of DMSO in column-loading buffers for poly(A)⁺ RNA selection, in buffers for the transformation of competent *E. coli*, in the polymerase chain reaction (PCR), the amplification of cDNA libraries, DNA sequencing, DEAE-dextran mediated transfection of cells, and polybrene-mediated DNA transfection.⁴ A procedure that uses DMSO to recover DNA from membrane filters for subsequent PCR amplification has been described.⁵ A capillary electrophoresis technique for DNA sequencing incorporates 2 M urea with 5% DMSO (v/w), and can be modified to use 100% DMSO as needed.⁶ A study of the contribution of various DMSO concentrations to melting temperatures in oligonucleotides has been published.⁷

DMSO is also widely utilized in the storage of human and animal cell lines and bacteriophage λ as a cryoprotective agent.⁴ A protocol to prepare a DMSO solution for freezing cells is as follows:

- 1) Prepare freezing medium containing culture medium with 10-20% serum and 5-10% DMSO.
- 2) Remove adherent cells with trypsin or other appropriate means. (For optimal results, cells should be in the log phase of growth.)
- 3) Gently pellet the cells by centrifugation (10 minutes at 250 × g, 4 °C) and remove the culture medium.
- 4) Resuspend the cells in the freezing medium at 10⁶ -10⁷ cells/ml.
- 5) Aliquot into freezing vials.
- 6) Freeze cells according to standard freezing protocols. Store at -70 °C or below.

For cell fusion, a 10% DMSO solution in 40-50% polyethylene glycol (PEG) may be prepared.⁴

The use of DMSO in the modification of phosphoserine and phosphothreonine residues in proteins for MS analysis of phosphorylation states has been described.⁸ A study of leuprolide degradation in water and in DMSO has been reported.⁹

The compatibility of DMSO with various materials is listed below:

- Compatible: LDPE, HDPE, polypropylene, PPCO (polypropylene copolymer), polymethylpentene, nylon, teflon FEP
- Moderately compatible: polystyrene, ECTFE/ETFE
- Incompatible: polysulfone, flexible and rigid PVC tubing, polycarbonate

Precautions and Disclaimer

For Laboratory Use Only. Not for drug, household or other uses.