



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Larbi Tébessi -Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Thème :

**L'activité antibactérienne de l'huile de lentisque récoltée de
deux régions de Tébessa**

Présenté par :

MEKAHLIA Imène

MOUCI Rana

MESSAADI Kaouther

Devant le jury :

Mme. DEBABZA M.

MCA Université de Tébessa

Présidente

Mme. AZIZI N.

MAA Université de Tébessa

Rapporteuse

Mme. CHADI H.

MAA Université de Tébessa

Examinatrice

Date de soutenance : 16/06/2019

Note : Mention :



كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES
ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Larbi Tébessi -Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Thème :

**L'activité antibactérienne de l'huile de lentisque récoltée de
deux régions de Tébessa**

Présenté par :

MEKAHLIA Imène

MOUCI Rana

MESSAADI Kaouther

Devant le jury :

Mme. DEBABZA M.

MCA Université de Tébessa

Présidente

Mme. AZIZI N.

MAA Université de Tébessa

Rapporteuse

Mme. CHADI H.

MAA Université de Tébessa

Examinatrice

Date de soutenance : 16/06/2019

Note : Mention :



كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES
ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Résumé

L'objectif de ce travail était d'évaluer *in vitro* l'activité antibactérienne des huiles extraites de *Pistacia lentiscus* récoltée de la région de Boukhadhra à Tébessa.

L'huile est obtenue par hydrodistillation et testée par la méthode de diffusion des disques sur 15 souches à Gram positif et 15 souches à Gram négatif afin d'évaluer son pouvoir antibactérien.

Les souches à Gram positif ont montré une forte résistance aux ATB (OX, TE, CD et FOX) et pour les souches à Gram négatif, ils ont montré une forte résistance aux ATB (CT et PRL).

Tandis que la sensibilité des souches à Gram positif aux huiles essentielles était élevée (86,67%) et de (33,33 %) pour l'huile végétale, et les souches à Gram négatif ont été moins sensibles aux huiles essentielles que celles des Gram positif (80%) avec un effet modéré vis-à-vis de l'huile végétale (26.67%).

Ceci montre que l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* possède un effet antibactérien puissant grâce à ses composés chimiques.

Ces huiles présentent une source de nouvelles molécules à activité antibactérienne économiquement accessibles pour faire face à l'apparition de la résistance des bactéries aux antibiotiques.

Mots clés : *Pistacia lentiscus*, activité antibactérienne, huile essentielle, huile végétale.

Abstract

The objective of this work was to evaluate in vitro the antibacterial activity of oils extracted from *Pistacia lentiscus* collected from the region of Boukhadhra in tebessa.

The oil is obtained by hydrodistillation and tested by the disk diffusion method on 15 Gram positive strain and 15 Gram negative strains in order to evaluate its antibacterial power.

Gram positive strains showed a high resistance to ATB (OX , TE , CD ,FOX) and for the Gram negative strains it showed a high resistance ton ATB (CT , PRL).

While the sensitivity of Gram positive strains to essential oils was high (86,67 %) and (33,33%) for the vegetal oil , and the Gram negative strains were less sensitive to essential oils than Gram positive strains (80%) with a moderate effect on vegetable oil (26.67%).

This shows that the essential oil of *Pistacia lentiscus* has a powerful antibacterial effect thanks to its chemical compounds.

These oils present a source of a new molecule with antibacterial activity economically accessible to cope with the emergence of bacterial resistance to antibiotics.

Keywords: *Pistacia lentiscus*, antibacterial activity, essential oil, vegetal oil.

ملخص

يهدف هذا العمل الى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت المستخرجة من *Pistacia lentiscus* التي تم جمعها من منطقة بوخضرة في تبسة.

يتم الحصول على الزيت بواسطة التقطير المائي ويتم اختباره بطريقة الانتشار في الاقراص على 15 سلالة موجبة الجرام و15 سلالة سالبة الجرام من اجل تقييم قوتها المضادة للبكتيريا.

أظهرت السلالات موجبة الجرام مقاومة عالية للمضادات الحيوية (OX, TE, CD, FOX) و بالنسبة للسلالات سالبة الجرام فقد اظهرت مقاومة عالية للمضادات الحيوية (CT, PRL).

في حين كانت حساسية السلالات موجبة الجرام للزيوت الأساسية عالية (86,67%) و (33,33%) للزيوت النباتية وكانت السلالات سالبة الجرام أقل حساسية للزيوت الأساسية من السلالات موجبة الجرام (80%) مع تأثير معتدل بالنسبة للزيوت النباتية.

وهذا يدل على أن الزيوت الأساسية ل *Pistacia lentiscus* تمتلك تأثيرا قويا مضادا للبكتيريا بفضل مركباتها الكيميائية.

تمثل هذه الزيوت مصدرا لجزيئات جديدة ذات نشاط مضاد للبكتيريا يمكن الوصول إليه إقتصاديا لمواجهة ظهور المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للبكتيريا, الزيت الأساسي, الزيت النباتي, *Pistacia lentiscus*.



Remerciements

Louange et Gloire à Dieu, Le Tout puissant de nous avoir donné la volonté, la santé, le pouvoir pour réaliser ce travail et de nous avoir guidé durant toutes ces années, seigneur, veille toujours diriger nos pas.

Il est difficile d'exprimer, en quelques lignes, nos remerciements aux personnes qui ont contribué d'une façon ou d'une autre à l'aboutissement de ce travail. De près ou de loin.

Nos remerciements vont particulier d'abord à :

Notre encadreur madame **AZIZI Nassima** que nous avons le privilège d'être encadrées et orientées par elle, d'apprécier ses qualités et ses valeurs nous la remercions vivement pour son soutien, ses conseils précieux fructueux son encouragement et ses critiques qui nous ont aidés au sein du laboratoire.

Nous remercions madame **DEBABZA** pour l'honneur qu'elle nous a fait pour assurer la présidence de jury

Nous remercions vivement madame **CHADI** d'avoir bien voulu accepter d'examiner ce travail à travers ses remarques et ses critiques.

On remercie chaleureusement tous nos enseignants du Département, pour leurs soutiens et formation pendant tous ces années

Un très grand merci à tous nos amis et familles pour leurs innombrables sacrifices et tout leur soutien moral

À toutes qui ont contribué à notre réussite

Dédicace

Je remercie avant tous, Dieu le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il m'a donné durant toutes les longues années d'études afin que je puisse arriver là.

Je dédie cet humble travail à :

L'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, **Mon père**
La lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; **Maman** que j'adore.

Je remercie aussi mes frères, ma petite sœur Ratouja pour leur soutien

Mes tantes Zineb et Mayssa

Ma cousine Nassira qui m'a toujours encouragé

Mes chères camarades Neima, Chaima, Mouna, Roumaïssa, Oumaima, Aya,
Najla, Hadjer.

Ma source de joie, ma frangine **Nesrine**

Sans oublié tous les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.

Imène

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre des tableaux	Page
Synthèse bibliographique		
01	Noms vernaculaires de <i>Pistacia lentiscus</i> .	03
02	Classification de <i>Pistacia lentiscus</i> .	03
03	Caractères biochimiques de <i>S. aureus</i> .	14
04	Caractères biochimiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	19
05	Principaux facteurs de virulence de <i>P. aeruginosa</i> .	20
Partie expérimentale		
06	la nature et la répartition des prélèvements des <i>S.aureus</i> .	30
07	la nature et la répartition des prélèvements des BGN.	31
08	Caractéristiques de la zone de prélèvement.	32
09	concentration et diamètres critiques des antibiotiques utilisés pour les entérobactéries.	43
10	Concentration et diamètres critiques des antibiotiques utilisés pour les <i>pseudomonas spp</i> .	43
11	Concentration et diamètres critiques des antibiotiques utilisés pour les <i>staphylococcus aureus</i> .	44
Résultats et discussion		
12	Répartition des <i>S. aureus</i> selon le prélèvement.	46
13	Répartition des BGN selon le prélèvement.	46
14	Les diamètres (mm) obtenus après le test de l'antibiorésistance des <i>S. aureus</i> .	55
15	Le taux (%) de la sensibilité des <i>S. aureus</i> aux antibiotiques et aux huiles.	56
16	Les diamètres (mm) obtenus après le test de l'antibiorésistance des BGN.	61
17	Le taux de la sensibilité des BGN aux antibiotiques et aux huiles.	62

Liste des figures

Figure N°	Titre des figures	Page
Synthèse bibliographique		
01	<i>Pistacia lentiscus</i> .	04
02	les caractères morphologiques de <i>Pistacia lentiscus</i> .	05
03	Répartition géographique du genre <i>Pistacia</i> .	06
04	Distribution des 11 espèces de <i>P. lentiscus</i> .	07
05	Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile.	11
06	Aspect de <i>S. aureus</i> en microscopie.	13
07	Aspect caractéristique en amas de <i>S. aureus</i> électronique (X 20000).	13
08	colonies de <i>S. aureus</i> .	14
09	Facteurs de virulence de <i>S. aureus</i> .	15
10	Action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne.	24
Partie expérimentale		
11	Localisation des sites d'échantillonnage de l'espèce <i>Pistacia lentiscus</i> dans la région de L'Mseid Tébessa.	32
12	Le dispositif d'extraction type Clevenger.	34
13	Schéma d'identification des <i>Staphylococcus aureus</i> .	36
14	La méthode d'ensemencement pour l'isolement des colonies.	37
15	La méthode d'un test catalase sur une lame en verre.	39
16	Test catalase +/-.	40
Résultats et discussion		
17	Répartition des souches par prélèvement.	46
18	L'aspect de l'huile essentielle lors de l'extraction.	47
19	Aspect des colonies de <i>S. aureus</i> sur milieu chapman.	48
20	Aspect des <i>S. aureus</i> sur gélose nutritif.	49
21	Aspect microscopique des <i>Staphylococcus</i> par coloration de Gram.	49
22	La fermentation du mannitol par les <i>Staphylococcus aureus</i> .	50
23	Figure 23 : Résultats du test catalase.	50
24	La coagulation du plasma par <i>S. aureus</i> .	51
25	Résultat d'identification d' <i>E. cloacae</i> .	51
26	Aspect des <i>K. pneumoniae</i> sur mac Conkey.	51
27	Aspect de <i>Y. tuberculosis</i> sur Hektoen.	52
28	Aspect d' <i>E. coli</i> sur Hektoen.	52
29	Aspect des <i>K. pneumoniae</i> sur mac Conkey.	52
30	Aspect d' <i>E. sakazakii</i> sur Hektoen.	52
31	Aspect microscopique des <i>K. pneumoniae</i> après coloration de Gram.	53
32	La conservation des <i>E. coli</i> .	53
33	L'effet des disques d'antibiotiques et des huiles sur la souche 11 de <i>Staphylococcus aureus</i> .	54

33	La sensibilité aux antibiotiques et aux huiles des <i>S. aureus</i> .	55
34	La sensibilité aux antibiotiques et aux huiles des BGN.	55
35	L'effet des disques d'antibiotiques et des huiles sur une souche de <i>K. pneumoniae</i> .	59
36	L'effet des disques des antibiotiques et des huiles sur une souche de Salmonella.	60
37	La sensibilité aux antibiotiques et aux huiles des BGN.	61
38	Comparaison entre l'effet de l'huile essentielle et de l'huile végétale.	64

Liste des Annexes

Annexe 01 : Milieux des cultures.

Annexe 02 : Réactifs et solutions.

Annexe 03 : Matériels utilisés au laboratoire.

Annexe 04 : Appareillage.

Liste des abréviations

- ADH** : Arginine dihydrolase.
- ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- ADP** : Adénosine diphosphate.
- AK** : Amikacine.
- ARN** : Acide ribonucléique.
- ATP** : Adénosine triphosphate.
- BGNnF** : Les bacilles à Gram négatif non fermentant.
- C** : Chloramphénicol.
- CAZ** : Ceftazidime.
- CD** : Clindamycine.
- CIP** : Ciprofloxacine.
- CMH** : Le complexe majeur d'histocompatibilité.
- CT** : Colistine.
- DNase** Désoxyribonucléases.
- EHS** : Établissement hospitalier spécialisé.
- EPH** : Établissement Public Hospitalier.
- EPSP** : Etablissement Public de santé de proximité.
- FOX** : Céfoxitine.
- GEN** : Gentamicine.
- GN** : Gélose nutritive.
- HE** : Huile essentielle.
- HV** : Huile végétale
- K+** : Potassium.
- LDC** : La lysine-décarboxylase.
- M** : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme (g).
- M'** : Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme.
- MH** : Mueller Hinton.
- MSCRAMM** : Microbial Surface component Recognizing Adhesive Matrix Molecule.
- NaCl** Chlorure de sodium.
- ODC** : Ornithine décarboxylase.
- OF** : Ofloxacine.
- ONPG** : Ortho-nitrophényl- β -D-galactopyranoside.
- OX** : Oxacilline.
- PM** : Poids moléculaire.

PRL : Pipéracilline.

PV : Prélèvement vaginal.

RD : Rendement en huile essentielle exprimée en pourcentage.

RP : Pristinamycine.

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

TCR: T-cell receptor.

TDA : Ethylène diamine Tétracétique acide.

TE : Tétracycline.

TIAC : Les toxi-infections alimentaires collectives.

TSST : Toxic shock syndrome toxin.

VA : Vancomycine.

Table des matières

Titre	Page
Introduction	01
Synthèse bibliographique	
Chapitre I : <i>Pistacia lentiscus</i> et les huiles essentielles	
1. <i>Pistacia lentiscus</i>	03
1.1. Définition.	03
1.2. Classification.	03
1.3. Description botanique.	04
1.4. Habitat et répartition géographique.	06
1.5. Aspect pharmacologique et effet thérapeutique.	07
1.6. composition chimique.	08
2. Les huiles essentielles.	09
2.1. Définition.	09
2.2. Localisation des huiles essentielles dans la plante.	09
2.3. Composition chimique.	10
2.4. Activité biologique des huiles essentielles.	10
2.4.1. Activité antioxydante (propriétés antioxydantes).	10
2.4.2. Activité antibactérienne.	10
2.4.3. Activité antifongique.	11
2.5. Méthode d'extraction des huiles essentielles.	11
Chapitre II : Bactéries à Gram positifs et à Gram négatifs	
1. Bactéries à Gram positif : <i>Staphylococcus aureus</i> .	12
1.1. Définition.	12
1.2. Taxonomie.	12
1.3. Habitat.	12
1.4. Caractères d'identification.	13
1.4.1. Morphologie.	13
1.4.2. Caractères cultureux.	13
1.4.3. Caractères biochimiques.	14
1.4.4. Caractères Physiologiques.	14
1.5. facteurs de virulence et physiopathologie.	14
1.5.1. Facteurs intervenant dans l'attachement, l'invasion.	15
1.5.2. La résistance à la phagocytose.	16
1.5.3. substances élaborées par <i>Staphylococcus aureus</i> .	16
2. Bacilles à Gram négatifs non fermentaires : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	17
2.1. Définition.	17
2.2. Taxonomie.	17
2.3. Habitat.	18
2.4. Caractères d'identification.	18
2.4.1. Morphologie.	18
2.4.2. Caractères cultureux.	18
2.4.3. Caractères biochimiques.	19
2.4.4. Caractères physiologiques.	19
2.5. facteurs de virulence et physiopathologie.	19

2.5.1. Substances élaborées par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	20
2.5.2. Autres facteurs de virulence.	20
Chapitre III : Activité antibactérienne	
1. Activité liée à la composition chimique.	21
1.1. l'effet antimicrobien des polyphénols.	21
1.1.1. Flavonoïdes.	21
1.1.2. Les tanins.	22
2. Mécanismes d'action antibactérienne.	22
2.1. Mode d'action.	22
2.1.1. Action sur les membranes cellulaires.	23
2.1.2. Action sur les acides gras membranaires.	23
2.1.3. Action contre l'ATP.	24
2.1.4. Action contre le quorum sensing.	24
3. Facteurs influençant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.	25
3.1. Facteurs influençant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.	25
3.2. Variation de composition des huiles essentielles.	25
3.3. Type des microorganismes.	25
4. Détermination de l'activité antibactérienne.	26
4.1. Effet bactéricide (bactéricide).	26
4.2. Effet bactériostatique (bactériostase).	26
5. Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne.	26
5.1. Méthode de l'aromatogramme.	26
5.2. Méthode de puits ou cylindre.	27
5.3. Méthode de dilution et micro-méthode.	27
5.4. Micro atmosphère (ou méthode en phase vapeur).	27
6. Combinaison des huiles essentielles avec les antibiotiques et lutte contre les SARM.	27
Partie expérimentale	
Chapitre I : Matériel et méthodes	
1. Objectifs.	29
2. Cadre d'étude.	29
3. Nature des Prélèvement et conditions de transport.	29
4. Matériel végétal : Extraction des huiles essentielles.	32
4.1. Description et collecte du matériel végétal.	32
4.2. Préparation du matériel végétal pour l'extraction.	33
4.2.1. Séchage.	33
4.2.2. L'hydrodistillation.	33
4.2.3. Conservation de l'huile essentielle.	36
4.2.4. Détermination du rendement d'extraction.	36
5. Identification de souches testées.	37
5.1. Identification.	37
5.2.1. Examen macroscopique.	37
5.5.2. étude microscopique.	38
5.2.3. Identification biochimique.	38

6. Conservation et purification.	41
7. Antibiogramme	41
7.1. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques.	41
7.2. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle.	45
Chapitre II : Résultats et Discussion.	
1. Répartition des prélèvements.	46
2. L'extraction des huiles essentielles.	47
2.1. Calcul du rendement.	47
3. Identification des souches testées	48
3.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .	48
3.1.1. Aspect macroscopique.	48
3.1.2. L'aspect microscopique.	49
3.1.3. Identification biochimique.	50
3.2. Les bacilles à Gram négatif.	51
3.2.1. Aspect des colonies.	52
3.2.2. La coloration de Gram.	53
4. Conservation et purification.	53
5. L'antibiogramme.	54
5.1. Sensibilité des <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques et aux huiles.	54
5.2. Sensibilité des BGN aux antibiotiques et aux huiles.	58
5.3. Etude coopérative entre l'effet d'huile végétale et celui de l'huile essentielle.	64
5.4. Une étude comparative entre l'effet des huiles essentielles et celui des antibiotiques.	64
Conclusion	66
Références bibliographiques	
Annexes	
Glossaire	

Introduction

Introduction

Depuis leur apparition, les antibiotiques sont restés le moyen privilégié de lutte contre les infections bactériennes. Parmi les nombreux antibiotiques, les bêta-lactamines sont à l'heure actuelle les plus utilisées dans le monde entier et plus particulièrement dans les pays en voie de développement, pour leur large spectre d'action, leur innocuité, leur efficacité et surtout leur faible coût. (**Toty et al., 2013**)

Cependant, du fait d'une utilisation anarchique, inadéquate et abusive des antibiotiques en santé humaine, on assiste aujourd'hui à l'émergence des bactéries multirésistantes. De nombreux cas de multi-résistance ont été rapportés. (**Faure, 2009**)

L'apparition des souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) en 1961 a déclaré l'air des infections nosocomiales causées par les germes multirésistantes aux antibiotiques (**Bernard et al., 2008**). Devant ce problème et l'absence de réelles perspectives de découverte de nouveaux antibiotiques dans les années à venir, nous a conduit à étudier l'efficacité des plantes à vertus thérapeutiques afin d'isoler les principes actifs. Leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés : les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante. (**Lozniewski et al., 2010**)

Depuis quelques années, un intérêt accru est porté sur les huiles essentielles qui sont reconnues par leurs composants naturels, comme les monoterpènes, diterpènes et les hydrocarbures avec des groupes fonctionnels divers. Dans les années 1990, **Muanza et ses collaborateurs** ont recherché des extraits de plantes potentiellement bioactifs contre les bactéries et les moisissures (**Hassania et al., 2012**). D'autres chercheurs ont rapporté aussi l'effet antimicrobien des huiles essentielles dans l'application agroalimentaire, la recherche pharmaceutique et dans d'autres domaines.

Pour les propriétés pharmaceutiques et leurs effets antibactériens, Notre étude a été menée pour :

- ✓ Étudier l'activité antibactérienne des huiles de *Pistacia lentiscus* sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.
- ✓ Déterminer la sensibilité aux antibiotiques de l'ensemble des bactéries pathogènes d'origine hospitalier.
- ✓ Comparer l'effet des huiles essentielles, les huiles végétales et les antibiotiques sur les souches testées.

Ce manuscrit comporte trois parties :

La première partie comprendra une revue bibliographique sur la plante étudiée, sa description, sa répartition géographique, les métabolites secondaires, leur importance dans l'organisme, l'activité antibactérienne des huiles essentielles ainsi que des généralités sur les souches à Gram positif et à Gram négatif testées.

La deuxième partie présentera le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail aussi les résultats obtenus suivis par une discussion.

Enfin, une conclusion et les perspectives qui feront l'objet de la troisième partie.

Synthèse Bibliographique

Chapitre I:

Pistacia lentiscus et les huiles essentielles

1. *Pistacia lentiscus*

1.1. Définition :

Pistachier *lentisque* ou Le lentisque ou arbre à mastic (*Pistacia lentiscus* L) ; en arabe locale « Derou » ou « Tadist » est en général un arbuste de 1 à 8 m d'hauteur (Figure 01) (Lauk et al., 1996). Le nom *Pistacia lentiscus* donné à cette plante lui vient de mot latin " pistakia" constitue une altération du mot "foustak", nom arabe de l'espèce principale, et *Lentiscus*, vient du mot latin "*lentiscus*" nom de l'arbre au mastic. (Garnier et al., 1991)

Tableau 01 : Noms vernaculaires de *Pistacia lentiscus* (Cheraft, 2011)

Langue	Nom
Nom scientifique	<i>Pistacia lentiscus</i>
Berbère	Tidekth, Amadagh
Arabe	Derou, Sareys
Français	Arbre au mastic, Pistachier lentisque, Restringer, Lentisque d'Espagne
Anglais	Mastic ou mastic tree

1.2. Classification :

Le lentisque est un arbrisseau du genre *Pistacia* appartenant à la famille cosmopolite des *Anacardiaceae* qui comprend environ 70 genres et plus de 600 espèces. (Bozorgi et al., 2013)

En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica*. (Ghalem et Benhassaini, 2007)

Tableau 02 : Classification de *Pistacia lentiscus* (Ansari et siddiqui, 2012)

Règne	Plantae
Division	Spermatophytes
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceae
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia lentiscus</i>
Nom binomial	<i>Pistacia lentiscus</i> L.

1.3. Description botanique :

Le *pistachier lentisque* est une espèce de la famille des *Anacardiaceae*, avec plantes mâles et femelles séparées, à feuillage persistant. Sa sève est une résine transparente utilisée pour la composition de vernis, mastics et colles des pansements. (Alloune et al., 2012)



Figure 01 : *Pistacia lentiscus* (Photo prise le 10 / 01 /2019)

Les fleurs du pistachier sont en grappes spiciformes denses, naissant 1 ou 2 à l'aisselle d'une feuille et égalant au plus la longueur d'une foliole. Elles sont unisexuées d'environ 3 mm de large et sont très aromatiques, de couleur rougeâtre (Djerrou, 2011). Le fruit du pistachier est une baie globuleuse de 2 à 3 mm, monosperme ; d'abord rouge, puis noir à la maturité. (Maamari-Habibatni, 2014)

L'huile du fruit de *Pistacia lentiscus* est de couleur verte foncée. Elle n'est entièrement liquide qu'à la température de 32 et 34 °C ; au-dessous elle laisse déposer une matière blanche, susceptible de cristallisation, qui bientôt envahit la totalité de l'huile et la solidifie complètement. (Belfadel, 2009)

Selon **Rameau et al., (2008)**, *Pistacia lentiscus* est un nanophanérophyte, plante à odeur résineuse, forte et désagréable, écorce d'un brun rougeâtre lisse puis écailluse (Figure 02). Le tronc est court (1 à 3 mètres) et dégage une odeur résineuse très prononcée. Il peut cependant atteindre la taille d'un arbre lorsqu'il est dans des sites humides et protégés.



Figure 02 : Les caractères morphologiques de *Pistacia lentiscus* L (Rameau et al., 2008)

1.4. Habitat et répartition géographique :

Le genre *Pistacia* présente une distribution disjointe en Eurasie méditerranéenne et à proximité de l'Afrique du Nord, de l'Est d'Asie, d'Amérique du Nord et d'Amérique centrale. Le Pistachier a été estimé avoir son origine à 37,60 millions d'années (Figure 03). (Xi et al., 2014)

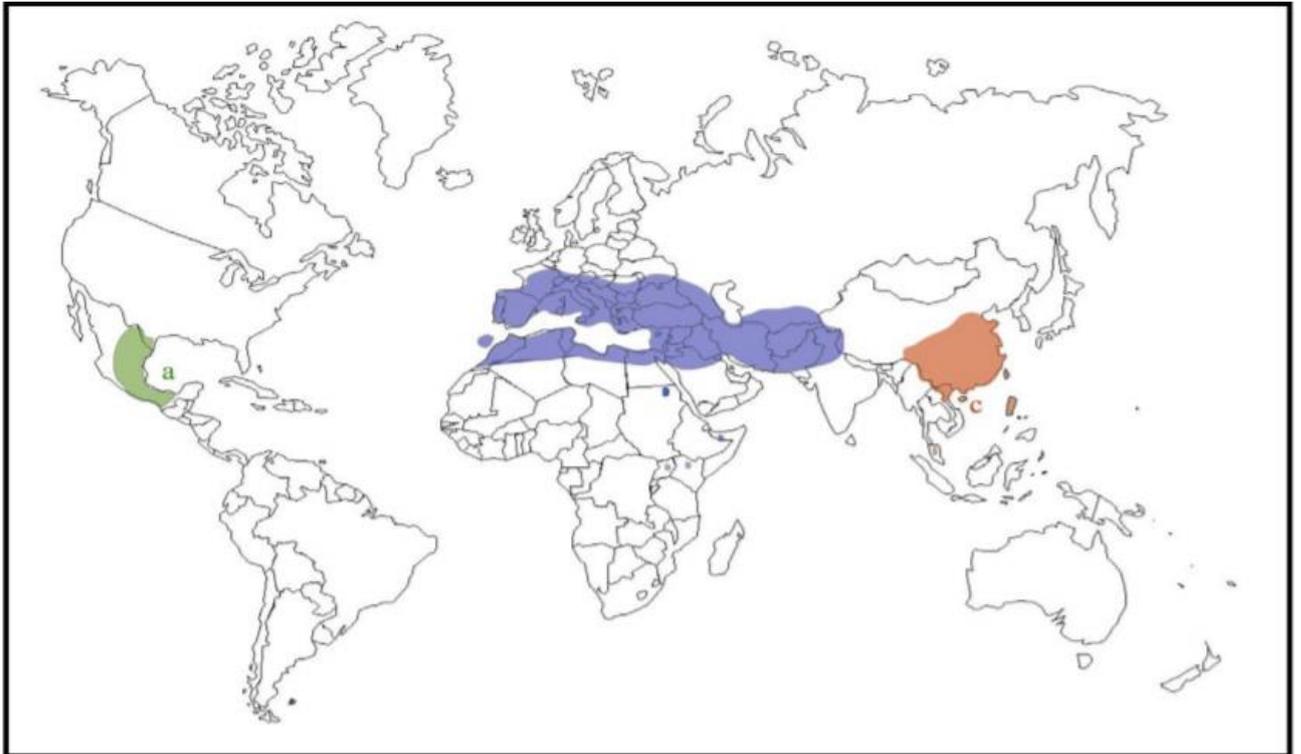


Figure 03 : Répartition géographique du genre *Pistacia* (Xi et al., 2014)

Il est très commun dans le bassin méditerranéen (figure4), il se trouve à l'état sauvage, dans les maquis et les garrigues dans tout type de sols, bien qu'il préfère les terrains siliceux. (Polesse, 2010)

En Algérie, il occupe l'étage thermo-méditerranéen, sa limite méridionale se situe aux environs de Saïda. (Ait said, 2011)

Pistacia lentiscus est un arbrisseau dioïque thermophile qui pousse, à l'état sauvage, dans tout type de sols, subhumide et semi-aride en préférant les terrains siliceux pauvres en potassium et en phosphore. (Djerrou, 2011)

Il est dispersé tout au long du littoral et se développe dans divers habitats le long d'un gradient climatique qui varie suivant le rayonnement solaire, la température et la précipitation. (Maamari-Habibatni, 2014)

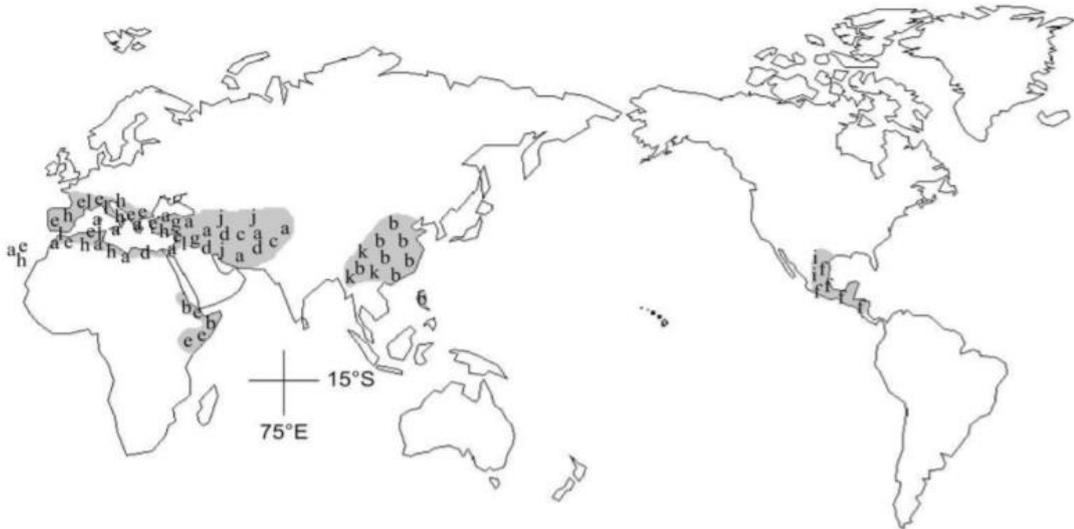


Figure 04 : Distribution des 11 espèces de *P. lentiscus* (Thingshuang et al., (2008)

a = *P. atlantica*, *b* = *P. chinensis*, *c* = *P. integerrima*, *d* = *P. khinjuk*, *e* = *P. lentiscus*, *f* = *P. mexicana*, *g* = *P. palaestina*, *h* = *P. terebinthus*, *i* = *P. texana*, *j* = *P. vera*, *k* = *P. weinmannifolia*, *l* = *P. saportae*.

1.5. Aspects pharmacologiques et effets thérapeutiques :

Pistacia lentiscus est connu pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité. En effet, les médecines traditionnelles pratiquées de part et d'autre des rives de la méditerranée, attribuent au lentisque des vertus dans le traitement des ulcères, de l'hypertension, de la toux, des maux de gorge, de l'eczéma, des calculs rénaux et de la jaunisse. (Djerrou, 2011)

Le mastic de Pistacia a été utilisé par les guérisseurs traditionnels pour le soulagement des douleurs abdominales, des maux d'estomac, de la dyspepsie et de l'ulcère gastroduodéal. Plusieurs études ont également signalé que l'huile essentielle des parties aériennes de *P. lentiscus* possède des propriétés antifongiques et antibactériennes appréciables. Il est souvent utilisé comme un remède d'application externe locale sous forme d'onguent pour soigner les brûlures ou les douleurs dorsales. (Bammou et al., 2015)

En outre, cette huile peut partiellement aider dans la protection contre l'intoxication au mercure comme dans le cas de la phosphatase alcaline, de l'aminotransférase d'aspartate et de l'urée. Elle pourrait être également considérée comme une source alimentaire sûre, en maintenant le taux de LDL-cholestérol dans sa gamme normale. (Trablsi et al., 2012 ; Dhifi et al., 2013)

En Algérie, cette huile est utilisée comme anti-diarrhéique, elle est recommandée pour les diabétiques et dans le cas de la circoncision. L'huile est largement utilisée dans le traitement des troubles respiratoires. (Maameri-Habibatni, 2014)

1.6. Composition chimique :

1.6.1. Fruits :

Les études photochimiques montrent que les fruits de *Pistacia lentiscus* présentent une très forte teneur en anthocyanes, leucoanthocyanes, tannins totaux, tannins galliques, flavonoïdes, glucosides et amidon. Avec une présence modérée des mucilages et une absence totale des saponosides, des sénosides, des quinones libres, des coumarines, des irridoïdes et des alcaloïdes. (Arab et al., 2014)

Selon Trablsi et al. (2012), les fruits de *P. lentiscus* représentent une très forte teneur en acides gras mono- insaturés. Récemment l'étude de Mezni et al. (2018), a révélé la présence de composés phénoliques dans les huiles de fruits comme les acides phénoliques et les flavonols.

1.6.2. Feuilles :

Les analyses révèlent une très forte teneur des feuilles en leucoanthocyanes, en saponosides, en sénosides, en alcaloïdes et en tannins totaux avec une forte teneur en tannins galliques et flavonoïdes et une teneur moyenne en glucosides. (Arab et al., 2014)

1.6.3. Résine :

La résine présente cinq constituants majeurs solubles dans l'éthanol : α -pinène (40%), β -pinène (1,5%), β -myrcène (9%), le limonène (1,0%), et β -caryophyllène (5%). (Koutsoudaki et al., 2005)

2. Les huiles essentielles

2.1. Définition :

L'huile essentielle est un extrait végétal provenant des plantes dites : aromatiques qui contiennent dans leurs feuilles, fruits, graines, écorces, ou racines, un grand nombre de molécules aromatiques, qui constituent le ou les principes essentiels des plantes. Les huiles essentielles sont des substances de consistance huileuse, plus au moins fluides, voire rétinolides très odorantes, volatiles, souvent colorées : du jaune pâle au rouge foncé voir brun, en passant par le vert émeraude ou encore le bleu. Elles sont plus légères que l'eau (densité de l'ordre de : 0,750 à 0,990). **(Bardeau, 2009)**

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)**

Ces essences sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, mais insolubles dans l'eau. **(Bardeau, 2009)**

Ce sont des métabolites secondaires, la plante utilise l'huile pour favoriser la pollinisation, comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques et conservant l'humidité des plantes dans les climats désertiques. **(Mohammedi, 2006)**

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)**

2.2. Localisation de l'H.E. Dans la plante :

Dans certaines plantes, l'essence est produite par des tissus sécréteurs. Dans d'autres, elle se trouve en liaison glycosidique à l'intérieur des tissus et ne se manifeste que lorsqu'on froisse, écrase, sèche ou distille la plante. **(Schauemberg et Paris, 2010)**

Les essences sont sécrétées dans différentes parties variant selon la plante aromatique. Ce peuvent être de minuscules cellule épidermique dans les pétales de la rose ou des poils sécréteurs disposés à la périphérie des calices floraux, des feuilles et des tiges chez les labiées (thyme, sauge) ou de grosses cellules disposées au sein des tissus végétaux : tiges, écorces, racines, feuilles, semences. **(Scimeca et Tétou, 2005)**

2.3. Composition chimique :

Les huiles essentielles sont des substances obtenues à partir de plantes, par entraînement à la vapeur d'eau, par hydro distillation ou par expression.

Une huile essentielle est composée de plusieurs constituants aromatiques plus ou moins volatils qui appartiennent aux différentes classes de la chimie organique : hydrocarbures (composés terpéniques), alcools (géraniol), aldéhydes (citral). (Billerberck et al., 2002)

L'huile essentielle des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* contient β -caryophylline (31,38%), germaerene (12,05%) et γ -cadinène (6,48%). Hydrodistillation d'huile à partir des feuilles a été analysée par GC-MS et contient le α -pinène, le γ -terpène et de terpène-4-ol. (Nahida et al., 2012)

2.4. Activité biologique des H.E :

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, anti-oxydantes, et antiparasitaires.

Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses (Valnet, 2005). L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants.

Sa valeur tient à son « totum » ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires. (Lahlou, 2004)

2.4.1. Activité anti-oxydante (Propriétés anti-oxydantes) :

La reconnaissance des composés phénoliques comme antioxydants naturels est maintenant bien acquise et elle est pour une part à l'origine du regain d'intérêt que l'on porte à ces molécules dans le domaine de la nutrition et de la pharmacologie. (Macheix et al., 2005)

Les composés phénoliques sont impliqués dans cette activité en agissant à différents niveaux des réactions radicalaires par la chélation des métaux, l'effet scavenger, l'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres et l'induction de la synthèse des enzymes antioxydants. (Gramza et Korczak, 2005 ; Siddhuraju, 2006)

2.4.2. Activité antibactérienne :

Les plantes n'ont pas un système immunitaire proprement dit qui peut identifier une infection spécifique, leurs propriétés antimicrobiennes sont généralement efficaces contre une large

gamme de micro-organisme. Ces propriétés sont utiles pour les infections chez les humains. (Caillet et al., 2006)

La recherche des molécules naturelles aux propriétés antimicrobiennes est d'une grande importance aussi bien dans le domaine médical que dans le domaine de l'industrie alimentaire. (Bousbia., 2003 ; Rayour, 2003 ; Bouhdid, 2009)

2.4.3. Activité antifongique :

Le pouvoir antifongique des plantes aromatiques a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre les moisissures allergisantes (Billerbeck et al., 2002 ; Koba et al., 2004 ; Oussou et al., 2004). Et contre les dermatophytes et les champignons pathogènes et opportunistes tels que *Candida albicans*. (Teixeiraduarte, 2005)

2.5. Méthode d'extraction des huiles essentielles :

L'hydrodistillation est la méthode nommée pour l'extraction des huiles essentielles (Lucchesi, 2005). Selon Bruneton (1999), l'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à l'ébullition, les vapeurs hétérogènes condensées sur une surface froide se transforme à l'état liquide, le mélange l'huile- eau se sépare par différence de densité. Cette méthode est généralement utilisée en cas des huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants (Figure 05).

(Haekel et Omar, 1993)

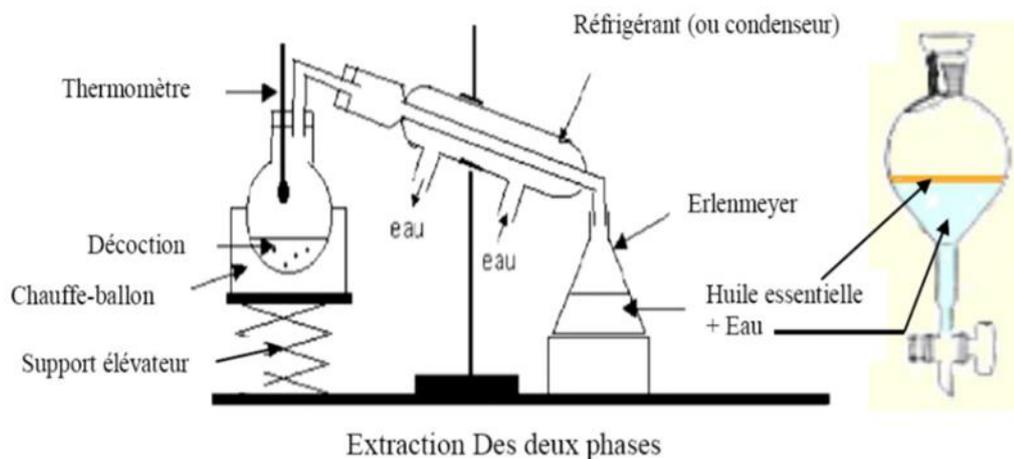


Figure 05 : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile (Lagunez, 2006)

Chapitre II :

*Bactéries à Gram positive et à Gram
négative*

1. Bactéries à Gram + : *Staphylococcus aureus* :

1.1. Définition :

Staphylococcus aureus, un agent pathogène important à la fois dans les milieux sanitaires et communautaires, provoque un large éventail de maladies allant des infections de la peau et des tissus mous à des maladies invasives telles que la pneumonie, la septicémie, l'ostéomyélite et l'endocardite. (Tsung-Hua wu et al., 2018)

1.2. Taxonomie :

Il existe plusieurs types de classification de *S. aureus* dont la plus utilisée est la classification de Bergey's (2009) :

- Domaine : Bacteria ou Eubacteria.
- Phylum : Firmicutes.
- Classe : Bacilli.
- Ordre : Bacillales.
- Familles : Staphylococcaceae.
- Genre : Staphylococcus.
- Espèces : *Staphylococcus aureus*.

1.3. Habitat :

Le *S. aureus* est une bactérie ubiquitaire. Il possède des capacités d'adaptation et de résistance au stress importantes et il est capable de survivre dans un large éventail d'habitats environnementaux. (Robert, 2013)

La présence de *S. aureus* dans l'environnement est essentiellement due à une contamination par l'Homme ou par les animaux. (Angandza, 2012)

La bactérie peut se retrouver dans les aliments comme par exemple, le lait, les produits laitiers ou la viande.

La contamination des aliments peut être due principalement à la matière première qui est contaminée ou d'origine humaine lors de la fabrication et/ou le conditionnement de l'aliment dans l'industrie agro-alimentaire. Ces contaminations sont souvent liées à un défaut d'hygiène du matériel de production ou de l'employé. (Robert, 2013)

1.4. Caractères d'identification :

1.4.1. Morphologie :

Les Staphylocoques apparaissent comme des Cocci à Gram positif de 0,5 à 1µm. On retrouve les Staphylocoques en amas irréguliers de bactéries ou regroupés par deux (diplocoques) ou par quatre (tétraèdres). Ces petits amas forment souvent des grappes de raisin. Ils sont immobiles, non sporulés. La majorité des *S. aureus* sont capsulés mais ils peuvent perdre leur capsule après culture. (Robert, 2013)

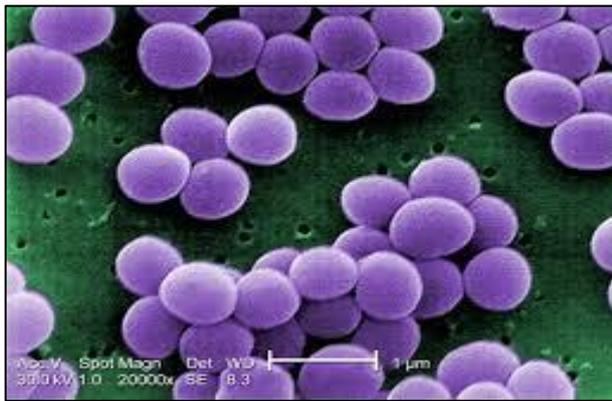


Figure 06 : Aspect de *S. aureus* en microscopie électronique (×2000)

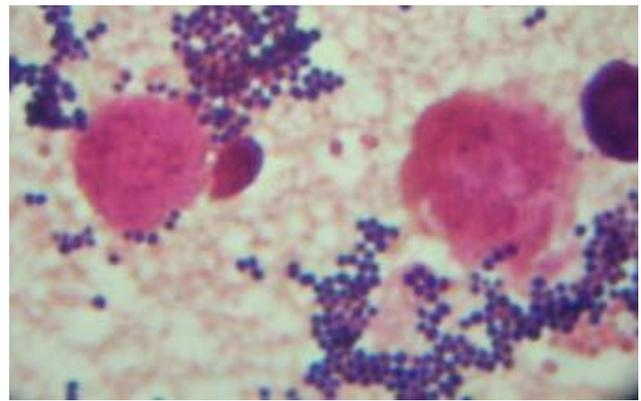


Figure 07 : Aspect de *S. aureus* en amas

1.4.2. Caractères cultureux :

En bouillon ordinaire, la culture est rapide et les staphylocoques se multiplient en quelques heures, formant un trouble homogène ou un dépôt.

Sur gélose nutritive on observe des colonies opaques, régulièrement rondes, lisses, plus ou moins bombées avec un diamètre variant de 1,5 à 2 mm. La plupart des souches produisent alors un pigment doré non diffusable en 24 heures à 37°C.

Sur le milieu Chapman *S. aureus* donne des colonies jaunes dorée avec un virage du milieu vers le jaune orangé, ce qui signifie une fermentation du mannitol par la bactérie, alors que les autres staphylocoques donnent des colonies blanchâtres d'où le nom de staphylocoque blanc.

Sur gélose au sang, on observe fréquemment une zone claire d'hémolyse (beta-hémolyse) autour des colonies. (Touaitia, 2016)



Figure 08 : Colonies de *S. aureus* sur GN

1.4.3. Caractères biochimiques :

Tableau 03 : Caractères biochimiques de *S. aureus*

Caractères biochimiques	Apparition du caractère chez <i>S. aureus</i>
La catalase	+
La coagulase	+
La fermentation du mannitol	+
DNAase	+

1.4.4. Caractères physiologiques :

Le *S. aureus* est une bactérie aéro-anaérobie facultative, mésophile (37 °C de T° optimale), neutrophile (pH 7 optimal) et halophile (fortes concentrations de Na Cl). Elle est aussi relativement résistante aux inhibiteurs bactériens comme le cristal violet et le tellurite de potassium. (Touaitia, 2016)

1.5. Facteurs de virulence et physiopathologie :

S. aureus a une variété de composants structuraux et enzymatiques qui peuvent fonctionner de différentes manières en fonction de l'environnement. La pathogénicité et la virulence des *S. aureus* est associé à la capacité de cet organisme à produire plusieurs facteurs de virulence dont ces facteurs sont généralement divisés en trois catégories principales. (John, 2018)

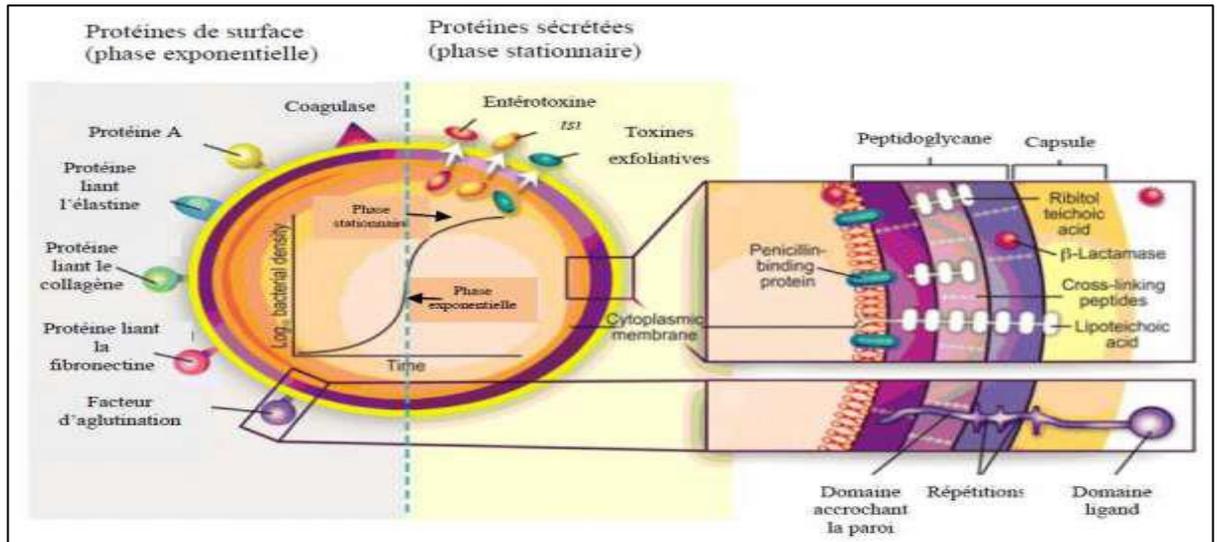


Figure 09 : Facteurs de virulence de *S. aureus* (Gordon, et al., 2008)

1.5.1. Facteurs intervenant dans l'attachement, l'invasion :

✓ L'attachement :

Le premier ordre pour une cellule bactérienne se prépare à infecter un hôte est d'attacher à la surface qu'il souhaite coloniser (Lisa, 2005). Les bactéries produisent des protéines nommés "adhésines", certain nombre de ces adhésines appartiennent à la famille des Microbial Surface component Recognizing Adhesive Matrix Molecule (MSCRAMM) qui reconnaissent les molécules de la matrice extracellulaire. Plus d'une dizaine d'adhésines ont été identifiées, les mieux caractérisées sont :

-La protéine A : elle se lie au facteur de von Willbrand, qui est un peptide présent au niveau de l'endothélium lésé (Baggett et al., 2004). Il s'agit d'une protéine (PM 42 KDa) antigénique. (cardot et al., 2008)

-La protéine de liaison au collagène : L'attachement au collagène est nécessaire et suffisant pour l'adhésion de *S. aureus* au cartilage in vitro. Ce récepteur du collagène pourrait constituer un facteur de virulence important dans les infections osseuses et articulaires à *S. aureus*.

-La protéine de liaison à la fibronectine : Assure l'adhérence de *S. aureus* aux caillots plasmatiques et aux biomatériaux ayant un contact prolongé avec le sang. Ils ont ainsi un rôle important dans l'initialisation des infections sur corps étrangers.

-La protéine de liaison au fibrinogène (clumping factor) : provoque l'agrégation des bactéries en présence de plasma. Elle constitue un facteur de virulence pour les plaies et les infections sur corps étrangers.

-**Les sidérophores** : *S. aureus* s'adapte en sécrétant des sidérophores capables de capter et de transporter le fer dans la bactérie. La quantité produite dépend de l'origine pathologique des souches. (Matthieu, 2009)

✓ **Invasion tissulaire :**

S. aureus produit des protéines qui aident à l'invasion du tissu hôte. Certaines de ces toxines se lient aux membranes des cellules spécifiques. Après la liaison, ils forment à travers les membranes de la cellule hôte pour créer des trous qui permettent le contenu interne des cellules à fuir et finalement les tuer. (Freeman, 2006)

1.5.2 La résistance à la phagocytose :

Il existe deux autres façons dont *S. aureus* peut échapper à la phagocytose. Tout d'abord, ils peuvent sécréter une capsule qui couvre leur paroi cellulaire. Cette capsule empêche les globules blancs phagocytaires à reconnaître la paroi cellulaire et empêche également les anticorps et le complément de se lier à la bactérie.

La Seconde, *S. aureus* peuvent former un biofilm sur des surfaces telles que des cathéters et des articulations artificielles. Le biofilm est essentiellement une couche de boue qui aide à la fois les bactéries adhèrent à la surface et les abris de la réponse immunitaire. Une fois que les bactéries forment un biofilm, les globules blancs ne sont pas en mesure de les englober. (Freeman, 2006)

1.5.3 Substances élaborées par *Staphylococcus aureus* :

- **Les toxines** : *S. aureus* est un colonisateur commun de la peau humaine, mais, une fois surmonter la barrière de la peau, il peut causer une variété d'infections pyogènes et systémiques, les infections aiguës et chroniques et des syndromes transmis par la toxine. (Alexandra, 2018)
- i. **La leucocidine** : La leucocidine est cytotoxine, agissant sur les polynucléaires et les macrophages chez lesquels elle provoque la perte de mobilité, la dégranulation, la destruction nucléaire et la lyse cellulaire
- ii. **La toxine de choc toxique TSST-1** : La toxine du syndrome de choc toxique staphylococcique ou TSST-1 est un super-antigène retrouvé chez plus de 90% des souches responsables de ce syndrome. (Afissa, 2014)

- iii. **Les superantigènes :** Un super antigène est une protéine bactérienne capable d'activer le CMH du macrophage et la chaîne V-béta du récepteur des LT4 (TCR). Le *S. aureus* est capable de produire plus d'une trentaine de super antigènes, comprenant entre autres des entérotoxines. (David, 2010)
- iv. **Les entérotoxines :** Les entérotoxines ont été décrites pour certaines souches de *S. aureus* mais aussi de *Streptococcus pyogenes*. Actuellement une vingtaine d'entérotoxines ont été découvertes. Ce sont de petites protéines impliquées dans les TIAC. (Robert, 2013)
 - **Les enzymes :**
 - i. **Staphylocoagulase :** déclenche la conversion du fibrinogène en fibrine.
 - ii. **Les protéases :** glutamyl, endopeptidase, et staphopain A et B, qui interfèrent avec les facteurs de complément afin d'éviter la destruction des bactéries médiée par le complément.
 - iii. **Les nucléases :** facilite l'évasion des pièges extracellulaires neutrophiles faites par les neutrophiles stimulés pour capter et tuer les micro-organismes. (Alexandra, 2018)

2. Bacilles à Gram- non fermentaires : *Pseudomonas aeruginosa* :

2.1. Définition :

Les bacilles à Gram négatif non fermentant (BGNnF) sont des bactéries ubiquitaires responsables d'infections cliniques. Elles sont pathogènes opportunistes causant divers infections nosocomiales (Berthelot et al., 2005). Le genre *Pseudomonas* est le genre type de la famille Pseudomonadaceae. Dans ce genre, *Pseudomonas aeruginosa* représente 80 % des souches isolées ; Les autres espèces sont isolées à plus faible fréquence. (Flandrois, 1997)

2.2. Taxonomie :

- Règne : Bacteria
- Division : proteobacteria
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre : Pseudomonadales
- Famille : Pseudomonadaceae
- Genre : *Pseudomonas*
- Espèce : *Pseudomonas aeruginosa*. (Brenner, 2005)

2.3. Habitat :

Les bactéries du genre *Pseudomonas* occupent la plupart des environnements naturels. Elles sont isolées de l'eau, du sol, des poussières en suspension dans l'air et des végétaux. Leur capacité à résister à de nombreux antibiotiques et antiseptiques explique leur présence en milieu hospitalier. (Debabza, 2015)

2.4. Caractères d'identifications :

2.4.1. Morphologie

Les souches de cette espèce sont constituées de bacilles de 0,5 à 0,8 µm de diamètre sur 1,5 à 3,0 µm de longueur, se présentant de manière isolée ou groupés par deux ou en courtes chaînes, mobiles grâce à une ciliature monotriche (quelques rares cellules portent cependant plusieurs flagelles polaires). (Euzéby, 2005)

2.4.2. Caractères cultureux :

La culture de *P aeruginosa* sur gélose au sang TSA, est caractérisée par une odeur aromatique et la production de pigments (pyocyanine, pyoverdine). Sur le milieu Kligler-Hajna, on observe le brunissement de la pente et l'aspect métallisé de la culture. (Achmour, 2012)

Les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sont de trois types :

- Les colonies larges sont grandes, rugueuses avec un centre plus bombé (colonies en œufs sur le plat) et un bord irrégulier.
- Les colonies sm (small) sont rondes, petites, convexes et lisses.
- Les colonies muqueuses sont bombées, opaques visqueuses, filantes, ou parfois coulantes. Elles possèdent une pseudo-capsule constituée d'alginate. (Touati ,2016)

2.4.3. Caractères biochimiques :

Tableau04 : Caractères biochimiques de *Pseudomonas aeruginosa* (Liazidi, 2012)

Caractères biochimiques	Apparition du caractère chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Indole	-
Urée	-
TDA	-
H ₂ S	-
Gélatine	+
ONPG	-
Nitrate-réductase	+
LDC	-
ODC	-
ADH	+

2.4.4. Caractères physiologiques :

Sont des bactéries aérobies strictes qui se développent habituellement sur milieu ordinaire et qui sont caractérisées par un mode de production énergétique ne faisant pas intervenir la fermentation, mobile grâce à une ciliature de type polaire monotriche en « vol de moucheron ». (Achmour, 2012)

Se développant entre 4 et 41 °C. Ils ne survivent habituellement que quelques heures dans un environnement sec. En revanche, ils peuvent survivre et se multiplier dans l'environnement hydrique même en l'absence de nutriments, notamment en milieu hospitalier. (Berthelot et al., 2005)

2.5. Facteurs de virulence et physiopathologie :

P. aeruginosa a une variété de composants structuraux et enzymatiques qui peuvent fonctionner de différentes manières en fonction de l'environnement. La pathogénicité et la virulence des *P. aeruginosa* est associée à la capacité de cet organisme à produire plusieurs facteurs de virulence dont ces facteurs sont :

2.5.1. Substances élaborées par *Pseudomonas aeruginosa* :

- **Les pigments** : Comme d'autres *Pseudomonas*, *P. aeruginosa* sécrète un certain nombre de pigments, entre autres la pyocyanine (bleu-vert), la fluorescéine (jaune vert fluorescent) et la pyorubine (brun-rouge). On peut noter également la production d'un voile fragile visqueux et peu épais à la surface des milieux liquides avec une odeur aromatique caractéristique (odeur de seringas). (Liazidi, 2012)
- **Les protéines** : *P. aeruginosa* est capable de produire de nombreuses exoprotéines aux fonctions diverses : l'entérotoxine A, l'exotoxine A, l'exoenzyme S, la phospholipase (enzyme hydrolysant la lécithine), les protéases. (Jean, 2004 ; Liazidi, 2012)

2.5.2. Autres facteurs de virulence :

Tableau 05 : Principaux facteurs de virulence de *P. aeruginosa* (Berthelot et al., 2005)

Facteur	Activité	Cible	Régulation	effet
Exotoxine A	ADP-ribosylation	EF-2	Fer, Quorum sensing	Nécrose tissulaire
Elastase B	Protéolyse	Elastine, Ig	Quorum sensing	Nécrose tissulaire
Phospholipase	Hydrolyse	Surfactant	?	Anti-clairance
Rhamonolipides	Détersion	Surfactant	Quorum sensing	Anti-clairance
Flagelle	Mobilité		Chimiotactisme	Diffusion tissulaire
Exotoxine S	ADP-ribosylation		Contact cellulaire	Antiphagocytose, Invasion tissulaire Inflammation
Exotoxine U	Adenylate cyclase		Contact cellulaire	Antiphagocytose
Pyoverdine	Captage du fer		Fer	Inflammation
Pyochèline				Invasion

Chapitre III :

Activité antibactérienne

1. Activité liée à la composition chimique :

Pour mieux connaître les vertus thérapeutiques d'une plante, il est nécessaire d'analyser la composition chimique de ses principes actifs qui nous permettra de lutter contre les infections produites par les bactéries ou certains autres agents pathogènes (**Boutabia et al., 2016**).

1.1. L'effet antimicrobien des poly phénols :

Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont été focalisées sur l'évaluation des propriétés antibactériennes des poly phénols notamment les flavonoïdes et les tannins qui sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes.

Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésions microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire.

Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP (**El Amri et al., 2014**).

Ils inhibent la synthèse de l'ergostérol, composant indispensable de la membrane bactérienne. En effet, ces huiles essentielles possèdent une forte affinité pour cette protéine membranaire (**Peshkova, 2015**).

1.1.1. Flavonoïdes :

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques, Ils sont doués d'activité antimicrobienne, anticancéreuse, antivirale, anti-leishmaniose et radioprotection. L'activité antimicrobienne des flavonoïdes est due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN. Leur activité est probablement due à leur capacité de se complexer aux protéines extracellulaires et solubles. Mais, les flavonoïdes à caractère lipophile peuvent détruire les membranes microbiennes en augmentant la fluidité des lipides membranaires Ainsi que d'autres flavonoïdes, comme l'apigénine, ont été décrits comme des composés bactéricides et bactériostatiques très efficaces (**Chaouche, 2014**).

1.1.2. Les tanins :

Les tanins ont une action antibactérienne puissante leur permettant d'inhiber la croissance des bactéries ruminales (dont certaines sont sporogènes), ainsi que les bactéries responsables de différentes infections chez l'homme : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Proteus mirabilis* (Chatterjee et al., 2004 ; Leitao ,2005).

L'inhibition bactérienne par les tanins est dépendante de la structure et du degré de polymérisation de ces derniers, mais ceci n'est pas toujours le cas (Sivakumaran 2004).

Les flavonoïdes et les tanins ont reçu plus d'attention dû à leur large spectre et forte activité antimicrobienne par rapport aux autres polyphénols, à leur capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne telles que l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu'à leur capacité d'agir synergiquement avec certains antibiotiques (Daglia, 2011).

2. Mécanismes d'action antibactérienne

Les HEs ont un effet sur la croissance des bactéries. Elles agissent contre les pathogènes résistants aux antibiotiques, tels que les *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM). Cependant, les mécanismes restent moins clairs, et leur complexité vient de la composition chimique des HEs qui présente une diversité de molécules pouvant agir chacune sur une cible différente.

D'un point de vue général, le mécanisme d'action des huiles essentielles est basé sur leur capacité à perturber la paroi et la membrane cytoplasmique de la bactérie en rompant la structure des couches polysaccharides, des acides gras saturés et des phospholipides (Faucon, 2015).

2.1. Mode d'action

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HEs, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. De façon générale, il a été observé une diversité d'action toxique des HEs sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force proton motrice, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules.

Le mode d'action de l'huile essentielle dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne (El amri et al., 2014). Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K⁺).

Certains composés phénoliques des HEs interfèrent avec les protéines de la membrane des microorganismes comme l'enzyme ATP ase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation d'ADP (Hassania, 2012).

Les HEs peuvent inhiber la synthèse d'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides (Zid et Grignon, 1991).

2.1.1. Action sur les membranes cellulaires :

Le caractère lipophile des molécules constituant l'HE le rend capable de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane et de s'accumuler entre les phospholipides entraînant des changements de conformation. Ce qui provoque un manque dans la régulation de la membrane cellulaire (Cox, 2001). Le transport membranaire peut aussi dysréguler via la perturbation du gradient ionique de deux côté de la membrane cytoplasmique (Langeveld, 2013).

2.1.2 Action sur les acides gras membranaires :

Les HEs pourraient affecter la biosynthèse des lipides, y compris les acides gras insaturés, et modifier ainsi la structure de la membrane cellulaire. En effet, la présence des HEs dans la cellule bactérienne même à des concentrations inférieures à la concentration minimale inhibitrice, diminue le taux des acides gras insaturés qui sont généralement responsable de la fluidité membranaire., traduisant ainsi des modifications structurales de la membrane.

L'action des HE n'est pas restreinte aux acides gras eux-mêmes, mais peut également affecter des enzymes responsables de la biosynthèse de ces derniers par exemple, l'inhibition de la synthèse de la désaturase et le cis-trans isomérase enzymes impliquées dans l'anabolisme et la conversion des acides gras (Domadia et al., 2007).

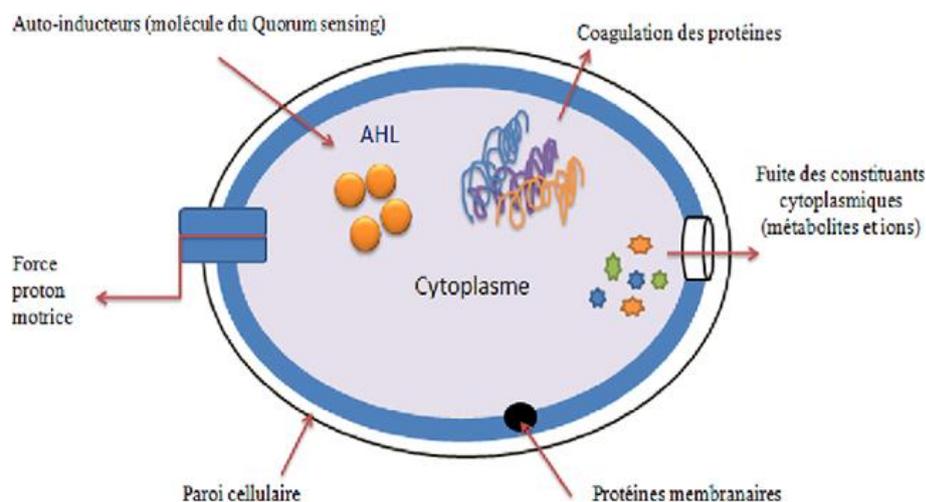


Figure 10 : Action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne.

2.1.3. Action contre l'ATP :

La production d'ATP dans les cellules procaryotes se produit à la fois dans la paroi cellulaire au niveau de la membrane, par la chaîne respiratoire, et dans le cytosol par la glycolyse, la modification dans la membrane cellulaire affecte légèrement le processus du couplage énergétique conduisant à une perturbation entre l'équilibre du pool d'ATP intra et extracellulaire (Turgis et *al.*, 2009).

2.1.4. Action contre le quorum sensing :

Le quorum sensing appelée aussi phéromones bactérienne est l'ensemble des molécules qu'utilisent les bactéries pour coordonner et assurer la communication entre elles. Cette communication assure un certain nombre de fonctions cellulaires telle que l'expression des facteurs de virulence, la bioluminescence, la sporulation, la formation de biofilms, et l'accouplement, l'expression de ces molécules n'aura lieu que lorsqu'une population bactérienne atteint un seuil de densité cellulaire significative, entraînant ainsi l'activation ou la répression des gènes et par conséquent la population bactérienne capable d'exprimer ces auto inducteurs est appelé quorum (Cai, Wang, 2010).

3. Facteurs influençant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles :

L'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles dépend de deux principaux paramètres : l'huile essentielle et sa composition chimique d'une part, et le microorganisme (type, structure...) d'autre part.

3.1. Méthodes d'évaluation des activités antimicrobiennes :

Une des difficultés pour les chercheurs dans ce secteur est l'absence d'une méthode normalisée pour examiner les activités biologiques des huiles essentielles, L'insolubilité des huiles essentielles dans les milieux utilisés en microbiologie, explique la variété des techniques employées.

L'analyse fine des méthodes montre des variations de protocole. En plus de l'insolubilité des huiles essentielles, d'autres facteurs, tels que le volume de L'extrait placé sur le disque, l'emploi ou non de dissolvant, l'utilisation de différents milieux de culture, les durées d'incubations, etc., varient considérablement entre les études (**Arab et al., 2014**).

3.2. Variation de composition des huiles essentielles :

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires et les effets synergiques entre les composants. Ainsi la nature des structures chimiques qui la constituent, Mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant. Les composés chimiques connus pour leur efficacité antimicrobienne et leur large spectre sont les phénols (thymol, carvacrol et eugénol), les alcools, (α -terpineol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes, les cétones et plus rarement les carbures.

Les phénols, dont le thymol et l'eugénol, sont responsables de l'activité bactéricide des huiles essentielles qui en contiennent. Ils produisent des dégâts irréversibles au niveau de la membrane. Les alcools sont généralement plus connus pour leur activité létale que bactériostatique sur les Cellules végétatives, en dénaturant les protéines (**Boutabia et al., 2016**).

3.3. Type des microorganismes :

En général, les différents microorganismes n'ont pas une sensibilité similaire vis-à-vis les huiles essentielles.

Une huile essentielle peut être biocide pour certaines souches et biostatique pour d'autres ou encore n'avoir aucun effet. Ceci peut être lié au type de microorganisme (à Gram positif ou à Gram négatif), à sa forme planctonique ou en biofilm, à son métabolisme et à sa résistance (Bouyahya et al., 2017).

4. Détermination de l'activité antibactérienne :

On distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur les microorganismes :

4.1. Effet bactéricide (bactéricide) : exerçant une activité létale.

4.2. Effet bactériostatique (bactériostase) : entraînant une inhibition de la croissance.

L'activité bactériostatique est souvent plus assimilable aux huiles essentielles que l'activité bactéricide. Cependant il a été démontré que certains constituants chimiques des huiles essentielles ont des propriétés bactéricides. En effet, des dommages au niveau des cellules de différents microorganismes ont été rapportés, illustrés par microscopie électronique. Citons l'effet bactéricide des huiles essentielles riches en monoterpénols et en phénols sur *S.aureus* (Bammou et al., 2015).

5. Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne

5.1. Méthode de l'aromatogramme :

C'est une méthode qui se réalise in vitro, basée sur la technique d'antibiogramme. Cet examen se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques (huile essentiel) préalablement sélectionnées et reconnues.

Actuellement, cette méthode est la plus connue et la plus utilisée, elle consiste en l'ensemencement sur un milieu gélosé (Mueller Hinton) dans une boîte de Pétri, d'une suspension bactérienne. L'huile essentiel est ensuite imprégné sur un disque de cellulose, lui-même déposé sur la boîte de Pétri. Durant l'incubation, la substance est alors censé diffusé dans la gélose ce qui créé un gradient de concentration dépendant de la substance.

On peut exprimer l'activité antimicrobienne en indiquant directement la zone d'inhibition en millimètre. Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand plus la souche est sensible, et plus le diamètre est petit, plus la souche est résistante.

Les disques ont une capacité d'absorption limitée, il est donc important de ne pas dépasser cette capacité afin de connaître le volume exact déposé (couriera, 2017).

5.2. Méthode de puits ou cylindre :

Proposé par Cooper et Woodman en 1946, elle mesure une diffusion radiale de l'HE à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire et facilement mesurable. Elle consiste à découper un tronc circulaire vertical dans la gélose et d'y verser une solution d'HE de concentration connue. L'HE diffusant radialement créant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablement ensemencée avec la suspension bactérienne (**Ferhat, 2004**).

5.3. Méthode de dilution et micro-méthode :

Les HEs à tester peuvent également être directement mélangées en concentration connue au milieu de culture qu'il soit solide ou liquide sans oublier que les techniques de dilutions exigent une dispersion homogène. Le milieu est ensuite inoculé à un taux déterminé de microorganismes et après incubation, on note la présence ou l'absence de culture, la lecture peut être visuelle ou spectrophotométrique car le degré d'inhibition est en rapport avec la turbidité du milieu (**Ferhat, 2004**).

5.4. Micro atmosphère (ou méthode en phase vapeur) :

Cette méthode consiste à déposer un disque de papier wattman stérile au centre du couvercle d'une boîte de pétri, puis chargé de l'huile essentielle, sans que cette dernière entre en contact avec la gélose ensemencé auparavant par la souche test. La boîte est incubée à 37 pendant 6 jours.

Il se produit une évaporation des substances volatiles dans l'enceinte de la boîte et la croissance des cellules bactérienne sensible de l'inoculum est inhibée (**Bendjilali, 1984 ; Mondello et al., 2009**).

6. Combinaison des huiles essentielles avec les antibiotiques et lutte contre le SARM

Les objectifs de l'association d'une huile essentielle à un antibiotique sont l'amélioration de la pénétration de l'antibiotique dans la cellule bactérienne par ailleurs sensible à l'antibiotique ou l'inhibition d'une résistance bactérienne spécifique, à fin améliorer l'efficacité thérapeutique du traitement. Dans la première situation, on pourrait alors imaginer réduire la quantité d'antibiotique à utiliser tout en conservant une efficacité, tandis que dans la seconde situation, il s'agirait de pallier une résistance bactérienne.

La revue de Langeveld nous permet d'identifier trois effets de l'association qui permettraient de servir ce double objectif :

- Effets multi-cibles pour lesquels différents composants visent différentes cibles.
- Effets pharmacocinétiques ou physicochimiques (amélioration de la solubilité ou de la biodisponibilité par exemple).
- Effet sur un mécanisme de résistance bactérienne particulier.

Le synergisme entre les huiles essentielles et les antibiotiques a été rapporté dans plusieurs études. C'est une interaction positive créée quand l'association des deux agents, provoquent un effet inhibiteur supérieur à la somme de leurs effets individuels. En effet les huiles essentielles peuvent sensibiliser le microbe pathogène à un antibiotique précédemment inefficace (**Aiyegoro et Okoh, 2009**).

Il a été démontré que certains composés de plantes peuvent inhiber efficacement les pompes à efflux impliqués dans les mécanismes de résistance aux antibiotiques. Cela pourrait conduire à la restauration de la sensibilité aux antibiotiques et de réduire leurs doses (**Fadli et al., 2012**).

L'association des huiles essentielles aux antibiotiques peut être employée pour augmenter le spectre antimicrobien (**Fadli et al., 2012**), empêcher l'apparition des mutants résistants, réduire au minimum la toxicité et minimiser les effets secondaires de l'antibiotique, ce qui pourrait être une alternative à la monothérapie pour des patients présentant des infections envahissantes difficile à traiter, comme ceux dues aux espèces multi résistantes (**Langeveld et al., 2011**).

L'interaction entre les molécules naturelles des plantes et celles des antibiotiques permet la création de « complexes moléculaires », que les systèmes de résistance des bactéries peinent à reconnaître. Le traitement rend ainsi difficile - voire impossible - le développement d'une résistance bactérienne efficace (**Aiyegoro et Okoh, 2009**).

Partie Experimentale

1. Objectifs :

Notre travail expérimental a été réalisé au laboratoire de Microbiologie de l'université Larbi Tébessi de Tébessa. Cette étude consiste à :

- Tester l'activité antibactérienne de l'huile de lentisque sur Les bactéries à Gram positif *Staphylococcus aureus* et certaines bactéries à Gram négatif.
- Étudier le profil de résistance des *Staphylococcus aureus* et certaines bactéries à Gram négatif vis-à-vis les différentes familles d'antibiotiques.
- Comparer l'effet des antibiotiques à celui des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* sur des souches de *S. aureus* et des BGN.

2. Cadre d'étude :

Ce travail représente une étude prospective, portant sur 15 souches de *S. aureus* et 15 souches de bacilles à Gram négatif issues des prélèvements cliniques responsables des infections communautaires de la ville de Tébessa. Ils ont été recueillis au cours d'une période de trois mois allant de Janvier jusqu'au mois d'Avril.

3. Nature des prélèvements et conditions de transport :

Les prélèvements provenant de divers produits pathologiques (urine, pus, selles et muqueuse vaginale) ont été effectués selon la technique appropriée à chaque prélèvement ; ensuite, les souches ont été isolées et identifiées.

L'ensemble des souches ont été ensemencées dans des tubes de GN inclinés bien fermés et enrobés avec du papier aluminium pour assurer l'obscurité, puis acheminés directement au laboratoire, en prenant tous les précautions pour éviter les risques de contamination et conservés au réfrigérateur entre 3 à 4 °C.

Tableau 06 : La nature et la répartition des prélèvements des *S. aureus*

Echantillon	Prélèvement	L'établissement	Le lieu	La date
01	urine	EHS Khaldi	Tébessa	18/02/2019
02	urine	EHS Khaldi	Tébessa	18/02/2019
03	urine	EHS Khaldi	Tébessa	18/02/2019
04	Pus	EPH Aliah saleh	Tébessa	19/02/2019
05	Pus	EPH Aliah saleh	Tébessa	19/02/2019
06	Spermoculture	laboratoire privé Ziadi	Tébessa	24/02/2019
07	Spermoculture	Laboratoire privé Ziadi	Tébessa	24/02/2019
08	Spermoculture	Laboratoire privé Ziadi	Tébessa	24/02/2019
09	Spermoculture	Laboratoire privé Ziadi	Tébessa	24/02/2019
10	Pus	EPSP Mohammed Chebouki	Cheria	25/02/2019
11	Pus	EPSP Mohammed Chebouki	Cheria	25/02/2019
12	urine	EPSP Mohammed Chebouki	Cheria	25/02/2019
13	PV	EPSP 04Mars	Tébessa	27/02/2019
14	PV	EPSP 04Mars	Tébessa	27/02/2019
15	PV	EPSP 04Mars	Tébessa	27/02/2019

PV : Prélèvement vaginal

Tableau 07 : La nature et la répartition des prélèvements des BGN

Echantillon	La souche	Prélèvement	L'établissement	Le lieu	La date
01	<i>Proteus vulgaris</i>	urine	EPSP 04 mars	Tébessa	26/02/2019
02	<i>Pseudomonas aeruginosa 1</i>	Urine	EPSP Mohammed Chebouki	Cheria	06/03/2019
03	<i>E.coli 1</i>	Urine	EPSP Cheria (Mohammed Chebouki)	Tébessa	06/03/2019
04	<i>E.coli 2</i>	Urine	Laboratoire privé Ziadi	Tébessa	19/03/2019
05	<i>Pseudomonas aeruginosa 2</i>	Urine	Laboratoire privé Ziadi	Tébessa	17/04/2019
06	<i>E.coli 3</i>	PV	EPSP 04 mars	Tébessa	21/03/2019
07	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Urine	EHS Khaldi	Tébessa	09/04/2019
08	Salmonella	Selles	EHS Khaldi	Tébessa	14/04/2019
09	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Urine	EPSP 04 mars	Tébessa	17/04/2019
10	<i>Proteus mirabilis</i>	Urine	Laboratoire privé Ziadi	Tébessa	09/04/2019
11	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Urine	EHS Khaldi	Tébessa	23/03/2019
12	<i>Enterobacter cloacae</i>	Urine	EHS Khaldi	Tébessa	23/03/2019
13	<i>Providencia stuartii</i>	urine	EHS Khaldi	Tébessa	24/03/2019
14	<i>Klebsiella planticola</i>	urine	EHS Khaldi	Tébessa	24/03/2019
15	<i>Enterobacter sakazakii</i>	Surface	EHS Khaldi	Tébessa	29/03/2019

EHS : Établissement hospitalier spécialisé. **EPH** : Établissement Public Hospitalier. **EPSP** : Etablissement Public de santé de proximité.

4. Matériel végétal : Extraction des huiles essentielles :

4.1. Description et collecte du matériel végétal :

Notre étude a été réalisée sur les feuilles et les tiges de *Pistacia lentiscus* appelées localement dharou, que nous avons récolté durant le mois de janvier 2019 au niveau de la région de Boukhadra « Mseid », située à 60 Km de la ville de Tébessa. L'échantillonnage a été réalisé de manière aléatoire à partir de différents arbres et dans un endroit propre.

Tableau 08 : Caractéristiques de la zone de prélèvement

Région	Altitude	Longitude	Latitude	Pluviosité (mm)	Type de climat
Mseid Tébessa	777m	8°05'43.2"E	35°44'53.7"N	443 mm	CSA Climat semi-aride

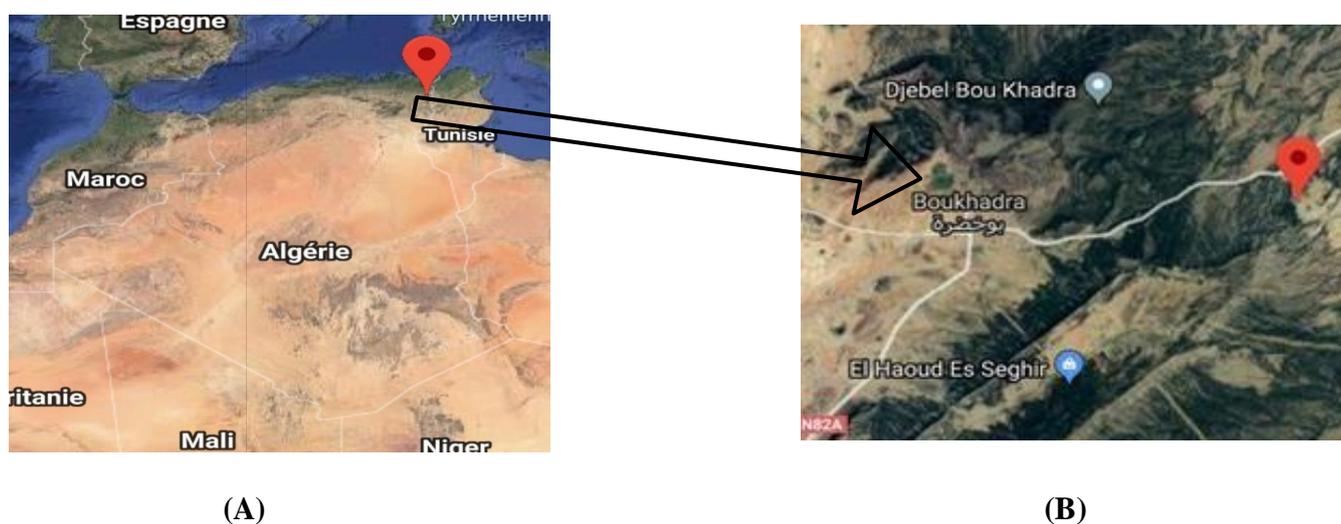


Figure 11 : Localisation des sites d'échantillonnage de l'espèce *Pistacia lentiscus* dans la région de Mseid Tébessa

-Figure(A) : Situation géographique de site d'échantillonnage dans l'Algérie

-Figure(B) : Situation géographique de site d'échantillonnage dans la région de Tébessa

4.2. Préparation du matériel végétal pour l'extraction :

4.2.1. Séchage : Les échantillons de feuilles et de tiges sont prélevés à partir des arbres sains, bien développés et ne présentant aucune lésion. Ces échantillons ont été donc emballés dans des sacs, étiquetés, puis transportés au laboratoire en vue de réaliser l'extraction pour l'évaluation de l'activité antibactérienne.

a-Principe : Dans les cellules végétales, certaines enzymes telles que les polyphénols oxydases, et les glycosidases peuvent provoquer des modifications des composés phénoliques des plantes. Un séchage adéquat du matériel végétal peut remédier à ces pertes, en éliminant ces activités enzymatiques et conserver ainsi l'échantillon. (Owen et Johns, 1999)

b-Technique : Les feuilles et les tiges de *Pistacia lentiscus* sont lavées avec de l'eau de robinet, et débarrassées de la poussière et d'autres particules. Les échantillons sont soumis à un séchage à l'ombre dans un endroit sec et aéré. Une fois séchés, ils sont récupérés dans des sacs en papier. Le séchage complet s'est confirmé par la stabilisation du poids de l'échantillon.

4.2.2. L'hydrodistillation : L'hydrodistillation est la méthode nommée pour l'extraction des huiles essentielles. (Lucchesi, 2005)

L'extraction des huiles essentielles de la plante *Pistacia lentiscus* a été faite par la méthode de l'hydrodistillation classique au niveau du laboratoire de l'Université de Tébéssa. L'hydrodistillation simple consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter, intact ou broyé, dans un alambic rempli d'eau, qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. (Bruneton, 1999)

a-Principe : L'hydrodistillation ou entraînement à la vapeur, est une technique d'extraction dans laquelle le solvant est l'eau. Le principe consiste à porter à ébullition dans un ballon un mélange d'eau et de plante dont on souhaite extraire l'huile essentielle. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont alors entraînées par la vapeur d'eau créée. Elles passent par un réfrigérant à eau où elles sont condensées, puis sont récupérées dans un récipient. (Bruneton, 1999)

b-Technique : L'extraction de l'huile essentielle est effectuée au moyen d'un dispositif d'extraction type Clevenger (Figure 02), L'opération consiste à introduire 100 g de masse végétale séchée et coupée dans un grand ballon de fond rond de 2000 ml, additionnée d'une quantité d'eau distillée correspondant à 2/3 du volume du ballon (850ml), puis chauffée. L'opération d'extraction est réalisée environ trois heures à partir du début d'ébullition. (Bencheikh., 2017)



Figure 12 : Le dispositif d'extraction type Clevenger

L'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par le condensateur. Le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d'huile essentielle mince à la surface. Après repos du liquide, l'huile se sépare de l'eau par différence de densité.

4.2.3. Conservation de l'huile essentielle : La conservation de l'huile essentielle exige certaines précautions indispensables (**Burt, 2004**). C'est pour cela nous avons conservé l'huile essentielle des feuilles et des tiges de *Pistacia lentiscus* à une température voisine de 4°C, dans un flacon en verre stérile fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière jusqu'aux tests d'activités biologiques en utilisant le papier d'aluminium.

4.2.4. Détermination du rendement d'extraction : Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction et la masse de la matière végétale utilisée. (**AFNOR, 1986**)

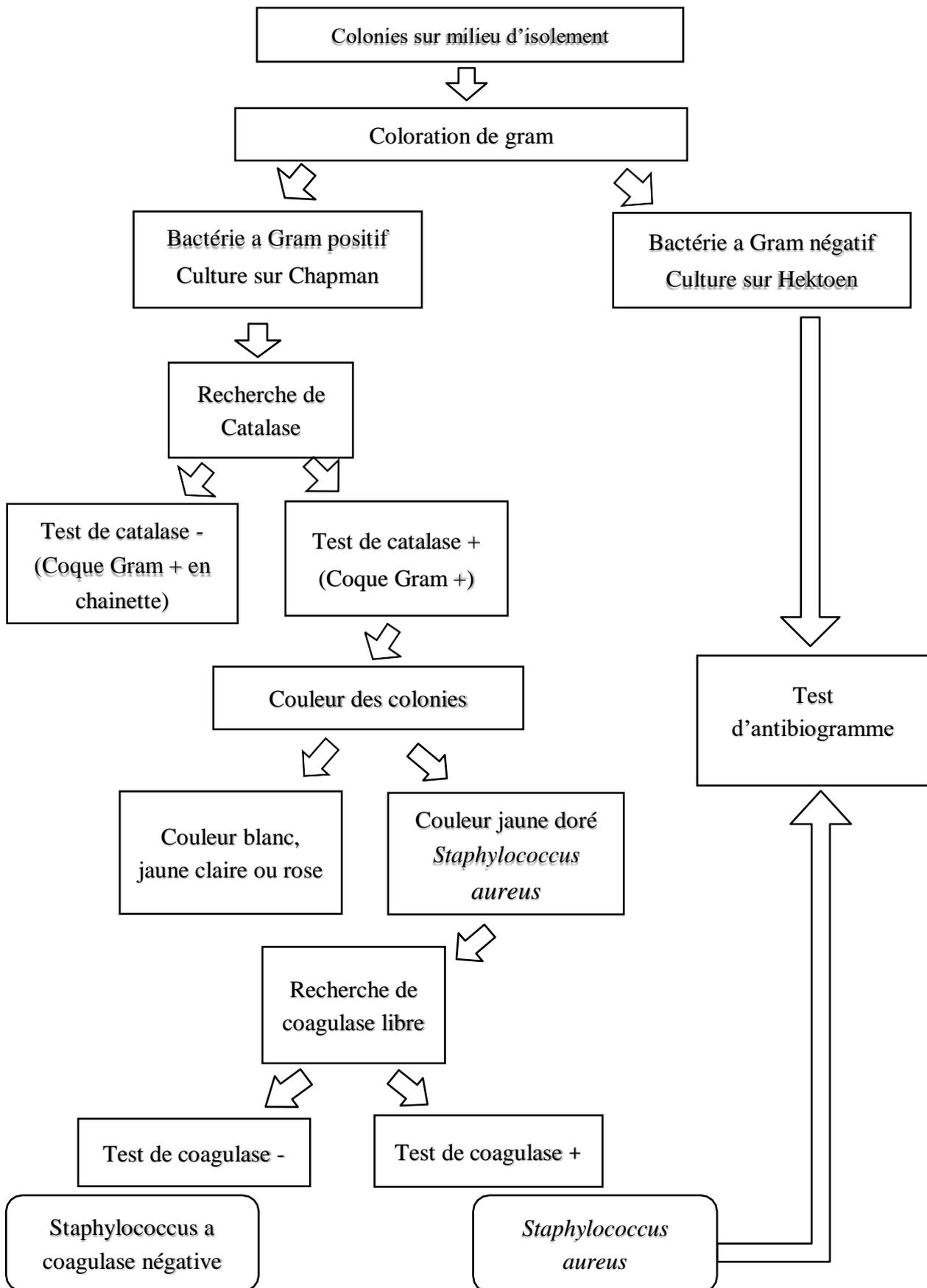


Figure 13 : Schéma d'identification des souches testées.

5. Identification des souches testées :

5.1. Isolement :

L'isolement des souches bactériennes a été réalisé à partir des tubes de GN inclinés. Trois types de milieux ont été utilisés : la gélose Chapman, gélose Hektoen et Mac Conkey et incubés pendant 18 à 24 h à 37°C (Touaitia, 2016). L'ensemencement sur gélose a été fait comme suit :

- La première partie de la boîte a étéensemencée à l'aide de l'extrémité cotonnée de l'écouvillon imbibé dans le bouillon nutritif, en frottant à la surface de la gélose.
- La deuxième partie a étéensemencée par l'anse de platine ou une pipette Pasteur, à partir du premier ensemencement, en faisant des stries éloignées pour obtenir des colonies bien isolées.
- Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures jusqu'à l'apparition des colonies. (Debabza, 2015)

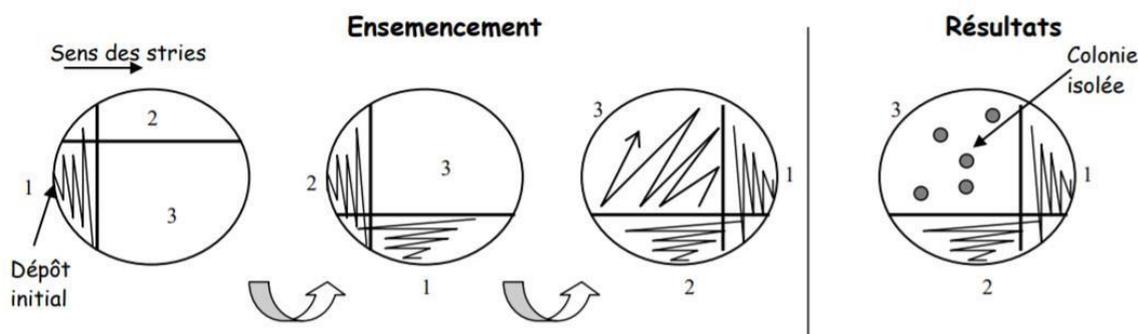


Figure 14 : La méthode d'ensemencement pour l'isolement des colonies

5.2. Identification : Avant toute utilisation d'une souche, une vérification de sa pureté est indispensable. Après trois repiquages successifs sur les milieux gélose nutritive et Chapman, l'identification des souches est vérifiée en réalisant les tests suivants :

Notons que la revivification des souches s'effectue sur le bouillon nutritif pendant 24h pour l'obtention d'une culture jeune avant chaque test.

5.2.1. Examen macroscopique : Consiste à étudier la forme, l'aspect, le contour, la surface et la couleur des colonies sur les milieux gélose nutritive et Chapman.

NB : On peut utiliser la loupe binoculaire pour bien visualiser la forme et l'aspect des colonies.

5.2.2. Étude microscopique : L'étude microscopique des souches isolées est réalisée après une coloration de Gram, afin de déterminer leur morphologie et leur type de Gram.

a-Principe : La coloration de Gram est la coloration de base la plus utilisée en bactériologie, qui permet de différencier les bactéries d'après leur forme et leur affinité pour les colorants. Le processus permet de séparer la plupart des bactéries en 2 groupes par rapport à la proportion de peptidoglycanes contenue dans la membrane :

- Les bactéries à Gram positif qui sont riches en peptidoglycanes et pauvres en lipides.
- Les bactéries à Gram négatif qui sont pauvres en peptidoglycanes et plus riches en lipides.

(Camille D, 2007)

b-Technique On réalise un frottis sur une lame de microscope en étalant une ou deux colonies en couche mince. On dépose ensuite ce prélèvement au milieu de la lame en faisant des rotations jusqu'à séchage. On procède à la fixation du frottis en passant directement 3 fois la lame dans la flamme du bec Bunsen.

La lame est prolongée pendant 1 minute dans du cristal violet (coloration basique), ensuite, on étale le lugol (solution iodo-ioduré) et on laisse agir 1 minute. On procède à une décoloration à l'alcool en versant goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée obliquement jusqu'à décoloration (5 à 10 secondes). Enfin, la contre coloration s'effectue avec de la fuchsine pendant 1 minute. Observer au microscope à l'objet ($\times 100$) à immersion.

c- lecture : les bactéries «Gram-positif » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram-négatif» sont colorées en rose. (Camille D, 2007)

5.2.3. Identification biochimique :

Suite aux études macroscopiques et microscopiques, toutes les souches ont été identifiées grâce aux tests biochimiques (production de catalase, et de coagulase confirmées par le test d'agglutination et la fermentation mannitol.

- **Fermentation mannitol :**

a- Principe : La sélectivité de ce milieu est basée sur la présence de chlorure de sodium qui inhibe la plupart des bactéries à Gram (+) et à Gram (-). La différenciation des Staphylocoques est basée sur leur capacité à fermenter ou non le mannitol. S'il y a fermentation, cela induit une acidification qui entraîne une coloration jaune du milieu en présence de rouge de phénol (indicateur de pH).

b- Technique : Ensemencer directement en stries à partir de l'échantillon à étudier. Pour la conservation des échantillons biologiques, se référer aux recommandations en vigueur. Incuber pendant 24 à 48 heures à 37°C.

c- Lecture :

- Mannitol (+) : coloration jaune du milieu.
- Mannitol (-) : absence de coloration.

- **Test catalase :**

a- Principe : Cette enzyme est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire qui peuvent détruire les peroxydes H₂O₂ dont l'accumulation a un effet létal pour les bactéries. (Touaitia, 2016). La catalase a la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ avec dégagement d'O₂) sous forme gazeuse selon la réaction suivante :



b- Technique : A partir d'un milieu solide et aérobie, prélever une quantité suffisante de culture et la mettre en suspension dans une goutte d'eau oxygénée déposée sur une lame.

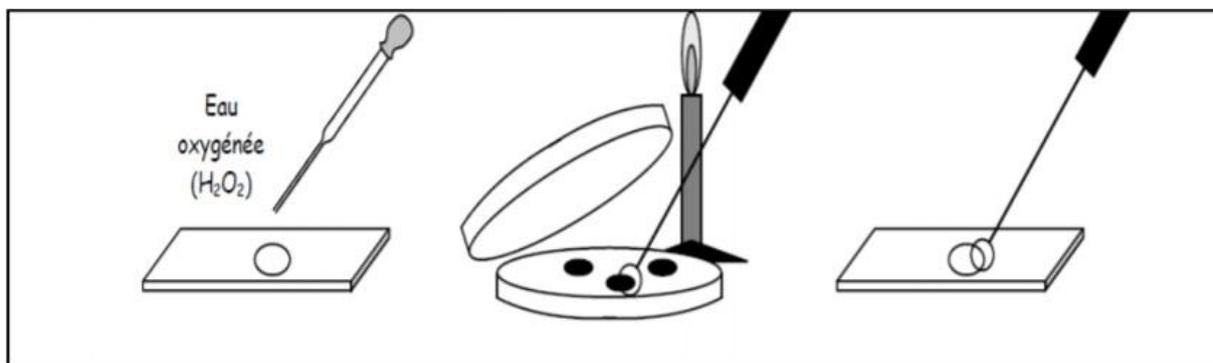


Figure 15 : La méthode d'un test catalase sur une lame en verre. (Paul & al., 2008)

- c- **Lecture** : La présence de catalase est marquée par la formation immédiate des bulles d'O₂.

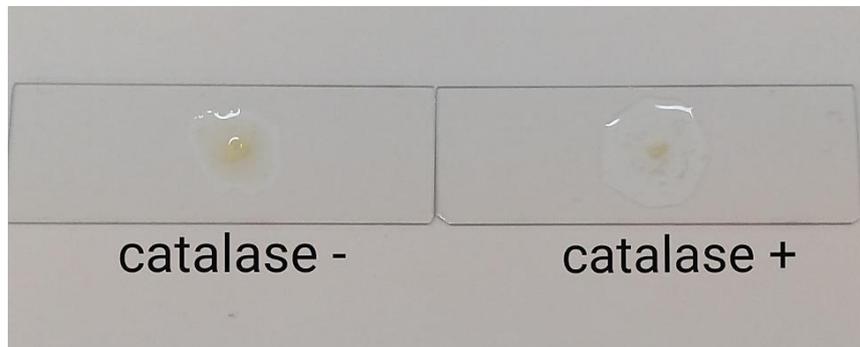


Figure 16 : Test catalase +/-

• **Test coagulase :**

- a- **Principe** : Ce test consiste à mettre en évidence la coagulase libérée dans le milieu extérieur.

- b- **Technique** : La détection de cette coagulase s'effectue en ajoutant dans un tube à hémolyse 0.5 ml de plasma humain et 0.5 ml d'une culture de staphylocoques de 24 h en bouillon. Le mélange est placé à l'étuve à 37°C et est incubé pendant 24 heures.

- c- **Lecture** : Un test positif se traduit par la formation d'un coagulum. (Garnier et Denis ,2007)

NB : Des lectures doivent être effectuées tous les quarts d'heures au moins pendant les cinq premières heures en cas de coagulase réversible.

6. Conservation et purification :

La purification se fait en poursuivant le repiquage sur le même type de milieu jusqu'à l'obtention d'un isolat pure présentant les mêmes caractéristiques que celui obtenu en premier isolement. La dernière culture pure doit être faite sur gélose nutritive pour faire l'objet d'autres tests (tests préliminaires, identification biochimique, antibiogramme.....etc).

La conservation de courte durée des isolats purifiés a été réalisée par ensemencement sur gélose nutritive inclinée par l'anse de platine. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, les tubes ont été conservés au réfrigérateur à 4°C. **(Debabza, 2015)**

7. L'antibiogramme :

7.1. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques :

a-technique : Selon la standardisation de l'antibiogramme : à partir d'une culture visible d'un prélèvement, on réalise une suspension bactérienne en solution salée pour atteindre une turbidité. On peut l'observer à l'œil nu la turbidité de la suspension bactérienne, prélever plusieurs colonies de même morphologie (si possible) afin d'éviter de sélectionner un variant atypique. Mettre ces colonies en suspension en milieu salé ou l'eau physiologique avec un écouvillon en coton. **(CA-SFM 2019)**

La gélose de MH, coulé en boîtes de pétrie ou L'épaisseur de la gélose doit être de 4 mm ± 0,5 mm. La surface de la gélose doit être séchée avant emploi. L'inoculum bactérien doit être employé dans les 15 min. qui suivent sa préparation. Son emploi doit être fait au plus tard dans les 60 min. qui suivent sa préparation.

Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube. Il est important de rejeter l'excès de liquide pour éviter une sur-inoculation des boîtes, en particulier pour les bactéries à Gram négatif. Écouvillonner sur la totalité de la surface de la gélose dans trois directions. **(CA-SFM 2019)**

Application des disques d'antibiotiques : Déposer les disques fermement sur la surface de la gélose inoculée et séchée à l'aide d'une pince stérile. Le contact avec la surface doit être étroit. Il est important que les diamètres des zones d'inhibition soient mesurables. Le nombre maximum de disques est fonction de la bactérie et des antibiotiques car certains entraînent pour des souches sensibles, des zones très larges. Un maximum de six disques convient pour les boîtes de 90 mm de diamètre Ils sont espacés de 24 mm, centre à centre (Chaala, 2013). Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide.

b- Lecture : Incuber les boîtes à $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ en aérobiose 16 à 24 h. (Pour les Entérobactéries et les Staphylococcus). Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition au millimètre le plus proche avec une règle. Les résultats sont comparés aux valeurs critiques figurant dans le tableau de lecture, puis la bactérie est classée dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistante. (CA-SFM 2019)

c- Les disques d'antibiogramme testés : Afin de réaliser l'antibiogramme une liste d'antibiotiques a été testée sur les souches isolées.

Tableau 09 : Concentrations et diamètres critiques des antibiotiques utilisés pour les entérobactéries (CA-SFM, 2018)

Famille	Antibiotiques Testés	Sigle	Charge du disque (μg)	Diamètre critique (mm)	
				S \geq	R <
Pénicillines	Pipéracilline	PRL	30	20	17
Aminosides	Gentamicine	GEN	10	17	14
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	CIP	5	26	24
Aminosides	Amikacine	AK	30	16	13
Céphalosporines	Ceftazidime	CAZ	10	22	19
Autres antibiotiques:	Chloramphénicol	C	30	17	17
	Colistine	CT	50	15	15

Tableau 10 : Concentrations et diamètres critiques des antibiotiques utilisés pour les *Pseudomonas spp* (CA-SFM, 2018)

Famille	Antibiotiques Testés	Sigle	Charge du Disque (μg)	Diamètre critique (mm)	
				S \geq	R <
Pénicillines	Pipéracilline	PRL	30	18	18
Aminosides	Gentamicine	GEN	10	15	15
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	CIP	05	26	26
Aminosides	Amikacine	AK	30	18	15
Céphalosporines	Ceftazidime	CAZ	10	16	6
Autres antibiotiques	Chloramphénicol	C	30	17	17
	Colistine	CT	50	15	15

Tableau 11 : Concentrations et diamètres critiques des antibiotiques utilisés pour les
Staphylococcus aureus (CA-SFM, 2018)

Famille	Antibiotiques Testés	Sigle	Charge du disque (µg)	Diamètres critiques	
				S ≥	R <
Pénicillines	Oxacilline	OX	5	20	20
Aminosides	Amikacine	AK	30	15	13
Tétracyclines	Tétracycline	TE	30	22	19
Macrolides	Pristinamycine	RP	15	22	19
	Clindamycine	CD	2	22	19
Glycopeptides	Vancomycine	VA	30	17	-
Céphalosporines	Céfoxitine	FOX	30	22	22
Fluoroquinolones	Ofloxacine	OF	5	20	20
Autres antibiotiques	Chloramphénicol	C	30	18	18
	Triméthoprimesulfaméthoxazole	SXT	1,25-23,75	17	14

7.2. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle :

L'activité antibactérienne de l'huile de *Pistacia lentiscus*, est recherchée vis-à-vis 30 souches. 15 souches à Gram positif et 15 à Gram négatif.

- a- **Aromatogramme :** C'est une méthode de mesure in vitro du pouvoir antibactérien des huiles essentielles. L'activité antibactérienne de l'huile étudiée a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose (méthode des disques) (**Hammer et al., 1999**)
- b- **Technique :** Un inoculum de chaque souche-test a été préparé à partir d'une culture pure : Une quantité suffisante des souches bactériennes pures ont été récupérées à l'aide d'un écouvillon, avec de l'eau physiologique stérile (9% de NaCl). La suspension bactérienne a été homogénéisée par une faible agitation manuelle, Cet inoculum ne doit pas être utilisé au-delà de 15 minutes. Il sert à ensemercer par écouvillonnage des géloses de Mueller Hinton (MH) coulées dans des boites de Pétri sur une épaisseur d'environ de 4 mm.
- c- **Préparation des disques :** Habituellement, les disques des antibiotiques sont présentés sous forme des disques de 6 mm de diamètre. Donc, les disques de l'huile présenter ces mêmes conditions. On coupe le papier Wattman en disques de 4 mm. On stérilise les disques par autoclavage pendant 20 min à 120 °C dans une boite de pétri en verre contenant 10 ml d'eau distillée.

Les disques blancs du papier Wattman de 4 mm de diamètre ont été imprégnés de l'huile essentielle dans une boite de pétri stérile près du bec. Puis, sont déposés à l'aide d'une pince stérile sur la gélose MH, préalablement ensemençé, sur lesquelles ont été séchés. Pour déterminer l'activité antimicrobienne de l'huile.

Résultats et discussion

1. Répartition des souches selon la nature des prélèvements :

Sur une période de 3 mois ; on a isolé 15 souches de *staphylococcus aureus* et 15 souches des bacilles à Gram négatif (préalablement identifiées) de différents prélèvements cliniques, dont on a 13 échantillons des entérobactéries (86,67%) et 2 échantillons de *Pseudomonas aeruginosa* (13,33%).

Tableau 12 : Répartition des *S. aureus* selon le prélèvement

Le prélèvement	urine	Pus	spermoculture	PV	Total
Nb d'échantillons	4	4	4	3	15
Le taux du <i>S. aureus</i>	26,66%	26,66%	26,66%	20%	100%

Tableau 13 : Répartition des BGN selon le prélèvement

Le prélèvement	urine	PV	Surface	selles	Total
Nb d'échantillons	12	1	1	1	15
Le taux de G.N.	80%	6,66%	6,66%	6,66%	100%

Les 30 souches ont été isolées de différents prélèvements comme suit :

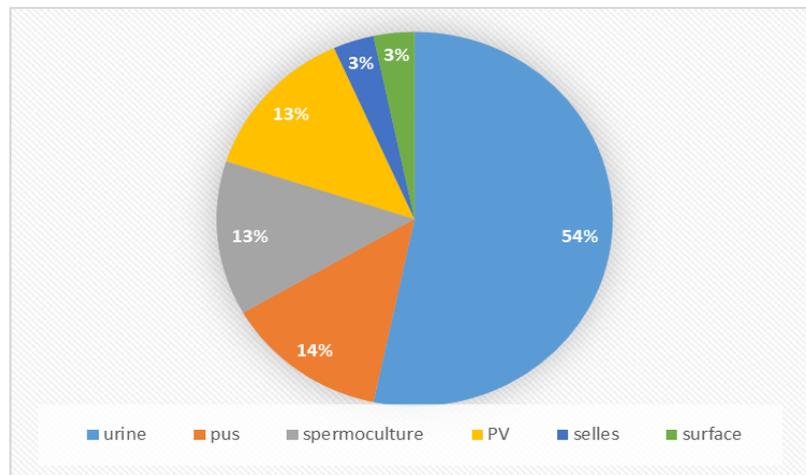


Figure 17 : Répartition des souches par prélèvement

Les urines sont les prélèvements les plus touchés par nos souches, avec un taux élevé de 54% ce qui est due à la fréquence élevée des infections urinaires dans la Wilaya de Tébessa. Ces infections sont causées par des souches uropathogènes. Pour les prélèvements de pus, on note un taux de 14%, dont l'apparition majeur des souches sont des *S. aureus* qui représente le germe responsable de la majorité des infections cutanées.

Par contre les selles sont les prélèvements les moins fréquents avec un pourcentage de 3%, ce qui résulte de la rareté des échantillons des selles destinées à la coproculture dans les laboratoires ou on a récolté nos souches.

2. L'extraction des huiles essentielles :

L'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* est extraite par le procédé d'hydrodistillation a une densité plus faible que celle de l'eau et même que celle de l'huile végétale. Elle a une couleur transparente et une forte odeur piquante.

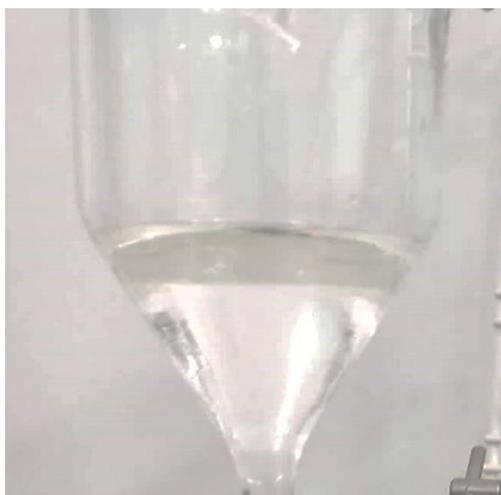


Figure 18 : L'aspect de l'huile essentielle lors de l'extraction

2.1 Calcul du rendement :

Le rendement (R) est exprimé en pourcentage (%) et il est calculé par la formule suivante :

$$R = Ph / Pp \times 100$$

Ph : poids de l'huile essentielle en g

Pp : poids de la plante en g

$$R = 3,39/1600 = 0,002 \times 100$$

$$R = 0,2 \%$$

La teneur en huile essentielle obtenue à partir des feuilles est de l'ordre de 0.2% pour la région de Boukhadra « Mseid », située à 60 Km de la ville de Tébessa. L'étage bioclimatique de cette station est caractérisé par un climat semi-aride, alors que leur altitude est de 777m. Cette quantité est faible par rapport à celle décrite dans la littérature. (**Bonsignore et al. 1998, Magiatis et al. 1999, Delazar et al. 2004**)

Les raisons pour cette variabilité peuvent être expliquées par les différences des conditions environnementaux (climat et situation géographique), la période de la récolte et la technique de distillation (Lahlou, 2004). Il est aussi à noter que la production des huiles essentielles et aromatiques à partir de la plante résulte d'une série de régulations physiologique, biochimique, métabolique et génétique. (Costa et al., 2003)

Pour l'huile végétal a une densité plus faible que celle de l'eau et moins faible que celle de l'huile essentielle, elle a une couleur jaune verdâtre et une odeur caractéristique de la plante.

3. Identification des souches testées :

3.1. *Staphylococcus aureus*

3.1.1 Aspect macroscopique :

- **Sur milieu Chapman :**

Après ensemencement sur milieu Chapman, les colonies de *Staphylococcus aureus* sont apparues après 24h d'incubation à 37°C. Les colonies observées sont jaune doré, arrondies, lisse, d'un diamètre de 1 à 2 mm, avec un virage du milieu du rouge au jaune. Les colonies présentant cet aspect ont été repiquées et purifiées.

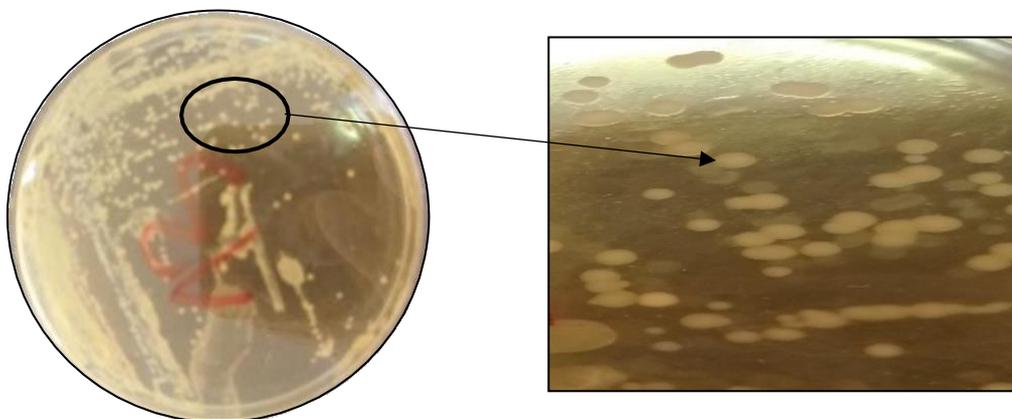


Figure 19 : Aspect des colonies de *S. aureus* sur milieu Chapman

- **Sur gélose nutritif :**

On obtient des colonies régulièrement rondes, bombées, luisantes, opaques, à contours nets, avec un diamètre variant de 1,5 à 2 mm, pigmentées en ocre-jaune après 24 à 36 heures.



Figure 20 : Aspect des *S. aureus* sur gélose nutritif

3.1.2 L'aspect microscopique :

- **La coloration de Gram** : *Staphylococcus aureus* est sous forme de coques, isolés ou groupés en diplocoques, en courtes chaînettes ou en amas positivement colorés au Gram ayant un mode de regroupement dit « grappe de raisin ».

Ce résultat microscopique confirme l'aspect caractéristique de différents isolats de *Staphylococcus* et confirme même la pureté des souches.

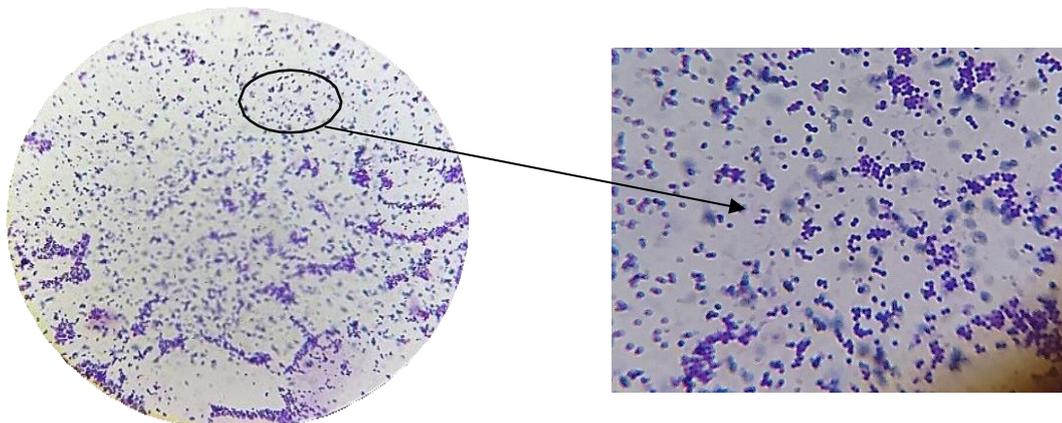


Figure 21 : Aspect microscopique des *Staphylococcus* par coloration de Gram

3.1.3 Identification biochimique :

• Fermentation du mannitol :

On détecte la fermentation du mannitol par un changement de couleur du milieu Chapman qui vire de la couleur rouge au jaune.

Toutes nos souches fermentent le mannitol à 100%.



Figure 22 : La fermentation du mannitol par les *staphylococcus aureus*

• Test catalase :

Sur une lame un résultat positif se traduit par le dégagement immédiat des bulles gazeuses par les *Staphylococcus*. Tous les 15 échantillons testés sont à catalase + (100%).



Figure 23 : Résultats du test catalase

• Test coagulase :

Après une incubation de 2h à 24h à 37°C, la formation d'un coagulum exprime la présence d'une coagulase.

Les résultats obtenus pour les 15 échantillons testés sont les suivants :

- 13 souches à coagulase + (86,67%).
- 02 souches à coagulase – (13,33%).

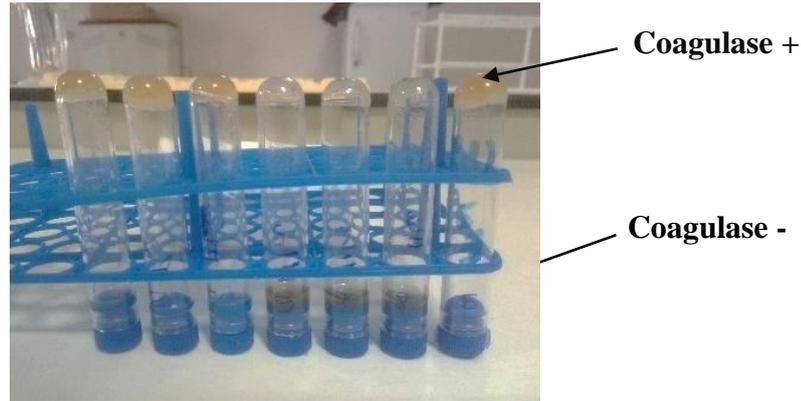


Figure 24 : La coagulation du plasma par *S. aureus*

Selon David, 2010 divers enzymes peuvent être mis en évidence chez *S. aureus* tel que la catalase présente chez tous les *Micrococaceae*. Mais la présence d'une coagulase identifie on pratique courante l'espèce *S. aureus*, donc nos résultats corroborent à ceux obtenus dans les tests d'identifications biochimiques de *S. aureus*.

Pour les deux souches *S. aureus* à coagulase négative, ceci s'explique par l'inactivation de l'enzyme par les différentes manipulations au laboratoires, l'exemple de repiquage successif ou bien la période de persistance de la souche dans le milieu hospitalier influence le caractère de coagulation lors d'une mutation. (Couture, 1990)

3.2 Les bacilles à Gram négatif :

Les souches à Gram négatif sont préalablement identifiées d'après L'EHS khaldi Abdelaziz, l'EPSP 4 Mars par l'API 20 et la galerie classique.



Figure 25 : Résultat d'identification d'*E. cloacae*



Figure 26 : Résultat d'identification de *k. planticola*

3.2.1 Aspect des colonies :

Sur les milieux Hektoen et Mac Conkey l'aspect macroscopique caractéristique de la famille des Enterobacteriaceae et Pseudomonadaceae est le suivant :

- Sur milieu Hektoen on a des souches qui fermentent l'un ou les trois sucres présents dans le milieu (lactose, saccharose, salicine) formant des colonies de couleur "saumon" comme *E. coli* et *Y. pseudotuberculosis*.



Figure 27 : Aspect de *Y. tuberculosi* sur Hektoen



Figure 28 : Aspect d'*E. coli* sur Hektoen

- Des autres donnent des colonies vertes (*Providencia stuartii* et *Enterobacter sakazakii*).
- Les Klebsiella forment des colonies souvent très muqueuses, larges et luisantes.
- Les Proteus ont tendance à envahir la gélose et à y former un tapis uniforme.
- Les entérobactéries présentent des colonies brillantes, opaques, souvent d'aspect assez gras.
- *Pseudomonas aeruginosa* présentent des colonies larges de 2 à 3 mm de diamètre à bord irrégulier avec une partie centrale bombée, elle dégage une odeur nauséabonde.

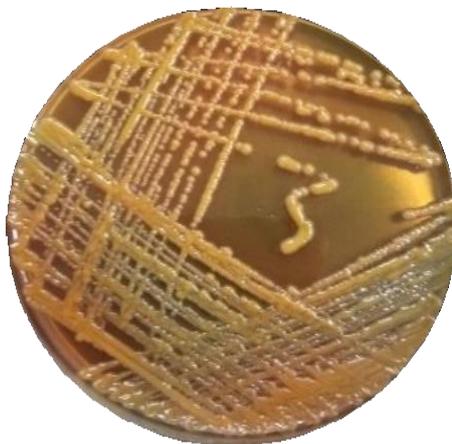


Figure 29 : Aspect des *K. pneumoniae* sur mac Conkey



Figure 30 : Aspect d'*E. sakazakii* sur Hektoen

3.2.2. La coloration de Gram :

L'examen microscopique après coloration de Gram, nous a permis d'observer différents aspects de bacilles comme *klebsiella*, *Salmonella*, *Enterobacter* et *Pseudomonas* et des coccobacilles comme *E. coli* colorés en rose (Gram négatif).

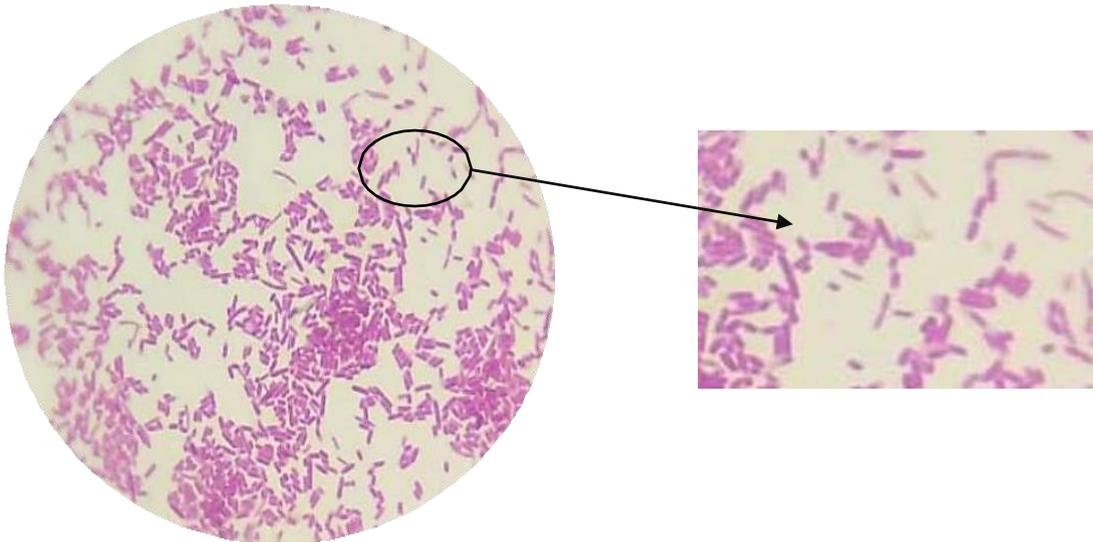


Figure 31 : Aspect microscopique des *k. pneumoniae* après coloration de Gram

4. Conservation et purification :

Après le repiquage des boîtes mères des souches de *S. aureus* et des BGN par la méthode des 4 quadrants, on obtient des colonies bien isolées.

La conservation des souches préalablement purifiées dans des tubes qui contiennent de la gélose nutritive inclinée donne des colonies lisses et bombées tout au long de la surface inclinée.

Les souches *S. aureus* produisant en général un pigment jaune et les souches des entérobactéries donnent des colonies blanchâtres.



Figure 32 : La conservation des *E. coli*

5. L'antibiogramme :

Différents mécanismes de résistance sont apparus, conduisant parfois à des impasses thérapeutiques. C'est pour ça on a fait une étude comparative entre l'effet des antibiotiques et celui de l'huile végétale et de l'huile essentielle.

5.1 Sensibilité des *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques et aux huiles

Les résultats du test de sensibilité des *Staphylococcus aureus* aux 10 antibiotiques et aux 2 huiles sont résumés dans les tableaux 14,15 et présentés dans les figures 33 et 34.

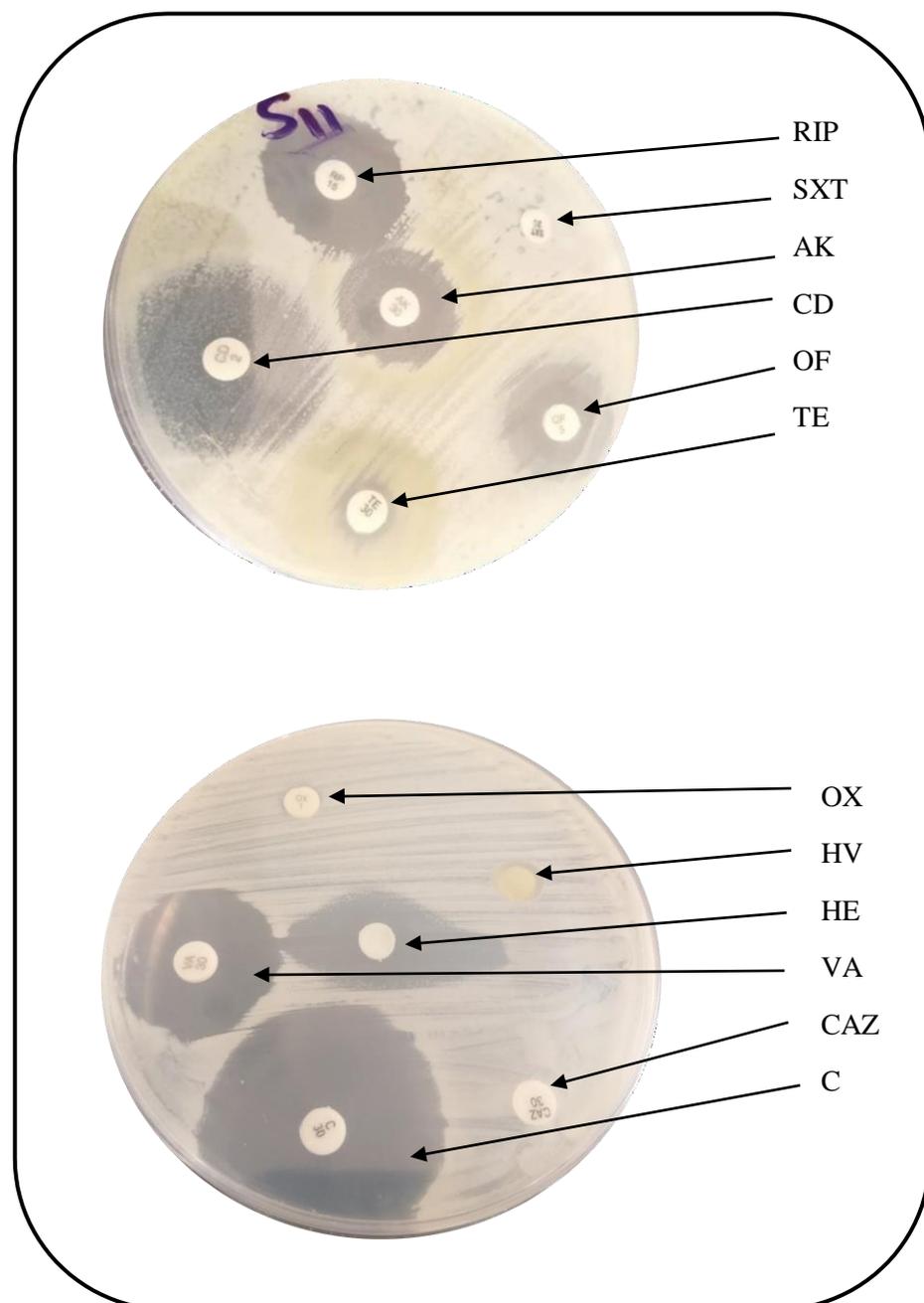


Figure 33 : L'effet des disques d'antibiotiques et des huiles sur la souche 11 de *Staphylococcus aureus*

Tableau 14 : Les diamètres (mm) obtenus après le test de l'antibiorésistance des *S. aureus*

N°	TE	CD	RP	SXT	OF	AK	OX	VA	C	FOX	HV	HE
01	00	00	00	20	15	12	10	20	24	18	00	10
02	16	15	00	00	20	18	12	18	25	24	00	12
03	14	18	22	16	23	25	00	20	32	00	08	09
04	18	25	28	29	27	30	17	18	28	19	00	12
05	24	00	25	30	16	14	12	18	27	11	09	11
06	08	22	25	28	30	14	00	17	35	00	00	09
07	08	16	22	00	23	20	10	20	36	14	08	12
08	12	31	27	24	28	24	13	27	34	00	06	10
09	14	26	29	00	24	14	08	30	42	12	05	14
10	12	00	20	25	10	08	12	30	40	07	00	12
11	06	25	22	00	20	20	00	24	34	00	00	17
12	10	27	25	23	30	22	16	32	54	16	08	20
13	18	00	00	28	15	22	15	28	34	20	07	14
14	18	00	00	00	18	15	00	12	07	12	00	00
15	17	00	07	27	27	19	00	07	26	00	00	00

Pour les huiles on considère les diamètres comme suit :

- 00mm : souche résistante
- 01- 06 mm : intermédiaire
- > 6 mm : souche sensible

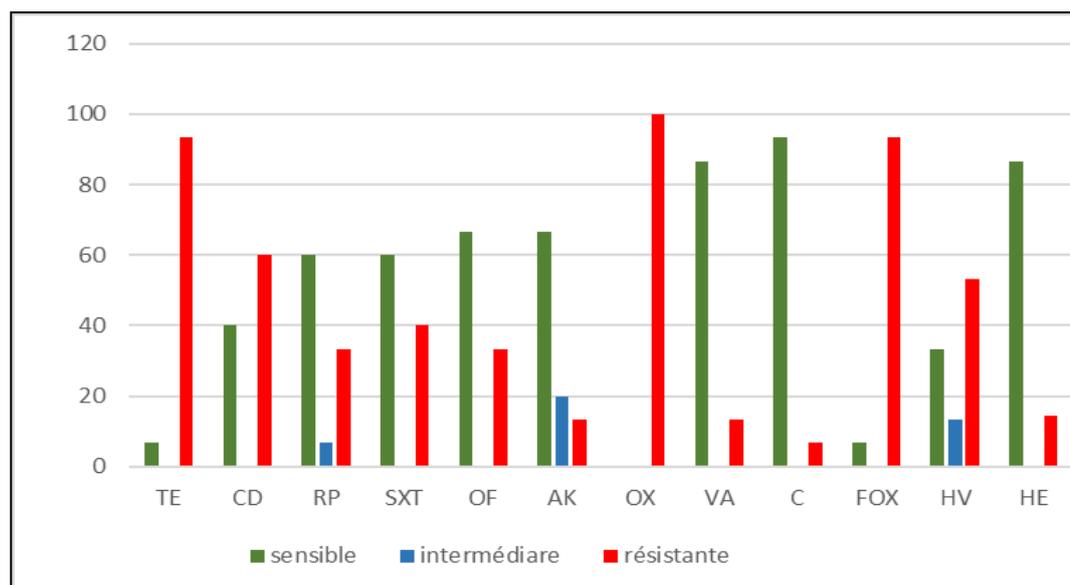


Figure 34 : La sensibilité aux antibiotiques et aux huiles des *S. aureus*

Tableau 15 : Le taux (%) de la sensibilité des *S. aureus* aux antibiotiques et aux huiles

Antibiotiques/huiles testés	sensible		Intermédiaire		Résistante	
	N	%	N	%	N	%
Tétracycline (TE)	1	6,67	0	0,00	14	93,33
Clindamycine (CD)	6	40,00	0	0,00	9	60,00
Pristinamycine (RP)	9	60,00	1	6,67	5	33,33
Triméthoprim sulfaméthoxazole (SXT)	9	60,00	0	0,00	6	40,00
Ofloxacin (OF)	10	66,67	0	0,00	5	33,33
Amikacine (AK)	10	66,67	3	20,00	2	13,33
Oxacilline (OX)	0	0,00	0	0,00	15	100,00
Vancomycine (VA)	13	86,67	0	0,00	2	13,33
Chloramphénicol (C)	14	93,33	0	0,00	1	6,67
Cefoxitine (FOX)	1	6,67	0	0,00	14	93,33
l'huile végétale	5	33,33	2	13,33	8	53,33
l'huile essentielle	13	86,67	0	0,00	2	13,33

Au vu des résultats obtenus, nous avons constaté que toutes les 15 souches de *S. aureus* ont montré une résistance à l'oxacilline, donc le taux des SARM isolées dans notre étude est de 100% ; cette prévalence est statistiquement élevée à celle de 44,6% obtenue à Annaba par (Touaitia, 2016), et éloignée à celle de 5,9% obtenue à Paris par. (P. Bernard *et al.*, 2007)

Ce taux important est dû à l'utilisation anarchique et inappropriée de ces molécules dans notre pays qui deviennent inactives contre la plupart des infections à *S. aureus*.

D'après J. Raymond ; M. Bergeret, 2007 Le gène *mecA*, conférant la résistance à la méthicilline, code pour une protéine de liaison à la pénicilline (PLP) appelée PLP2a. Cette PLP2a est une enzyme, impliquée dans la synthèse du peptidoglycane qui présente une affinité diminuée aux β -lactamines. La PLP2a et la PLP 2 native travaillent en synergie pour permettre la synthèse de la paroi en dépit de la présence de β -lactamines conférant ainsi une résistance croisée aux pénicillines, céphalosporines et carbapénèmes.

Nos souches ont montré aussi un taux de résistance élevé vis-à-vis la tétracycline et la Cefoxitine avec un pourcentage idem de 93,33%, ces résultats corroborent avec ceux trouvés par (**Touaitia, 2016**) de 75% et confrontent avec ceux de 44,33% rapportés au Liban par (**Hamze et al., 2006**). Donc l'effet des tétracyclines et des céfoxitines est quasi-nul sur ces souches comme antibiothérapie.

Selon (**Robert, 2013**) il existe deux types de résistance aux tétracyclines. La première est liée à un plasmide (pT181), elle entraîne un efflux actif des tétracyclines grâce à des protéines Tet situées dans la membrane interne. La seconde résistance entraîne une protection des sites actifs du ribosome par d'autres protéines Tet. La protéine Tet(K) est une des protéines qui entraîne l'expulsion des tétracyclines et les protéines Tet(O) ou Tet(M) vont elles, protéger les sites actifs ribosomiaux.

Les *S. aureus* présentent une résistance moyenne vis-à-vis la clindamycine, la pristinamycine, l'ofloxacine et à la Triméthoprime sulfaméthoxazole avec un pourcentage de 33,33% à 60%, ce qui corroborent avec les résultats obtenus à Mali par (**Maiga, 2009**) qui varient de 26% à 66% et confrontent avec les résultats de (**Touaitia, 2006**) qui varient de 5% à 68,8% de la valeur minime.

Nos souches ont montré une sensibilité élevée au chloramphénicol, vancomycine et à l'Amikacine, avec un pourcentage de 93,33%, 86,67% et 66,67 % respectivement. Ces résultats sont comparables avec ceux rapportés par (**Ramdani-Bouguessa et al., 2006**) qui varient entre 93% et 97,7%.

Les résultats de sensibilité des *S. aureus* vis-à-vis les huiles sont comme suit :
Elles ont montré un taux de résistance de 53,33% pour les huiles végétales et un taux de sensibilité de 86,67% pour les huiles essentielles.

On a basé notre étude sur l'activité antibactérienne des huiles c'est pour cette raison nous avons opté la méthode des disques sur gélose, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition de la croissance des *S. aureus* qui ont montré une moyenne de diamètre d'inhibition de $3,4 \pm 3,73$ mm pour l'huile végétale ce qui confronte totalement avec les résultats de $12,5 \pm 3,53$ mm obtenus à Constantine par **(Bensaci et Hadj Mokhnachi, 2015)** et même à ceux de l'extrait de Tizi-Ouzou rapportés par **(Messaoudi et Kessbia, 2017)** qui donnent une moyenne de diamètre de 20 ± 0 mm.

Cette différence est fort probable due à la situation géographique (l'altitude par exemple) et aux conditions climatiques. Ce qui est confirmé par certaines études ; l'altitude est un facteur modifiant la phytochimie des végétaux. **(Tkachev et al., 2006 ; Ibanez et Usubillaga, 2006 ; Haider et al., 2009)**

Nos souches ont montré aussi une moyenne de diamètre d'inhibition de $10,8 \pm 5,10$ mm pour l'huile essentielle ce qui est en d'accord avec ce qui a été obtenu par **(Bammou et al., 2015)** de 10mm et aussi avec celle de **(Debbabi et al., (2017)** qui ont trouvés 10.7 mm.

En revanche ces résultats confrontent avec ceux de **(Tahiri, 2008)** qui a trouvé un diamètre d'inhibition de 35mm.

5.2 Sensibilité des BGN aux antibiotiques et aux huiles :

Les résultats du test de sensibilité des bacilles à Gram négatif aux 07 antibiotiques et aux 02 huiles sont résumés dans les tableaux 16,17 et présentés dans les figures 35, 36 et 37.

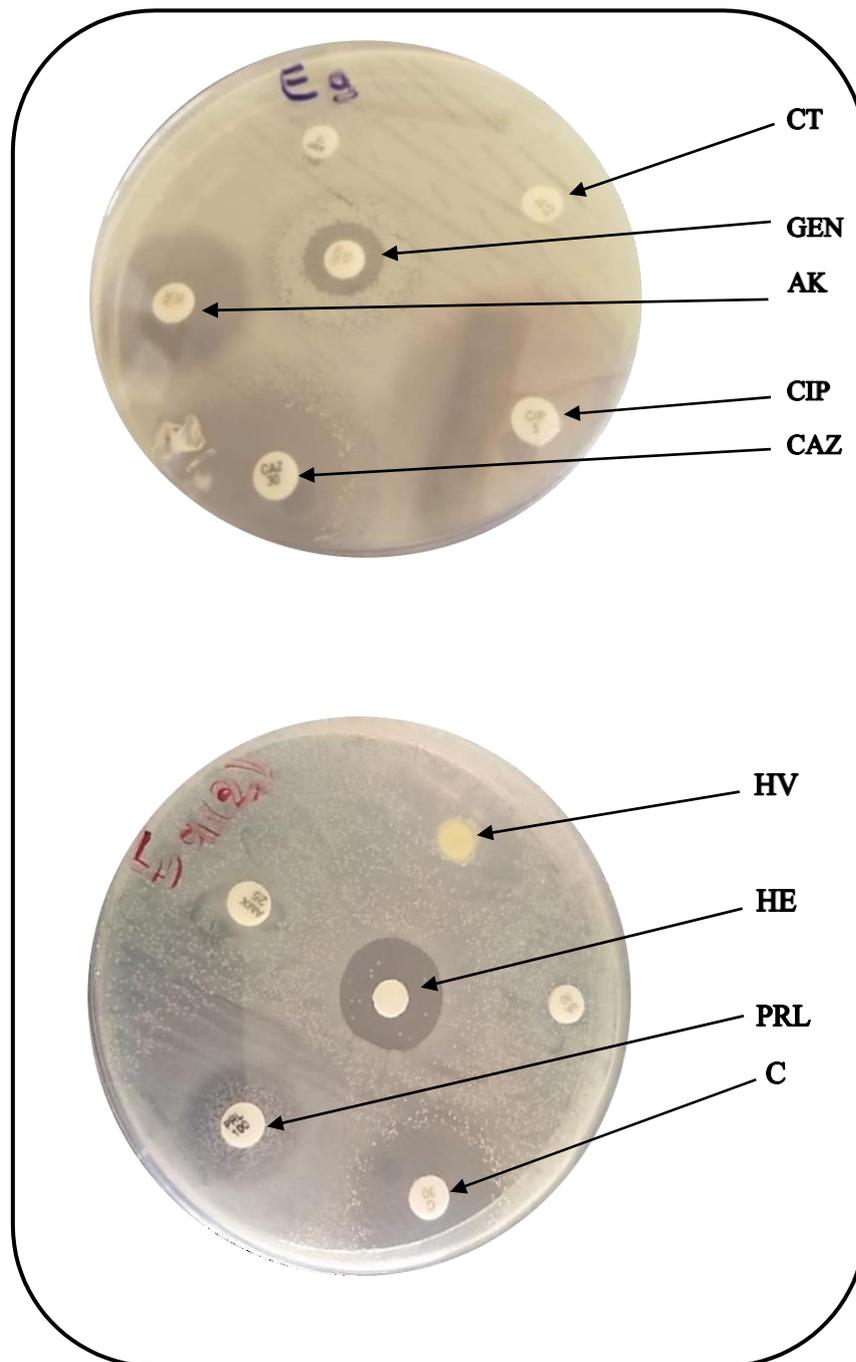


Figure 35 : L'effet des disques d'antibiotiques et des huiles sur une souche de *K. pneumoniae*

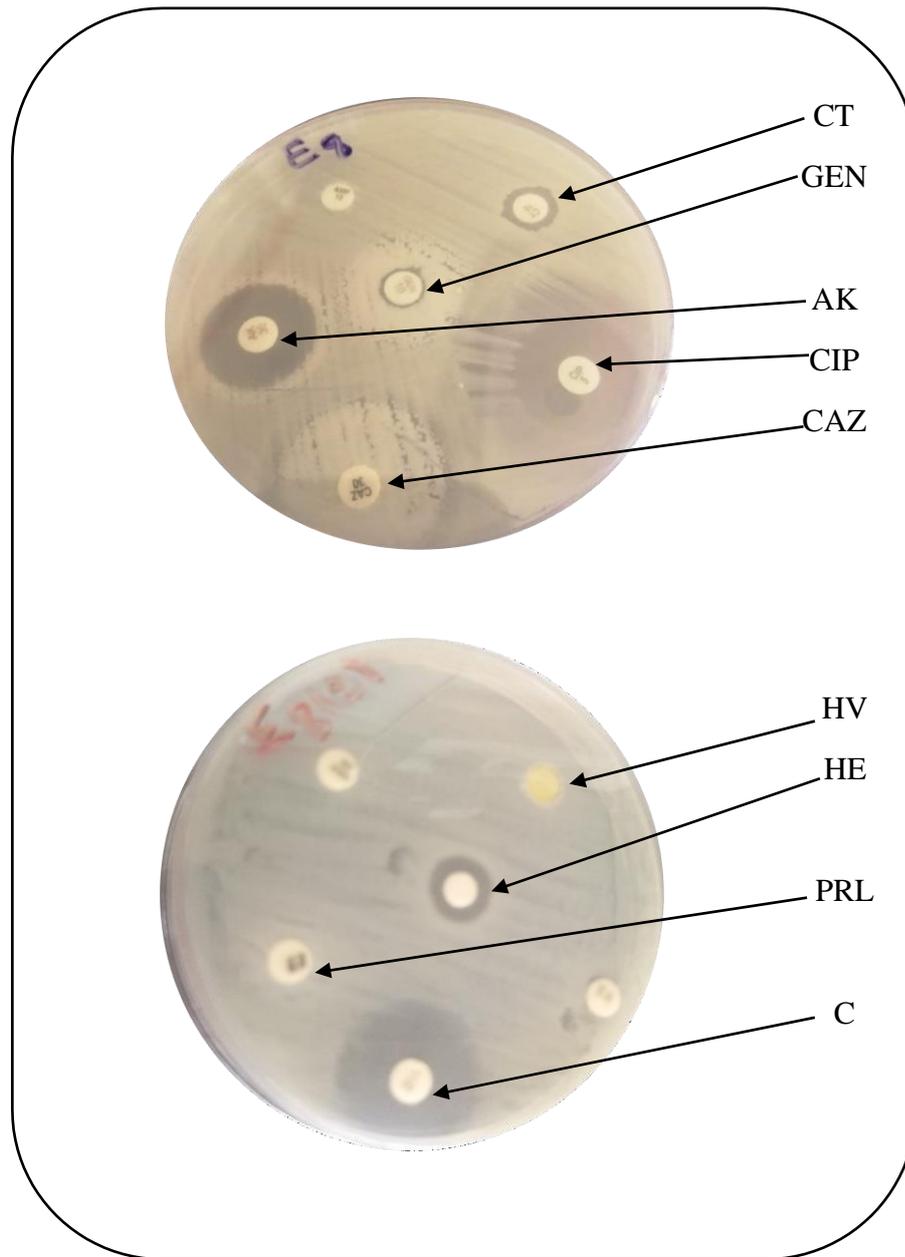


Figure 36 : L'effet des disques des antibiotiques et des huiles sur une souche de Salmonella

Tableau 16 : Les diamètres (mm) obtenus après le test de l'antibiorésistance des BGN

Les échantillons	CT	CIP	CAZ	AK	GEN	PRL	C	HV	HE
<i>Proteus vulgaris</i>	10	30	30	15	21	11	22	00	13
<i>Pseudomonas</i>	10	30	20	25	21	15	17	00	00
<i>E coli 1</i>	09	35	23	23	20	00	25	00	12
<i>E coli 2</i>	07	00	20	17	09	00	26	08	18
<i>Pseudomonas</i>	10	34	22	27	22	16	19	00	16
<i>E coli 3</i>	08	18	23	24	22	00	20	00	06
<i>Klebsiella pneumoniae 1</i>	09	24	00	23	19	00	20	00	06
<i>Salmonella</i>	10	18	25	20	06	14	24	08	12
<i>Klebsiella pneumoniae 2</i>	00	34	22	24	12	18	26	19	19
<i>Proteus mirabilis</i>	00	35	28	24	24	09	09	00	21
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	10	35	00	25	17	00	22	10	20
<i>Enterobacter cloacae</i>	11	30	12	24	13	00	27	00	18
<i>Providencia stuartii</i>	00	24	00	20	12	17	14	00	13
<i>Klebsiella planticola</i>	08	28	00	20	07	00	14	00	15
<i>Enterobacter Sakazakii</i>	11	30	24	24	24	18	23	00	09

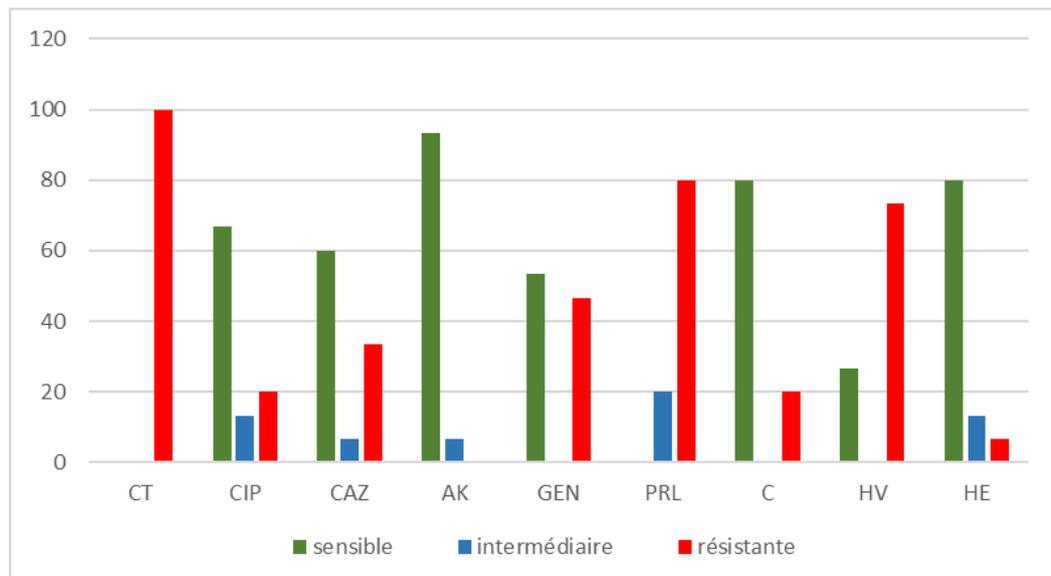


Figure 37 : La sensibilité aux antibiotiques et aux huiles des BGN

Tableau 17 : Le taux de la sensibilité des BGN aux antibiotiques et aux huiles

Antibiotiques testés	sensible		Intermédiaire		Résistante	
	N	%	N	%	N	%
Colistine (CT)	0	0,00	0	0,00	15	100,00
Ciprofloxacine (CIP)	10	66,67	2	13,33	3	20,00
Ceftazidime (CAZ)	9	60,00	1	6,67	5	33,33
Amikacine (AK)	14	93,33	1	6,67	0	0,00
Gentamycine (GEN)	8	53,33	0	0,00	7	46,67
Pipéracilline (PRL)	0	0,00	3	20,00	12	80,00
Chloramphénicol (C)	12	80,00	0	0,00	3	20,00
l'huile végétale	4	26,67	0	0,00	11	73,33
l'huile essentielle	12	80,00	2	13,33	1	6,67

Toutes nos souches de BGN présentent une résistance vis-à-vis la colistine (100%). Ces résultats sont totalement différents à ceux rapporté par (**Boukerouez et Benmhidi, 2017**) qui ont trouvé un taux très faible de 3% de résistance.

Parmi nos souches, *Proteus* et *Providencia* sont naturellement résistants à la colistine, cette résistance est due à l'ajout de groupements cationiques sur le lipide A, ce qui augmente la charge positive du lipopolysaccharide (LPS) bactérien diminuant ainsi l'affinité des polymyxines qui sont elles-mêmes cationiques. Cet ajout de groupements est lié à l'activation constitutive de l'expression de l'opéron *pmrHFIJKLM* et du gène *eptB*.

La résistance acquise aux polymyxines a été identifiée dans plusieurs genres de BGN, comme *Klebsiella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Acinetobacter* et *Pseudomonas*. Les mécanismes de résistance à la colistine sont encore mal connus mais plusieurs mécanismes moléculaires ont été identifiés. (**Aurélié J, 2018**)

Elles présentent aussi une résistance élevée vis-à-vis la pipéracilline avec un pourcentage de 80%, ce qui confrontent avec les résultats de (**M, Perrin et al., 1998**) qui ont trouvé un taux de résistance de 45,5%, et à ceux de 56% trouvés par (**Boukerouez et Benmhidi, 2017**)

Les BGN ont montré une résistance moyenne vis-à-vis la gentamycine avec un taux de 46,67% suivi par un taux de 33,33% pour la ceftazidime. Le plus remarquable c'est que nos souches ne présentent aucune résistance vis-à-vis l'Amikacine dont elles sont sensibles à 93,33%, donc

L'Amikacine est un traitement très puissant contre nos souches. Ces résultats confrontent avec ceux de 64% rapportés en France par (Scheftel et al., 1994)

Suivi par le taux élevé de sensibilité de Chloramphénicol et la ciprofloxacine avec 80%.

Pour l'huile végétale, elle ne montre aucun effet sur les *Pseudomonas aeruginosa* (00mm) ce qui en désaccord avec ceux obtenus à Tizi-Ouzou en 2017 qui est de $24,3 \pm 3,05$ mm.

En revanche l'huile végétale présente une moyenne de diamètre de $9,5 \pm 9,5$ mm contre les souches de *Klebsiella pneumoniae*, ces résultats sont inférieurs à ceux de (Messaoudi et Kessbia, 2017) qui ont trouvé une moyenne de diamètre de $15,33 \pm 2,51$ mm.

Elle présente pour *E. coli* une moyenne de diamètre d'inhibition de $2,66 \pm 3,77$ mm qui est totalement différente à celui présenté à Tizi-Ouzou de $24,3 \pm 3,46$ mm

Ces résultats confirment l'effet antimicrobien limité de l'huile végétale qui est due à la faible teneur en composés phénoliques trouvée dans les HVs. (Mezni et al., 2012)

Pour l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus*, elle a présenté une moyenne de diamètre de $8 \pm 11,31$ mm ce qui est comparable avec celle de (Derwich et al., 2010) qui ont trouvé 10mm de diamètre.

Une moyenne de $12 \pm 4,89$ mm contre *E. coli* ce qui confronte avec celle de (Messaoudi et Kessbia, 2017) qui ont trouvé $24,3 \pm 3,46$ mm.

Une moyenne de $12,5 \pm 6,5$ mm contre *K. pneumoniae* ce qui confronte à celle obtenue par (Mohamed, 2014) qui ont prouvé que les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* n'ont aucun effet sur *Klebsiella pneumoniae*.

5.3 Etude comparative entre l'effet d'huile végétale et celui de l'huile essentielle :

En comparant l'effet d'huile végétale et celui de l'huile essentielle, et selon nos résultats on a conclu que l'huile essentielle est plus efficace sur nos 30 souches que l'huile végétale.

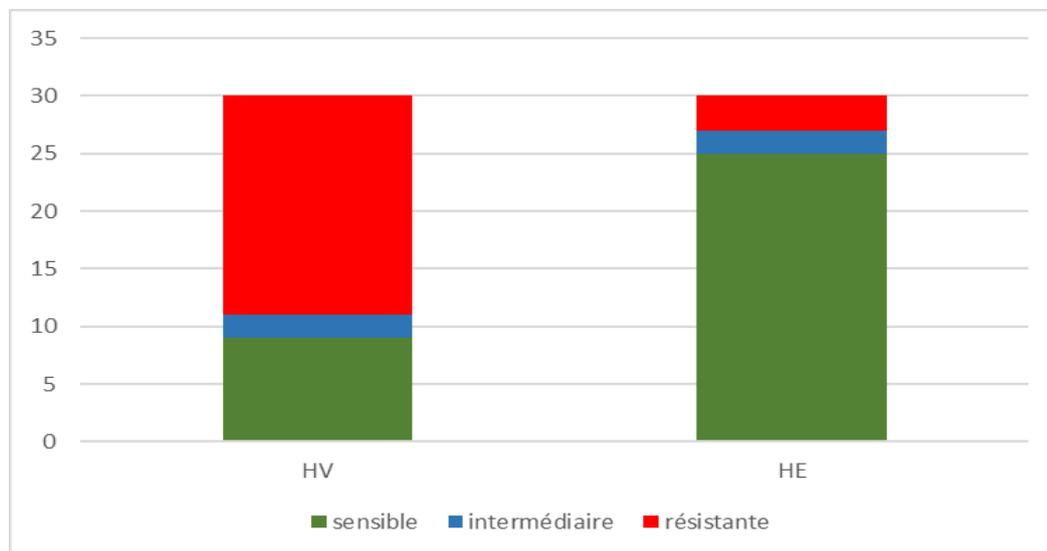


Figure 38 : Comparaison entre l'effet de l'huile essentielle et de l'huile végétale

La faible teneur en composés phénoliques trouvée dans les HVs par rapport à celle des HEs étudiées est probablement responsable de leur inefficacité, d'après les résultats mentionnés par de nombreux chercheurs qui ont trouvé une corrélation positive entre le contenu en composés phénoliques et l'activité antimicrobienne. (Mezni *et al.*, 2012)

Selon (Athamena *et al.*, 2010) les polyphénols, tels que les tannins et les flavonoïdes sont des substances antibactériennes importantes. Les flavonoïdes à caractère lipophile peuvent détruire les membranes microbiennes en augmentant la fluidité des lipides membranaires. La nature des composés phénoliques est également impliquée dans l'activité antimicrobienne. L'activité antimicrobienne ne répond pas seulement à la présence des composés phénoliques, mais également de la présence de divers métabolites secondaires. (Halmi, 2015)

5.4. Une étude comparative entre l'effet des huiles essentielles et celui des antibiotiques :

La comparaison quantitative et qualitative des résultats de l'extrait végétal et des antibiotiques est difficile, car la nature de l'activité et la composition des molécules ne sont pas comparables (biribi, 2002). On peut tout de même risquer à une comparaison globale de l'activité des ATB avec celle de l'extrait de *Pistacia lentiscus*. Du fait que les antibiotiques sont des

molécules chimiques simples par contre les HVs et les HEs sont de nature chimique complexes et hétérogènes d'où nos moyens au laboratoire de microbiologie au sein de notre établissement sont insuffisants pour détecter leurs compositions détaillées.

On a remarqué que les différentes souches de bactéries étudiées réagissent différemment aux antibiotiques et aux huiles testés (tableaux 15 et 17).

- Pour les *S. aureus* l'huile essentielle a une activité (86,67%) importante à celle de FOX (6,67%), CD (40%), RP et SXT (60%) et que celle d'OF (66,67%). On peut considérer l'huile essentielle comme un antibactérien puissant contre l'oxacilline que nos souches SARM sont à 100% résistantes.

Elle exerce une activité plus ou moins semblable à celle de la vancomycine avec un taux idem de 86,67%, et une activité minime que celle du chloramphénicol avec un pourcentage de 93,33%.

- Pour les BGN l'huile essentielle présente une activité de 80% ce taux est élevé par rapport à l'effet de PRL et de CT avec un taux idem (00%), GEN (53,33%), CAZ (60%), CIP (66,67%). Elle exerce un effet idem que le Chloramphénicol avec un taux de 80%, elle est moins efficace que l'Amikacine qui a montré un taux de sensibilité de 93,33%.

En général nos résultats ont révélé que les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* présentent une activité antibactérienne qui varie d'une souche à l'autre, mais en général elles sont très puissantes par rapport à la plupart des antibiotiques.

Ces résultats nous a permis de déduire que l'utilisation de ces huiles est plus préférable que celle des antibiotiques pour les raisons suivantes :

- Les huiles sont plus puissantes que la majorité des antibiotiques utilisés dans notre recherche.
- Les huiles sont des molécules naturelles, par contre les antibiotiques sont des molécules chimiques qui donnent des résidus cancérigènes lors de leur dégradation.
- L'utilisation anarchique et abusive des antibiotiques conduit à l'apparition des souches multirésistantes.
- L'utilisation des antibiotiques peut influencer même la flore symbiotique (bactéries lactiques).

Conclusion

Conclusion

Face à l'apparition du phénomène de l'antibiorésistance des bactéries, et dans le cadre de recherche des antibiotiques naturels et des traitements alternatifs, il s'est révélé nécessaire de valoriser certains composés de métabolites secondaires chez les plantes médicinales qui constituent une source de nouvelle molécule à activité antibactérienne économique et accessible.

Dans ce contexte, la présente étude porte sur l'évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite à partir de *Pistacia lentiscus* et de les comparer par rapport aux antibiotiques testés.

L'extraction a été réalisée par hydrodistillation des feuilles et des tiges de la plante, avec un rendement qui était voisin de 0.2 %.

L'évaluation de l'activité antibactérienne, par la méthode de diffusion sur milieu solide nous a permis de mettre en évidence un pouvoir antibactérien important vis-à-vis les souches à Gram négatifs qui sont plus résistantes par rapport aux Gram positifs, donnant ainsi des zones d'inhibitions pareilles ou supérieures à celles engendrées par les antibiotiques et d'huile végétale.

À la lumière des résultats obtenus, on peut dire que les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* contiennent une variété des composants chimiques auxquelles nous attribuons le pouvoir inhibiteur des bactéries, et pourrait par conséquent être utilisé dans le traitement des maladies infectieuses. Ces résultats obtenus *in vitro* ne constituent qu'une première étape de notre recherche sur des produits nouveaux et naturels à proposer en médecine.

Pour une éventuelle application pharmacologique, il serait souhaitable de compléter cette étude en s'intéressant à :

- ✓ Identifier les mécanismes d'action de chaque composé chimique de *Pistacia lentiscus* contre diverses bactéries ce qui permette d'élargir l'arsenal thérapeutique des médicaments à base de plantes.
- ✓ Tester l'effet d'huile essentiel de *Pistacia lentiscus* sur des microorganismes plus pathogènes pour l'homme.
- ✓ Investir d'autres activités biologiques telles que les activités anticancéreuses et antioxydantes.
- ✓ Combiner les huiles essentielles et les antibiotiques afin d'avoir un produit antibactérien efficace et moins dangereux.

Références Bibliographiques

A

1. Achkour Z. (2012). Emergence de la résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à gram négatif. Thèse de doctorat : pharmacie .Rabat : université rabat, 116p.
2. Afissa F. (2014). Étude de l'antibiorésistance des souches de staphylocoques isolées à partir des dispositifs médicaux à l'hôpital de Mohamed Boudiaf. Mémoire de master : microbiologie appliquée. Ouargla : université Ouargla ,67p.
3. Ait Saïd S. (2011). Stratégies adaptatives des deux espèces du genre *Pistacia* (*P. lentiscus* et *P. atlantica* Desf) aux conditions d'altitude, de salinité et d'aridité : Approches morphoanatomique, photochimiques et écophysiological. Thèse de Doctorat : biologie végétale. Tizi Ouzou : Université Tizi Ouzou, 180 p.
4. Alloune R, Liazi R, Tazzerout M. (2012). Etudes comparatives de deux plantes oléagineuses locales pour la production du biodiesel en Algérie. *Energies Renouvelables*, vol 12, 19 – 22.
5. Amhamdi H ,Aouinti F , Wathelet JP.(2009).chemical composition of the Essential Oil of *Pistacia Lentiscus* L. from Eastern Morocco. *Nat.Prod* , vol 3 (2),90-95.
6. Angandza GS. (2012).recherche des souches *staphylococcus aureus* et *pseudintermedius* résistant à la méticilline dans les muqueuses anale et nasale de chien consultés dans les cabinets vétérinaires de Dakar (Sénégal).thèse de doctorat : médecine veterinaire.Dakar : université Dakar ,104 p
7. Ansari N, Siddiqui AN. (2012).*Pistacia lentiscus*: a review on phytochemistry and pharmacological properties. *Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, vol 4, 16-20.
8. Arabi A, Djibaoui R. (2017). chemical composition and antibacterial activity of essential oil from leaves and twigs of *pistacia lentiscus* growing in Mostaghanem province (Algeria). *Biosciences*, vol 10 (5), 146-158.

9. 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.). Applied Sciences, vol 6(1), 79-93.

B

10. Bammou M, Daoudi A, Slimani I, Najem M. (2015). Valorisation du lentisque « *Pistacia lentisque* L. » : Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. Applied Biosciences, vol 86, 7966– 7975.
11. Bardeau F. (2009).Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestral. Paris : François Xavier sorlot ,315 p .ISBN 9782851575661.
12. Belfadel F. Z. (2009). Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* Caractéristiques physicochimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat). Thèse de magister : chimie organique. Constantine : Université Constantine, 117 p.
13. Bencheikh H.(2017).contribution à l'étude de la composition de l'activité antimicrobienne et de la cytotoxicité des huiles essentielles de *Thymus fontanesii* et de *foeniculum vulgare*.memoire de magister :microbiologie appliquéé.sétif :université de sétif.
14. Bergey's Manual of systematic bacteriologie.2 eme edition .(2009)
15. Bernard P, Jarlier V, Henricksen S. (2007).sensibilité aux antibiotiques des souches de *staphylococcus aureus* responsables d'infections cutanées communautaires.Dermatologie et de vénéréologie, vol 135 (1), 1-7
16. Berthelot P et al. (2004).épidémiologie des infections nosocomiales à *pseudomonas aeruginosa*, *burkholderia cepacia* et *stenotrophomonas maltophilia*.pathologie biologie.vol.53, p 341-348.
17. Bonnet R, Bru JP, Caron F.2019.comité de l'antibiogramme de la société française de Microbiologie.strasbourg : François Jehl ,138p .
18. Bonsignore L, Cottiglia F, Loy G.1998.Antibacterial activity of *pistacia lentiscus* Aeral parts. Fitoterapa, vol 69 (6), 537 -538.
19. Boutabia L, Telailia S, Bouguetof, I, Guenadil F. (2016). Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *pistacia lentiscus* de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). Bulletin de la société royale des sciences de liège, vol 85, 174-189.

20. Bouyahya A, Bakri Y, Talbaoui A. (2017).resistance to antibiotics and mechanisms of action of essential oil against bacteria.phytotherapie , vol 81 , 27-48.
21. Bozorgi M, Memariani Z, Rahimi R. (2013). Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): Traditional Uses, Photochemistry, and Pharmacology .Scientific World Journal, 86 (2), 33-38.
22. Bruneton J.1999.Pharmacognosie, phytochimie – plantes médicinales -3^{ème} edition, techniques et documentation, paris.227-310.
23. Burt S.2004.huiles essentielles : leurs propriétés antibactériennes et leurs applications potentielles dans les aliments .Food microbiology, vol 94 (3), 23-53.

C

24. Cai Y, Wang R. (2010). Iron-depletion prevents biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* through twitching motility and quorum sensing. Braz J Microbiol, vol (41), p 37-41
25. Chaouche T. (2014).Etude ethano-pharmacologique et évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante de quelques plantes médicinales de la région de Tizi Ouzou-Algérie.Thèse de doctorat : microbiologie appliquée. Tlemcen : université de Tlemcen ,189 p.
26. Chatterjee A. 2004. Inhibition of *Helicobacter pylor* in-vitro by various berry extracts with enhanced susceptibility of clarithromycin. Mol. Cell. Biochem., vol 65(2) ,19 – 26.
27. Cheraft, N. (2011). Activité biologique in vitro des extraits de *Pistacia lentiscus* contre les radicaux ABTS⁺, O₂⁻ et NO et caractérisation des fractions actives. Mémoire de magister : Biochimie Appliquée aux Substances Végétales Bioactives. Annaba : université d'Annaba ,74p.
28. Costa M, Siva C, Pinheiro J. (2003).Evaluation de l'activité des extraits des grains de tournesol.foo
29. Couriera M. (2017). Étude in vitro de la potentialisation d'antibiotiques contre les souches d'*E.coli* O78K80 multiresistantes isolées en élevage aviaire par des huiles essentielles. Thèse de doctorat : vétérinaire. Lyon : Université Claude Bernard Lyon1 ,205p.
30. Cox D, Mann M, Markham JL. (2001). Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. Applied Microbiology, vol 91, 49–59

D

31. Daglia M. (2011). Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr Opin Biotechnol*, vol 23 (2), 74-81
32. David B. (2010). étude de la prise en charge ambulatoire des infections communautaires à staphylocoque doré. Thèse de doctorat : médecine : Paris : université de paris ,61p .
33. Debabza M. (2015). émergence en milieu hospitalier des bacilles gram négatifs multi résistants aux antibiotiques : étude bactériologique et moléculaire. Thèse de doctorat : microbiologie appliquée. Tébessa : université Tébessa, 259p.
34. Dhifi W, Jelali N, Omri S, Beji M. (2013). chemical composition of Lentisk (*Pistacia lentiscus L.*) seed oil. *African journal of Agricultural Research*, vol 8(16) , p1359-1400
35. Djerrou Z. (2011). Etude des effets pharmaco-toxicologique de plante médicinales d'Algérie : l'activité cicatrisante et innocuité de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus L.* Thèse de Doctorat. Constantine : université Constantine, 156 p.
36. Domadia P, Swarup S, Bhunia A, (2007) Inhibition of bacterial cell division protein FtsZ by cinnamaldehyde. *Biochem Pharmacol*, vol 74, p 31–40.
37. Dorman Hj, Doyens SG. (2000). Agents antimicrobiens de plantes. Activité antibactérienne des huiles volatiles de plantes. *Applied microbiology*, vol 88 (2), p 308-316.

E

38. El amri J. (2014). Étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* sur différentes souches testées. *Applied biosciences*, vol 82, 7481-7492.
39. El Ouali A .et al. (2013). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des plantes aromatiques de centre nord marocain. *les technologies de laboratoire*, vol 8 (31), 27-33.
40. Eveillard M. (2007). Politique de dépistage de *staphylococcus aureus* résistant à la méticilline. Thèse de doctorat : biologie cellulaire. Angers : université Angers, 160p.

F

41. Faucon M. (2017). Les huiles essentielles, paris : sang de la terre ,896 p, ISNBN : 9782869853447
42. Faure S. (2009) .transfert d'un gène de résistance aux betas lactamines bl ctx-m entre salmonella et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impact d'une antibiothérapie
43. Ferhat A. (2004) .Vapo-diffusion assistée par Micro-ondes .Thèse de doctorat : sciences des aliments .Gabés : université de Gabés, 137 p
44. Freeman-Cook L, Freeman Cook K. (2005). *Staphylococcus aureus* infections. USA : Edward Alcamo, 183 p, ISBN : 0791085082

G

45. Garnier G, Beauquesne B, Debraux L. (1961). Ressources médicinales de la flore française. Plante médicinales, vol 2, 665-666.
46. Garnier F, Denis F. (2007). bactériologie médical : techniques usuelles : cocci à Gram positif. Masson.
47. Ghalem R, Benhassaini H. (2007). Etude des phytostérols et des acides gras de *Pistacia atlantica*. Afrique Science, vol 3(3), 405 – 412.

H

48. Hammer K, Carson C, Riley T. (1999). antimicrobial activity of essential oils and other plants extracts. Applied microbiology, vol 86, 985-990
49. Hassania k. (2012). Activité antimicrobienne des huiles essentiels d'*Artemisia mesatlantica* plante endémique du Maroc. Bulletin de la société royale des sciences de liège, vol 81, 4-12

J

50. John A, Weight, MD. (2007). MRSA. new York: john A. Weight, 230p. ISBN:9781420045499

K

51. Knobloch, Pauli A, Bernard L, Norbertb W .1989. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Essential Oil Research*, vol 1, 119–128.
52. Koutsoudaki C, Krsek M, Rodger A.2005.composition chimique et activité antibactérienne de l’huile essentielle de *pistacia lentiscus*.*Agric Food Chem*, vol 53 (20), 76-81

L

53. Lahlou M. (2004). Méthode pour étudier la phytochimie et la bioactivité des huiles essentielles. *Recherche en phytothérapie*, vol 18 (6), 435-448.
54. Langeveld W, Burt S. (2013). Synergy between essential oil components and antibiotics. *Critical Reviews in Microbiology*, vol 10, p 1-19.
55. Lauk L,Ragusa A, Franco S.(1996). V.M. In vitro antimicrobial activity of *pistacia lentiscus* L. Extracts: Preliminary report. *Chemotherapy*, Vol.8 (03), 207-209.
56. Leitao D.2005. Antibacterial screening of anthocyanic and proanthocyanic fractions from cranberry juice. *J Med Food*, vol 8(1), 36-40.
57. Lucchesi M, Chemat E, Smadja J.(2005).solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs.*Chromato A*,vol 1043, 323-327

M

58. Maameri Habibatni Z. (2014). *Pistacia lentiscus* L. Evaluation pharmacotoxicologique. Thèse de Doctorat. Constantine : Université de Constantine I, 138 p.
- 59.Magiatis P, Melliou E, Chinou B, Mitaku. (1999). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus*. *Planta Med*, vol 65, 749-751.
60. Mohammedi Z. (2006).Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen .mémoire de magistère : microbiologie appliquéé.Tlemcen : université de Tlemcen ,105 p

O

61. Orch H, Damintoti K, Kolman B. (2015). Étude ethanobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète. *Applied biosciences*, vol 86, 7940-7956.
62. Own P, John T.(1990).xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern north American plant remedies used for gout. *Ethn-pharmacology* , vol 64 ,149-160

P

63. Peshkova A. (2015). Intérêt de l'aromathérapie dans la lutte contre la résistance bactérienne aux antibiotiques : Application dans les pathologies courante à l'officine. Thèse de doctorat : pharmacie .Lyon : Université Claude Bernard Lyon1, 149p.
64. Polesse J. (2010).Arbre et arbuste de méditerranée.paris : Edisaud, p 85

R

65. Rameau, J-C et al. (2008). Flore forestière française. Guide écologique illustré, vol 3, 24 -26.
- 66.Robert D. (2013).*staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM): généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive .Thèse de doctorat : pharmacie. Angers : université Angers, 126p
67. Richard B, Bru JP, Caron F. (2018).comité de l'antibiogramme de la société française de Microbiologie. Strasbourg : François Jehl.

S

68. Sadou N, Ratiba S. (2015). Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle des aiguilles de *pinus halepensis* du nord est algérien. *Science and technology*, vol 33, 33-39.
69. Scimeca D, Tetau M.2006.votre santé par les plants : le guide familial prévenir et guérir tous les maux quotidiens .Monaco : Alpen ,205 p

70. Shuang Yi, Wen, J, Yi T.2008. Phylogenetic and reticulate evolution in *Pistacia* (Anacardiaceae). American Journal of Botany, vol 95(2), 241-251.
71. Sikkema J, Bont JA, Poolman B .1995. Mechanisms of membranes toxicity of hydrocarbons. Microbiol, vol 59, 201-222.
72. Sivakumaran S, Molan A, Meagher P. 2004. Variation in antimicrobial action of pranthocyamidins from *Dorycrium rectum* against rumen bacteria. Phys Chem: 5(3), p 106-111.
73. Stéphane F, Marie M, Raphael E. (2015). Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentiels et / ou de leurs composants majoritaires. Thérapie complémentaire, vol 5 (2), 110-118.

T

74. Toty A, Guessennd N, Damas A, Dosso M.2013.Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *harungana madascariensis* sur la croissance de souches multirésistantes. Bulletin de la société royale des sciences de liège, vol 82, 12-21.
75. Touaitia R.2016.*staphylococcus aureus* résistant à la methicilline : Emergence et mécanismes de résistance. Thèse de doctorat : microbiologie appliquée. Annaba : université d'Annaba, 154p.
76. Touhami A. (2017).Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentiels de différents genres thymus récoltées dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement.These de doctorat : chimie organique. Annaba : université d'Annaba, 173 p.
77. Trabelsi H, Sakouhi F, Mayer P. 2012. Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. Food Chemistry, vol 131, 434-440.
78. Turgis M, Caillet S. (2009). Antimicrobial activity of mustard essential oil against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhi*. Food Control, vol 20, 73–79

W

79. Wu TG. (2018).prevalence and molecular characteristics of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* among nasal carriage strains isolated from emergency

department patients and healthcare workers in central Taiwan. *Microbiology immunology and infection*, vol 82, 56-63.

X

80. Xi L, Yang Z, Jun W. (2014). Biogeographic history of *Pistacia* (Anacardiaceae), emphasizing the evolution of the Madrean-Tethyan and the eastern Asian-Tethyan disjunctions. *Molecular phylogenetics and evolution*, vol 77(1), 136– 146.

Z

81. Zid E, Grignon C. 1991. Les tests de sélection précoce pour la résistance des plantes aux stress, cas des stress salin et hydrique : L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux Reactive oxygen species. *Metabolism, oxidative stress, and signal transduction*, Vol 55, p 373-399.

Annexes

ANNEXE n°01 : Milieux des cultures.**1. Milieu de Chapman :**

Est un milieu gélosé mannitol sel destiné à l'isolement sélectif de staphylocoque a partir de prélèvements d'origine humaine (surveillance sanitaire qui donnent des colonies jaunes par fermentation du mannitol et virage du rouge de phénol. Sa forte teneur en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des autres espèces.

➤ **Composition :** (grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée) :

-Peptones.....	10,00 g
-Extrait de viande de bœuf.....	1,00g
-D-mannitol.....	10,00 g
-Chlorure de sodium	75,00 g
-Rouge de phénol.....	0,025g
-Agar.....	15,00g

PH final à 25°C: $7,4 \pm 0,2$

➤ **Conservation :**

Le milieu en flacons se conserve entre 15 et 25°C et les boîtes entre 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

2. Gélose Muller Hinton :

Milieu utilisé pour tester la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

➤ **Composition :** (gramme par litre d'eau distillée ou déminéralisée):

-Infusion de viande de bœuf.....	300g/l
-Hydrolysate de caséine.....	17.5g/l
-Amidon	1.5g/l
-Agar.....	17g/l

Ph : $7,4 \pm 0,2$

➤ **Préparation :**

Porter à l'ébullition 38 g par litre d'eau distillée, puis répartir dans des flacons, stériliser à l'autoclave (120 °C pendant 15 mn).

3. Gélose nutritive (GN) :

La gélose nutritive est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes peu exigeants

➤ **Composition :** (gramme/litre d'eau distillée) :

-Digestion pancréatique de gélatine (peptone).....	5g
-Extrait de bœuf.....	1g
-Agar... ..	15g
-Chlorure de sodium	5,0 g
-Extrait de levure	2.5g

Ph 6.8

➤ **Préparation :**

28 g par litre. Chauffer lentement jusqu'à dissolution, ajuster si nécessaire le pH, répartir, autoclaver à 120°C pendant 20 minutes.

4. Bouillon nutritif (BN) :

➤ **Composition :** (gramme/litre d'eau distillée) :

-Peptone	5,00 g
-Extrait de viande	3.00g

Ph final: 6,8± 0,2

5. Gélose Mac Conkey :

➤ **Composition :**

-Peptone de caséine	7g
-Peptone de viande	3g
-Lactose.....	10g
-Mélange de sels biliaires	11.5g
-Chlorure de sodium	5.0g
-Rouge neutre	0.03g
-Cristal violet.....	0.001g
-Agar agar	13.5g

6. Gélose hektoen :**➤ Composition :** (grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée):

-Peptone	12g
-Extrait autolytique de levure.....	3.0 g
-Lactose.....	12.0g
-Saccharose	12.0g
-Salicine	2.0g
-Sels biliaires.....	9.0g
-Chlorure de sodium.....	5.0g
-Thiosulfate de sodium.....	5.0g
-Citrate ferrique ammoniacal	1.5g
-Bleu de bromothymol.....	65mg
-Fushine acide	40mg
-Agar.....	13.5g

➤ Préparation :

Porter à l'ébullition 75.1g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée, refroidir et maintenir le milieu à 44-47°C, couler en boîtes de pétri laisser solidifier

ANNEXE n°02 : Réactifs et solutions.**1. Violet de gentiane**

-Violet de gentiane.....	1g
-Éthanol à 95 °	10ml
-Eau distillé	100ml
-Phénol.....	2.0g

2. Solution iodée de gram

-Iode.....	1g
-Iodure de potassium.....	2g
-Eau distillé	300ml

3. Fushine de Ziehl

-Fushine basique.....	1g
-Phénol.....	5g
-Alcool à 95 °... ..	10 ml
-Eau distillé	100ml

4. Eau physiologique :

➤ **Composition** (gramme/litre d'eau distillée) :

-Chlorure	9,0g
-Eau distillée.....	1000 ml

PH final : 7

ANNEXE n°03 : Matériels utilisés au laboratoire.

Matériels	Appareils	Verreries
<ul style="list-style-type: none"> • Boîtes de pétri • Embouts • Écouvillons • Anse de platine. • Gants chirurgicaux • Micropipettes. • Papier filtre. • Papier Wattman. • Pincés • Pipettes graduées. • Pipettes pasteur. • Portoirs. • Spatule. • Lames 	<ul style="list-style-type: none"> • Bain-marie • Balance de précision • Micropipettes • Réfrigérateur • Bec bunsen • Autoclave • Vortex • Agitateur électrique • Plaque chauffante • Microscope optique • hydrodistillateur 	<ul style="list-style-type: none"> • Béchers (500 ml, 600 ml). • Flacons en verre de 250 ml. • Tubes à essai stérile. • Tubes secs.

ANNEXE n°04 : Appareillage.

Hydrodistillateur

L'appareil de distillation est une colonne à distiller elle doit présenter une grande surface d'échange et fonctionner de manière réversible

Une série d'équilibres liquide-vapeur a lieu dans la colonne. Aux cours desquels le liquide le plus volatile se vaporise et la vapeur le moins volatile se condense. La concentration en composé volatile augmente progressivement de bas en haut

➤ Composition de l'appareil :

- Une chauffe ballon muni d'un thermostat
- Un ballon à tube à dégagement latéral, un réfrigérant à eau
- Deux pieds de mécanique, deux noix de serrage et deux pinces quatre doigts
- Une éprouvette graduée
- Un erlenmeyer
- Un becher

Glossaire

Glossaire

- **Andésine** : protéine permettant la liaison spécifique des glucides, faisant saillie sur les cellules procaryotes et servant à l'adhérence.
- **Arbrisseau** : petit arbre ramifié à la base.
- **Bactéricide** : substance possède la capacité de tuer des bactéries. Ils sont variables d'une substance à l'autre.
- **Bactériostatique** : substance qui arrête la multiplication des bactéries sans les détruire.
- **Biofilms** : communauté de microbes qui forment généralement une mince couche visqueuse sur une surface naturelle ou artificielle.
- **Coagulase** : enzyme libérée dans le milieu au cours de la culture de *staphylococcus aureus* capable de coaguler le plasma sanguin.
- **Désaturase** : enzyme qui introduit des doubles liaisons dans les acides gras les rendant plus bénéfiques.
- **Dyspepsie** : trouble digestif fonctionnel ses causes sont difficilement identifiables ils correspondent à des sensations inconfortables ressenties au niveau de la partie haute de tube digestif.
- **Effet scavenger** : L'effet inhibiteur (piégé) des radicaux libres.
- **Essence naturelle** : liquide extrait de produit naturels par procédé d'expression à froid
- **Force proton-motrice** : Concentration minimal inhibitrice : plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne après 18 heures de culture à 37°C cette valeur caractérise l'effet bactériostatique d'un antibiotique.
- **Garrigue** : une formation végétale caractéristique des régions méditerranéennes.
- **Mésophile** : bactérie qui se développe le mieux à des températures modérées variant entre 25 et 40 °c.
- **Plante aromatique** : aussi appelés les bonnes herbes ou fines herbes .elles regroupent toutes
- **Polyphénol** : des substances qui ont des propriétés antioxydants très importante permettant de lutter contre la formation des radicaux libres en excès dans l'organisme.
- **Pompe à efflux** : Une pompe qui transporte des composés dans le sens cytoplasme-milieu cela permet de résister aux antibiotiques du cytoplasme vers le milieu ces plantes comestibles, aux feuillages parfumés.

- **Protéase** : enzyme qui hydrolyse la liaison peptidique établie entre deux acides aminés d'une chaîne polypeptidique (peptide et protéine).
- **Quorum sensing** : un système de communication fondé sur la sécrétion et la perception de petites molécules appelé auto inducteurs qui leur permettent d'adapter leur comportement en fonction de la taille de la population (medecinesciences.org).
- **Septicémie** : une infection grave, qui se propage dans l'organisme par voie sanguine à partir d'un foyer infectieux initial.
- **Synergique** : action de coordonnée de plusieurs éléments ou systèmes organiques.
- **Totum** : l'ensemble des constituants de la plante c'est-à-dire toutes les substances naturelles contenues dans la plante. Il peut contenir plusieurs centaines de constituants chimiques différents.



Université Larbi Tébessi - Tébessa

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

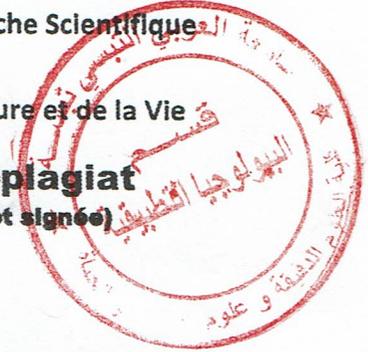
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Larbi Tébessi - Tébessa

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat

(à Joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)



Je soussigné(e),

Nom, Prénom : Mébahlia Imène

Régulièrement inscrit(e) en **Master** au département : Biologie appliquée

N° de carte d'étudiant : 340.188.10

Année universitaire : 2018 / 2019

Domaine : sciences de la nature et de la vie

Filière : sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé du mémoire : l'activité antibactérienne de l'huile de lentisque récoltée de 02 régions de Tébessa

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

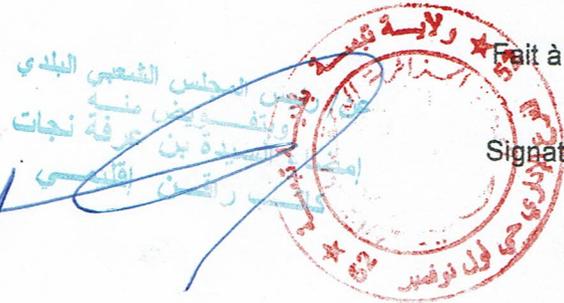
L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

2019 بوبية 07

Fait à Tébessa, le : 07/07/2019

Signature de l'étudiant(e) :



Tébessa le 07/07/2019

Nom et Prénom :

Master 02 Microbiologie appliquée

Déclaration de correction du mémoire

Nous déclarons que l'ensemble de remarques soulevées par les membres de jury ont été corrigées.

Présidente : Mme Debabza. M

