



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة زيان عاشور-الجللفة

Université Ziane Achour-Djelfa

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques

Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière: Sciences Biologiques.

Spécialité: Microbiologie Appliquées

Thème

**Extraction et étude comparative de l'activité  
antioxydante et antibactérienne de l'huile de feuilles de  
*Pistacia lentiscus* L. extraite de la région de Djelfa et d'une  
huile commerciale**

Présenté par : BENCHERIF Fatima Iman

SELT Manal Faiza

Devant le jury composé de :

Président :	HACHI Mohamed	Professeur	Univ Djelfa
Promoteur :	BRIKI Khaled	MCA	ENS Laghouat
Examineur 01:	ABBASSI Mouna Souad	MCA	ENS Laghouat
Examineur 02 :	SERSEG Talia	MCA	ENS Laghouat
Co-Promoteur :	BENARFA Adel	MCB	URPM Laghouat

Année universitaire : 2025/2026

# *Remerciements*

*Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude et nos remerciements les plus vifs à Dieu le Tout-Puissant, qui nous a accordé la force, la volonté, la santé et la patience nécessaires pour mener à bien ce modeste travail.*

*Nous adressons nos remerciements les plus sincères à notre encadreur, Monsieur le Docteur **BRIKI Khaled**. Nous lui sommes infiniment reconnaissants d'avoir accepté de diriger ce travail, pour sa grande disponibilité, ses précieux conseils, ses encouragements constants, et surtout pour la patience bienveillante dont il a fait preuve tout au long de la réalisation et de la rédaction de ce mémoire.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude, notre grand respect et notre vive reconnaissance au Docteur **ABBASSI Mouna Souad** et Docteur **SERSEG Talia**. Nous les remercions chaleureusement pour leur aide précieuse, leur soutien constant et pour avoir été une partie prenante de ce travail. Nous leur sommes également infiniment reconnaissants de nous faire l'immense honneur de présider et de siéger au jury de notre soutenance. Leurs regards éclairés et leurs orientations précieuses rehaussent sans doute la valeur de cette recherche.*

*Nos sincères remerciements s'adressent également à Monsieur le Professeur **HACHI**, qui a très aimablement accepté d'examiner ce travail et de faire partie de notre jury.*

*Nous adressons aussi nos remerciements à Monsieur **Abdellaoui Samir** pour son aide et son soutien lors de la réalisation de ce travail.*

*Enfin, que tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, par leurs conseils, leur soutien moral ou leur aide technique, à la concrétisation de ce projet, trouvent ici l'expression de notre reconnaissance la plus sincère. À nos familles et à nos proches, merci d'avoir toujours été notre source d'inspiration et de persévérance.*

# **DEDICACE**

*Avant tout, j'adresse mes plus sincères remerciements à Dieu (الله) pour la volonté, la patience, la force et le courage qu'il m'a accordés durant ces longues années d'études, me permettant ainsi d'atteindre ce stade et de réaliser ce travail.*

*\* À mes très chers parents, aucun hommage ne saurait être à la hauteur de leur amour et de leurs sacrifices. Que Dieu leur procure bonne santé et longue vie.*

*\* À mes frères et sœurs, pour leur présence et leur soutien indéfectible.*

*\* À mes chères amies du Club « ECO-VERT », qui ont été des compagnes de route inestimables et un véritable pilier tout au long de ce parcours.*

*À mon cher binôme, en témoignage de notre complicité, de son sérieux et de son soutien constant tout au long de la réalisation de ce projet. Ce travail est le résultat de nos efforts partagés. »*

*À tous ceux qui, par un mot, un geste ou un sourire, m'ont donné la force de mener à bien ce modeste travail, je vous dis un grand merci.*

**MANAL FAIZA**

# **DEDICACE**

*Je rends grâce à Dieu Tout-Puissant pour m' avoir accordé la force et la volonté  
D'achever ce travail.*

*À mes très chers parents, qui ont toujours été une source inépuisable d'amour, de soutien et de sacrifices. Aucun mot ne saurait exprimer ma profonde gratitude pour tout ce qu'ils ont fait pour moi. Que Dieu les protège et les comble de bonheur.*

*À mon cher mari, pour son soutien indéfectible, sa patience, ses encouragements et sa confiance tout au long de ce parcours.*

*À mes chers frères et à ma chère sœur, Pour votre amour sincère, votre tendresse et votre soutien qui m'ont toujours réconfortée*

*À mes adorables enfants, qui sont ma source de joie, d'espoir et de motivation.*

*À mon binôme, avec qui j'ai partagé les efforts, les défis et les moments de réussite durant la réalisation de ce travail.*

*À mes collègues de paillasse, pour leur esprit de collaboration, leur aide et les agréables moments passés ensemble.*

*À tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à l'aboutissement de ce mémoire.*

*Je dédie humblement ce travail en témoignage de ma profonde reconnaissance, de mon respect et de mon affection.*

***Fatima Iman***

## Résumé

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer le rendement de l'extraction par hydrodistillation (appareil de type Clevenger) de l'huile essentielle (HE) à partir des feuilles fraîches, puis analyser *in vitro* ses activités biologiques antimicrobienne et antioxydante — en établissant une comparaison rigoureuse avec un échantillon commercial de référence acquis dans la wilaya de Blida.

Sur le plan de l'extraction, les résultats ont montré que l'HE obtenue se présente sous forme d'un liquide limpide, incolore, à odeur herbacée aromatique caractéristique, avec un rendement moyen de 0,40 %. Cette valeur s'inscrit dans l'intervalle de variabilité (0,02 % – 0,60 %) rapporté pour cette espèce dans le bassin méditerranéen.

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test de piégeage du radical libre DPPH a révélé une activité dose-dépendante pour l'HE extraite au laboratoire, avec une concentration inhibitrice médiane (IC50) de 5,559 mg/ml. Bien que cette capacité antioxydante demeure inférieure à celle des molécules de référence testées — l'acide ascorbique (IC50 = 0,009 mg/ml) et le BHT (IC50 = 0,112 mg/ml) par contre l'échantillon commercial s'est révélé totalement inactif.

Concernant l'activité antibactérienne, évaluée par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme) vis-à-vis de sept souches pathogènes (*E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella oxytoca*, *K.pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ; *Staphylococcus aureus*), l'HE du laboratoire a manifesté une efficacité supérieure à celle du commerce contre *P. mirabilis* et *A. baumannii*, avec des zones d'inhibition atteignant 11 mm à la dilution 1/2. À l'inverse, l'huile commerciale s'est avérée plus active contre *E. coli* (10 mm). *P. aeruginosa* est resté résistant aux deux extraits, quelle que soit la concentration testée.

Ces variations d'efficacité biologique observées entre les deux échantillons mettent en lumière l'impact crucial de l'origine géographique de la plante, de la pureté et des conditions de conservation sur la réactivité des principes actifs des huiles essentielles.

**Mots-clés :** *Pistacia lentiscus* L., huile essentielle, Djelfa, hydrodistillation, appareil de Clevenger, activité antioxydante, activité antimicrobienne, DPPH, rendement.

## Abstract

The present study is part of an effort to valorize the phylogenetic resources of the Algerian flora through the biological characterization of the essential oil (EO) extracted from the leaves of *Pistacia lentiscus* L. (mastic tree), a dioecious shrub belonging to the Anacardiaceae family, collected from its natural habitat in the Bastama region (Djelfa Province, Algeria) in May 2026.

The main objective of this work was to evaluate the extraction yield of the EO obtained by hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus, and to assess its in vitro biological activities — antioxidant and antimicrobial — in comparison with a commercial essential oil sample purchased from the Blida Province.

The experimental results led to the extraction of a clear, colorless essential oil with a characteristic herbaceous aromatic odor, with a mean yield of 0.40 %. This value falls within the variability range (0.02 % – 0.60 %) reported for this species in the Mediterranean basin.

Regarding antioxidant activity, evaluated by the DPPH free radical scavenging assay, the laboratory-extracted EO exhibited a concentration-dependent activity, with a median inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) of 5.559 mg/ml. Although this antioxidant capacity was lower than that of the standard antioxidants tested — ascorbic acid (IC<sub>50</sub> = 0.009 mg/ml) and BHT (IC<sub>50</sub> = 0.112 mg/ml) — the commercial sample showed no detectable activity against DPPH radicals.

Concerning antimicrobial activity, assessed by the disc diffusion method (aromatogram) against seven pathogenic strains (*E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella oxytoca*, *K.pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*; *Staphylococcus aureus*), the laboratory EO demonstrated superior efficacy compared with the commercial oil, particularly against *P. mirabilis* and *A. baumannii*, with inhibition zones reaching 11 mm at the 1/2 dilution. Conversely, the commercial EO exhibited greater activity against *E.coli* (10 mm). *P. aeruginosa* remained resistant to both extracts at all concentrations tested.

The biological differences observed between the two samples highlight the crucial impact of geographical origin, plant purity, and storage conditions on the reactivity of bioactive compounds in essential oils.

**Keywords:** *Pistacia lentiscus* L., essential oil, Djelfa, hydro distillation, Clevenger apparatus, antioxidant activity, antimicrobial activity, DPPH, extraction yield

## ملخص

(*Pistacia lentiscus L*)، وهي شجيرة دائمة الخضرة ذات الجنسين تنتمي إلى فصيلة *Anacardiaceae*، جمعت من موطنها الطبيعي في منطقة بسطامة بولاية الجلفة (الجزائر) خلال شهر ماي 2026 .

تمحور الهدف الرئيسي لهذا العمل حول تقييم مردودية استخلاص الزيت الأساسي (HE) عن طريق التقطير المائي باستعمال جهاز كليفنجر (Clevenger)، إلى جانب تقييم فعاليته البيولوجية مخبرياً — النشاط المضاد للميكروبات والنشاط المضاد للأوكسدة — مع إجراء مقارنة دقيقة بعينة زيت أساسي تجارية مرجعية تم اقتناؤها من ولاية البلدة.

على صعيد الاستخلاص، أسفرت النتائج عن الحصول على زيت أساسي رائق، عديم اللون، ذو رائحة عشبية عطرية مميزة، بمرودود استخلاص متوسط قدره 0,40%. وهذه القيمة تندرج ضمن نطاق التباين (0,02% - 0,60%) ال مسجل لهذا النوع في حوض البحر الأبيض المتوسط.

فيما يخص النشاط المضاد للأوكسدة، المقيم باختبار الجذور الحرة DPPH، أظهر الزيت المستخلص مخبرياً فعالية تصاعديّة بزيادة التركيز، بتركيز مثبط نصفى (IC50) بلغ 5,559 ملغ/مل. وعلى الرغم من أن هذه الفعالية تبقى أدنى مما سجل للمواد المرجعية المستعملة — حمض الأسكوربيك (IC50 = 0,009) ملغ/مل (و IC50 = 0,112) BHT ملغ — فإن العينة التجارية لم تظهر أي نشاط ملحوظ تجاه الجذر الحر DPPH .

أما فيما يتعلق بالنشاط المضاد للبكتيريا، المقيم بطريقة الانتشار على الأقراص (أروماتوغرام) تجاه سبع بكتيريا

ممرضة *E. coli*، *Proteus mirabilis*، *Klebsiella oxytoca*، *K. pneumoniae*، *Pseudomona aeruginosa*، *Staphylococcus aureus*، *Acinetobacter baumannii*، فقد أبدى الزيت المخبري فعالية متفوقة على الزيت التجاري ضد *P. mirabilis* و *A. baumannii*، إذ بلغت أكبر منطقة تثبيط 11 مم عند التخفيف 2/1. في المقابل، أظهر الزيت التجاري فعالية أكبر ضد *E. coli* (10 مم). وقد ظلت بكتيريا *P. aeruginosa* مقاومة للمستخلصين كلاهما مهما كان التخفيف ال مطبق.

تجلى هذه الفوارق في الفعالية البيولوجية بين العينتين الأثر الحاسم للأصل الجغرافي للنبته ودرجة نقاوة الزيت وشروط حفظه على مدى نشاط المركبات الفعالة في الزيوت الأساسية.

**الكلمات المفتاحية:** زيت أساسي، الجلفة، تقطير مائي، جهاز كليفنجر، نشاط مضاد للأوكسدة، نشاط مضاد للميكروبات

مردود الاستخلاص *DDPH, Pistacia lentiscus L*

## *Liste des Abréviations*

<b>%</b>	: Pourcentage
<b>µg</b>	: Microgramme
<b>AA</b>	: Acide Ascorbique
<b>ABTS</b>	: 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid
<b>AFNOR</b>	: Association Française de Normalisation
<b>BaCl<sub>2</sub></b>	: Chlorure de baryum
<b>BHT</b>	: Butylhydroxytoluène
<b>°C</b>	: Degré Celsius
<b>CI<sub>50</sub> / IC<sub>50</sub></b>	: Concentration inhibitrice à 50 %
<b>DMSO</b>	: (diméthylsulfoxyde).
<b>DPPH</b>	: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
<b>ERO</b>	: Espèces réactives de l'oxygène
<b>Fe<sup>2+</sup></b>	: Fer ferreux
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	: Fer ferrique
<b>Fe Cl<sub>3</sub></b>	: Chlorure de fer
<b>FRAP</b>	: Ferric Reducing Antioxidant Power
<b>g</b>	: Gramme
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Peroxyde d'hydrogène
<b>HE</b>	: Huile essentielle
<b>L</b>	: Litre
<b>mg</b>	: Milligramme
<b>MHE</b>	: Masse d'huile essentielle récupérée (exprimée en g)
<b>ml</b>	: Millilitre
<b>mM</b>	: Millimole
<b>MMS</b>	: Masse de matière sèche
<b>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	: Sulfate de sodium
<b>pH</b>	: Potentiel d'hydrogène
<b>PR</b>	: Pouvoir réducteur
<b>R</b>	: Rendement
<b>TPTZ</b>	: 2,4,6-Tripyridyl-s-triazine
<b>µg</b>	: Microgramme

## ***Sommaire***

Résumé .....	
Liste des Abréviations.....	
Liste des figures .....	
Liste des tableaux.....	
Introduction.....	1

### ***Chapitre I***

#### ***Synthèse Bibliographique***

I.1. <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	4
I.1.1. Définition.....	4
I.1.2. Morphologie et description botanique .....	4
I.1.3. Classification botanique.....	7
I.1.4. Répartition géographiques de.....	8
I.1.4.1. Dans le monde.....	8
I.1.4.1. En Algérie.....	9
I.1.5. Exigences écologiques du <i>P. lentiscus</i> L.....	9
I.1.6. Usages de <i>P. lentiscus</i> L.....	10
I.2. Les huiles essentielles.....	11
I.2.1 .Historique .....	11
I.2.2. Définition .....	12
I.2.3. Répartition des huiles essentielles dans la plante .....	12
I.2.4. Composition chimique des huiles essentielles.....	13

I.2.4.1. Terpénoïdes: (Terpènes) .....	13
I.2. .4.1.1. Monoterpènes (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> ).....	14
I.2.4.1.2. Sesquiterpènes (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> ).....	15
I.2.4.2. Composés aromatiques .....	15
I.2.4.3. Facteurs de variabilité de la composition chimique.....	16
I.2.4.4. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>P. lentiscus</i> L.....	16
I.2.5. Propriétés des HE .....	17
I.2.5.1. Propriétés physico-chimiques .....	17
I.2. .5.2. Propriétés organoleptiques .....	18
I.2.6. Conservation des HE .....	19
II.2.7. Toxicité des HE .....	19
I.2.8. Méthodes d'extraction d'HE.....	19
I.2.9. Activités biologiques des HE.....	24
I.2.9.1. Activité antibactérienne .....	24
I.2.9.1.1. Définition sur les Bactéries .....	24
I.2.9.1.1.1. Bactérie Gram négative.....	25
I.2.9.1.1.2. Bactérie Gram positive .....	26
I.2.9.1.2.Mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries .....	26
I.2.9.2. Activité antioxydante.....	27
I.2.9.2.1. Stress oxydatif.....	28
I.2.9.2.2. Radicaux libres.....	28
I.2.9.2.3. Conséquences du Stress oxydatif .....	28
I.2.9.2.4. Définition d'un antioxydant.....	28

I.2.9.2.5. Types d'activités antioxydantes .....	29
I.2.9.2.6. Classification des antioxydants .....	29
I.2.9.2.7. Rôles et fonctions des antioxydants.....	30
I.2.9.2.8. Evaluation du pouvoir antioxydant.....	30
I.2.9.3. Activité antifongique .....	31

## ***Chapitre II***

### ***Matériels et méthodes***

II.1. .Objectif.....	37
II.2. Lieu de travail .....	37
II.3. Matériel et méthodes.....	37
II. 3. 1. Matériel chimique et appareillage.....	37
II.3.1.1. Réactifs et matériels .....	37
II.3.2. Matériel végétal .....	38
II.3.2.1. Collecte de la plante .....	38
II.4. Protocole d'extraction de l'HE de <i>P.lentiscus</i> L. ....	39
II.5. Conservation des HE.....	40
II.6. Calcul du rendement des HE .....	40
II.7. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE de <i>P . lentiscus</i> L <i>in vitro</i> .....	41
II.8. Evaluation de l'activité antioxydante de <i>P . lentiscus</i> L .....	45
II.8.1. Piégeage des radicaux libres DPPH .....	45
II.8.1.1. Principe du test.....	45
II.8.1.2. Mode opératoire .....	46

## **Chapitre III**

### **Résultats et Discussions**

III .1. Propriétés organoleptique d'HE .....	49
III.2. Rendement en huile essentielle de <i>P.lentiscus</i> L.....	49
III.3. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'HE de <i>P .lentiscus</i> L .....	49
III.4. Évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH.....	55
Conclusion .....	60
Références bibliographique.....	63
Annexes	

## *Liste des figures*

Figure 1: Arbre de <i>P. lentiscus</i> L .....	4
Figure 2: Feuille de <i>P. lentiscus</i> L.....	5
Figure 3: Fleurs de <i>P. lentiscus</i> L.....	6
Figure 4: Fruits de <i>P. lentiscus</i> L.....	6
Figure 5: Résine de <i>P. lentiscus</i> L .....	7
Figure 6: Répartition géographique de <i>P. lentiscus</i> L dans le monde .....	8
Figure 7: Aire de répartition du <i>P.lentiscus</i> L en Algérie.....	9
Figure 8: Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes .....	11
Figure 9: Structure d'isoprène .....	12
Figure 10: Structures chimiques de quelques monoterpènes extraits des HE.....	13
Figure 11: Structures chimiques de quelques sesquiterpènes extraits des HE.....	13
Figure 12: Structures chimiques de quelques composés aromatiques extraits des HE	14
Figure 13: Schéma du principe de la technique de l'entraînement à la vapeur d'eau .....	20
Figure 14: Schéma du dispositif de l'hydro distillation.....	21
Figure 15: Schéma d'extraction par Hydro diffusion .....	22
Figure 16: Principe de l'expression à froid .....	22
Figure17: Montage hydro distillation assistée par micro-ondes.....	23
Figure18: Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne.	27
Figure19: Carte de situation géographique de la zone d'étude (Région de Bastama,Djelfa)	38
Figure20: Huile essentielle commerciale de <i>P. lentiscus</i> L.....	39
Figure21: Arbuste de <i>P.lentiscus</i> L. dans son habitat naturel .....	39

Figure22: Dispositif d'hydro distillation utilisé type Clevenger .....	40
Figure23: Illustration de la méthode des aromatoigrammes sur boite de Pétri .....	45
Figure 24: Mécanisme de réduction du radical libre DPPH.....	46
Figure25: Courbes de régression linéaire de l'activité anti-radicalaire (DPPH•) d 'antioxydant de référence (BHT) en fonction de la concentration.....	55
Figure26: Courbes de régression linéaire de l'activité anti-radicalaire (DPPH•) d 'antioxydant de référence (AA) en fonction de la concentration.....	55
Figure27: Courbes de régression linéaire de l'activité anti-radicalaire (DPPH•) des HE de <i>Pistacia lentiscus</i> L (extraite au laboratoire) en fonction de la concentration.....	56

## *Liste des tableaux*

Tableau 1: Classification systématique de <i>P. lentiscus</i> L.....	7
Tableau 2: Dénomination de <i>P. lentiscus</i> L selon les pays.....	8
Tableau 3: Quelques molécules contenues dans l'HE de différente partie du <i>P. lentiscus</i> L.....	17
Tableau 4: caractéristiques physico-chimiques suivantes des HE.....	18
Tableau 5: Les tests les plus utilisés pour évaluer l'activité antioxydante .....	31
Tableau 6: Réactifs et matériels utilisés.....	37
Tableau 7: Liste des souches bactériennes testées.....	41
Tableau 8: Diamètres des zones d'inhibitions en (mm) des différentes souches aux antibiotiques testés.....	50
Tableau 9: Estimation de l'activité antimicrobienne en fonction de la zone d'inhibition.....	51
Tableau 10: Diamètres des zones d'inhibition en (mm) induites par l'HE de <i>P. lentiscus</i> L vis-à-vis les souches testées .....	52

# *Introduction*

## Introduction

Depuis de nombreux siècles, les plantes ont constitué le premier et le principal outil thérapeutique à la disposition de l'homme. Parmi les quelque 500 000 espèces végétales estimées sur Terre, environ 100 000 possèdent des vertus médicinales grâce à leurs principes actifs qui interagissent directement avec l'organisme, procurant des bénéfices dont les médicaments traditionnels sont fréquemment démunis (Gilles, 1976, Iserin, 2001). Dans diverses civilisations et sur tous les continents, les pharmacopées végétales se sont développées et enrichies grâce à l'empirisme. Avec un don d'observation inégalé, les anciens ont pu mettre en évidence les propriétés curatives ou préventives des plantes médicinales, qui n'ont d'ailleurs jamais été démenties par l'usage (Carillon, 2009). C'est pourquoi, d'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), près de 80% de la population mondiale a encore recours aujourd'hui à la médecine traditionnelle.

Grâce à la diversité de ses climats et à sa position géographique stratégique, l'Algérie abrite une grande variété d'espèces naturelles, qui représentent un patrimoine phytogénétique de très grande importance.(Snoussi *et al.*, 2003).

La flore algérienne se caractérise par une remarquable diversité biogéographique, combinant des influences méditerranéennes, sahariennes et paléo-tropicales. Ce patrimoine est estimé à plus de 3 000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques (Ozenda, 1977). Ces espèces sont pour la plupart spontanées, avec un nombre non négligeable (environ 15%) d'espèces endémiques (Ozenda, 1977 ; Cheriti, 2000), ce qui a conféré à la pharmacopée traditionnelle locale une richesse inestimable.

Si les plantes aromatiques et médicinales sont utilisées depuis l'antiquité comme conservateurs, colorants, exhausteurs de goût ou remèdes symptomatiques adaptés aux pathologies légères, la valorisation de ces ressources est devenue aujourd'hui indispensable à plus grande échelle. En effet, elles font désormais l'objet d'études approfondies, en particulier dans les industries chimique, pharmaceutique et alimentaire. Elles sont devenues de véritables « produits industriels » associés à de nouveaux concepts tels que la phytothérapie, l'aromathérapie, les nutraceutiques ou les cosméceutiques, élargissant ainsi le champ de leur utilisation. Leurs nouvelles applications innovantes incluent également une forte valeur ajoutée dans les aliments fonctionnels, l'élevage et la protection des cultures en agriculture (Bendjabeur, 2019).

C'est dans cette optique de valorisation des ressources naturelles locales que s'inscrit notre travail de recherche. Nous avons porté notre attention sur une espèce emblématique poussant à l'état sauvage dans le pays *P. lentiscus L.* (le Lentisque pistachier) qui est un arbuste à feuilles persistantes de la famille des Anacardiacees. Ce dernier également connu sous le nom de Drou ou Darw en Algérie en mettant l'accent sur ses métabolites secondaires de nature terpénique tel que les huiles essentielles, également appelées huiles odoriférantes volatiles.

Les HE sont liquides huileux aromatiques et complexes, extraits de différentes parties de la plante telles que les feuilles, les écorces, les fleurs, les graines ou les bourgeons (Tongnuanchan et Benjakul, 2014). Témoinnant de leur immense intérêt économique et thérapeutique, il existe aujourd'hui au moins 150 types d'huiles essentielles commercialisées de façon majeure sur le marché international (Kusuma et Mahfud, 2017).

Cette étude a pour objectif d'évaluer in vitro les propriétés biologiques de l'HE de *P.lentiscus L* , à travers l'étude de son activité antimicrobienne vis-à-vis plusieurs souches bactériennes ainsi que son activité antioxydante.

Notre travail est structuré en trois chapitres :

- ❖ Le premier chapitre est dédié à l'étude bibliographique de la plante *P.lentiscus L* ainsi qu'aux principales propriétés des huiles essentielles.
- ❖ Le deuxième chapitre présente les matériaux utilisés et décrit les différentes méthodes expérimentales appliquées.
- ❖ Le troisième chapitre aborde les différents résultats obtenus et leurs discussions.

*Chapitre I*  
*Synthèse Bibliographique*

## **I.1. *Pistacia lentiscus* L**

### **I.1.1. Définition**

*Pistacia lentiscus* L (Le Pistachier lentisque) est une espèce médicinale appartenant à la famille des Anacardiaceae, est un arbrisseau du genre *Pistacia* (Bozorgi et *al.*, 2013). Souvent désigné comme l'arbre à mastic, On le rencontre dans les régions méditerranéennes où il se développe naturellement sur divers types de sols, notamment sablo-argileux, argileux, sableux et limoneux (Amhamdi, et *al.*, 2009 ; Remilaa et *al.*,2015)

Il a le potentiel de se régénérer après un incendie de forêt ou une déforestation (LADD et *al.*, 2005). Depuis l'époque antique, elle est réputée pour ses vertus thérapeutiques. En fonction de la partie de la plante exploitée, elle est réputée pour soigner diverses affections telles que les ulcères, l'hypertension, la toux, les douleurs de gorge, les brûlures, l'eczéma ou encore les calculs rénaux et les douleurs lombaires (Beldi et *al.*, 2021).

### **I.1.2. Morphologie et description botanique**

D'après les travaux et études de spécialistes en botanique, voici description détaillée des divers organes du *P. lentiscus* L .

#### **I.1.2.1. Arbre**

Le *P. lentiscus* L est un arbre ou un arbuste buissonnant dioïque persistante ; aromatique (odeur de résine) vert grisé, rougissant en hiver, qui peut atteindre jusqu'à 4 à 5 mètres de hauteur (Figure 01) (Lemaistre, 1959).



**Figure 1: Arbre de *P. lentiscus* L (Charef Mahmoud, 2011).**

#### **I.1.2.2. Écorce**

Les jeunes branches présentent une écorce rougeâtre qui s'assombrit et devient grise au fil du temps. Quand l'écorce est entaillée, une résine incolore et au

parfum fort s'échappe, dotée de caractéristiques irritantes (Belfadel, 2009).

### **I.1.2.3. Bois**

Le bois arbore des nuances progressives qui passent du blanc au jaune, puis au rose, parfois ponctué de veines jaunes (Fatnassi, 2019).

### **I.1.2.4. Système racinaire**

Le *P. lentiscus* L présente un système racinaire particulièrement bien développé. La graine pousse en développant une racine pivotante qui peut s'enfoncer jusqu'à 7 mètres, accompagnée de racines latérales capables de se propager sur 5 à 10 mètres. Cette structure radicaire lui confère la capacité de survivre lors des sécheresses en recherchant l'humidité dans le sol, même dans des terrains peu riches et secs (Lemaistre J, 1959)

### **I.1.2.5. Feuilles**

Sont disposées en alternance, de caractère persistant et constamment paripennées, elles présentent entre 3 et 5 paires de folioles elliptiques, émoussées, et coriaces. Sur le dessus, elles sont d'un vert sombre, tandis que sur le dessous, elles présentent une teinte de vert clair. Le limbe est continu, tandis que le pétiole possède une aile étroite. (Figure 02) (Lemaistre, 1959). Les feuilles du *P. lentiscus* L ont une durée de vie de 2 ans (Jeffrey, 2000).



**Figure 2: Feuille de *P. lentiscus* L (Merzougui,2015)**

### **I.1.2.6. Fleurs**

Le temps de floraison est d'avril à juin. Toutes les fleurs sont très petites, larges de 2-3 mm, vertes ou rougeâtres, denses, unisexuées, disposées en épis cylindriques courts, serrés, latéraux à l'aisselle des feuilles. On distingue:

- Fleur femelle à un calice comportant 3 ou 4 lobes et un 1 ovaire de 3 carpelles concrescents et 3 stigmates arqués en dehors. La fleur femelle est de

couleur vert jaune (Figure 3.A) (Aït Youssef. M, 2006).

- Fleur mâle à un calice comportant 5 sépales au fond duquel sont insérées 5 étamines, à filets courts soudés à la base et anthères rouges, tétragones. la fleur mâles est rouge foncé (Figure 03.B) (Aït Youssef .M, 2006).



A. Fleur femelle



B. Fleur mâle

**Figure 3: Fleurs de *P. lentiscus* L (Benmehdi, 2012).**

#### I.1.2.7. Fruits

La floraison se produit entre Mars et Avril, et est suivie de la formation d'un fruit charnu qui mûrit en automne. En cours de maturation, la couleur de la pulpe évolue du blanc au noir, en passant par une teinte rouge intermédiaire. La couleur du fruit est un bon indicateur de la viabilité des graines : les fruits noirs contiennent principalement des graines viables, tandis que ceux de couleur rouge ou blanche sont souvent dépourvus de graines (Figure 04) (Verdu et Garcia-Fayos , 1998).



**Figure 4: Fruits de *P. lentiscus* L (Benmehdi, 2012).**

### I.1.2.8. Mastic ou Résine

Le mastic est obtenu en pratiquant des incisions à plusieurs reprises des tiges pendant l'été. Cette technique autorise la production de 4 à 5 kg de mastic par arbre. Ce produit résineux de teinte jaune pâle, transparent et libère une odeur intense balsamique (figure 05) (Dorvault, 1928).



Figure 5: Résine de *P. lentiscus* L (More et white, 2005).

### I.1.3. Classification botanique

Le tableau 01 représente la classification systématique de *P. lentiscus* L (Tison Et Jean-Marc, 2014)

Tableau 1: Classification systématique de *P. lentiscus* L (Tison Et Jean-Marc, 2014)

<b>Domaine</b>	<i>Biota</i>
<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Sous règne</b>	<i>Viridiaeplantae</i>
<b>Embranchement</b>	<i>Spermaphytes</i>
<b>Sous embranchement</b>	<i>Angiospermes</i>
<b>Classe</b>	<i>Equistopsida</i>
<b>Sous classe</b>	<i>Magnoliidae</i>
<b>Superordre</b>	<i>Rosanae</i>
<b>Ordre</b>	<i>sapindales</i>
<b>Famille</b>	<i>Anacardiaceae</i>
<b>Sous famille</b>	<i>Anacardioideae, Pistaciaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Pistacia</i>
<b>Espèce</b>	<i>Pistacia lentiscus</i>

L'espèce *P. lentiscus* L possède plusieurs noms vernaculaires selon les pays  
(Tableau 02)

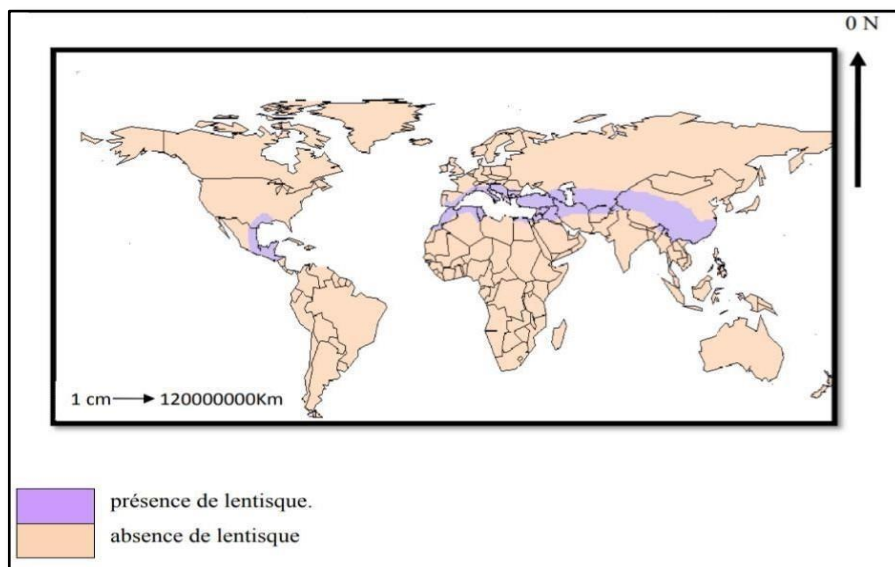
**Tableau 2: Dénomination de *P. lentiscus* L selon les pays (Bougherara, 2015)**

Pays	Nom vernaculaire
Angleterre	Chios mastic tree
Allemagne	Mastixbaum
France	Arbre au mastic, Lentisque
Espagne	Lentisco
Afrique du nord	Derw, الضرو
Est Algérien	Ghadoum
Berbère	Tidket, Tidkst

#### I.1.4. Répartition géographiques

##### I.1.4.1. Dans le monde :

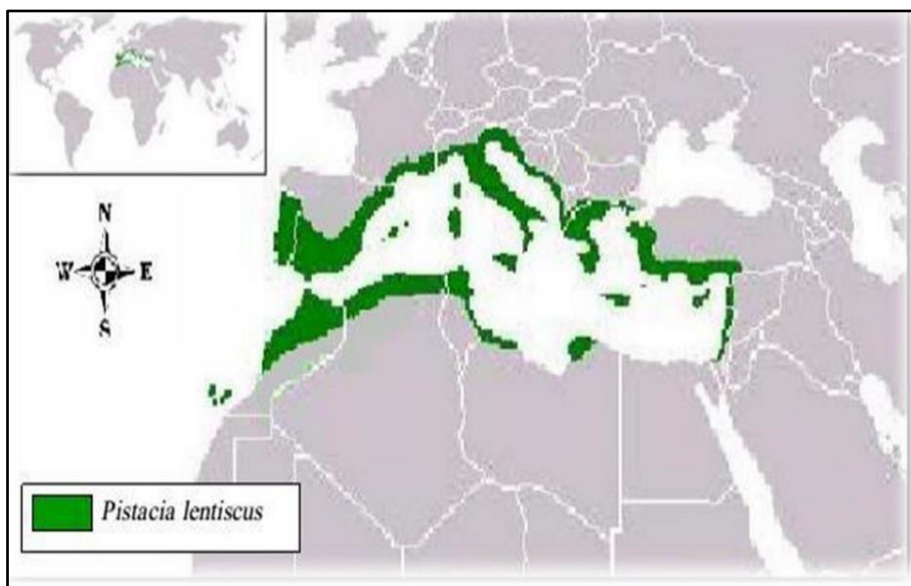
Le *P. lentiscus* L est un arbuste que l'on rencontre fréquemment dans les habitats subhumides, semi-arides et arides autour de la Méditerranée en Europe, en Afrique et en Asie, ainsi qu'aux Canaries et au Portugal. On le retrouve notamment en Corse et en Charente-Maritime (Figure 06). (Abdelliche Et Benabdalehh ,2016).



**Figure 6: Répartition géographique de *P. lentiscus* L dans le monde (Belfadel, 2009)**

### I.1.4.2. En Algérie

Le *P.lentiscus* L se situe dans la zone thermo-méditerranéenne. Elle se trouve approximativement à Saida dans sa limite méridionale et aucun signalement de sa présence n'a été fait au sud de l'Atlas saharien. On le trouve sur tous les types de terrain, dans l'Algérie subhumide et semi-aride, spécifiquement dans le bassin du Soummam où il est associé au pin d'Alep, au chêne vert et au chêne liège (Figure 07). (Abdelliche Et Benabdalehh ,2016).



**Figure 7: Aire de répartition du *P.lentiscus* L en Algérie. (Quezel et Santa, 1962)**

### I.1.5. Exigences écologiques du *P.lentiscus* L

*P. lentiscus* L se développe dans un climat chaud, semi-aride et subhumide. Dans les zones humides, on observe une plus grande prévalence du *P. lentiscus* L dans les plaines que sur les hauteurs, ce qui contraste avec sa croissance majoritairement en hauteur dans les régions semi-arides. Dans les zones arides et au climat sec, *P. lentiscus* L tend à se raréfier, à l'exception de quelques régions où des facteurs compensatoires (zones temporairement humides, sol argileux ou limon argileux) sont présents (Bensalem, 2015).

*P. lentiscus* L est un petit arbre qui prospère sur des sols siliceux et arides, mais il peut également se développer sur des sols calcaires. Par conséquent, cette plante est classée comme thermophile et xérophile. *P.lentiscus* L est une espèce qui n'est pas influencée par les caractéristiques physico-chimiques du sol, mais qui favorise des sols pauvres en phosphore et potassium, associés à divers niveaux de carbonate de calcium et d'azote (Dogan *et al.*, 2003).

On considère *P. lentiscus* L comme une espèce qui ne se soucie pas des

Variations environnementales, sa répartition témoignant de son ajustement optimal aux conditions globales offertes par son habitat. L'explication de l'adaptation du *P. lentiscus* L à la sécheresse réside dans le fait qu'il n'y a pas de stomates sur la face supérieure des feuilles, tandis qu'ils sont présents sur la face inférieure. Ses racines sont robustes et bien ancrées, se fixant solidement sur les pentes abruptes et les surfaces rocheuses, ce qui en fait un excellent végétal de couverture (Saadoun, 2002).

### **I.1.6. Usages de *P. lentiscus* L**

#### **I.1.6.1. Usage moderne**

➤ **Alimentation:** La gomme de mastic est utilisée dans les traditions comme chewing-gum et comme additif alimentaire (Dogan *et al.*, 2003). Elle est mélangée avec de la farine et de la pâte d'amande pour former un beurre aphrodisiaque, souvent dilué dans du thé dans plusieurs pays d'Orient et d'Afrique du Nord (Rivera-Nuñez Et Obón De Castro, 2022)

➤ **Cosmétique:** Fabrication de parfum, adhésif dentaire (Dogan *et al.*, 2003).

➤ **Industriel:** *P. lentiscus* L est utilisé dans l'industrie pour la production d'éclairage (Bonnier Et Douin, 2023) et la fabrication de savons.

➤ **Vétérinaire:** La plante du *P. lentiscus* L est couramment utilisée, tant dans la médecine traditionnelle humaine que vétérinaire. Sa consommation par les moutons et les chèvres réduit le risque d'infection par les larves contagieuses (Rogosic *Et Al.*, 2008 ). Dans cette optique, l'huile du fruit, qui contient une grande quantité d'acides gras insaturés, est utilisée comme composant des aliments pour le bétail (Charef *et al.*, 2008).

#### ➤ **En dentisterie:**

Le mastic agit comme un antiseptique oral et resserre les gencives, et pour cette raison, il est utilisé pour les soins dentaires dans dentifrices et chewing-gums (Koutsoudaki *et al.*, 2005).

#### ➤ **En chirurgie:**

Des sous-produits de gomme mastic sont utilisés pour production de points spéciaux qui sont finalement absorbés par le corps humain (Koutsoudaki *et al.*, 2005).

### **I.1.6.2. Usage traditionnel**

Des études pharmacologiques antérieures ont indiqué que l'huile grasse extraite des fruits de *P.lentiscus* L est utilisée pour soigner les maladies respiratoires, la diarrhée et la pharyngite (Boukeloua *et al.*, 2016).

#### **➤ Gomme de mastic**

La gomme a été utilisée par les guérisseurs traditionnels pour le soulagement de l'inconfort abdominal supérieur, des maux d'estomac (Amhamdi, *et al.*, 2009). Il a été découvert que la gomme de mastic a été prouvée pour tuer le cancérigène bactérie *Helicobacter pylori* qui est responsable des ulcères gastro-duodénaux, très efficacement par conséquent, cliniquement, et elle est efficace dans le traitement des ulcères gastriques bénins et des ulcères duodénaux (Dogan .Y *et al.*, 2003).

#### **➤ Huile essentielle**

L'huile essentielle de *P. lentiscus* L est connu pour ses vertus thérapeutiques avec en ce qui concerne les problèmes lymphatiques et circulatoires (Boudieb *et al.*, 2019).

## **I.2. Les huiles essentielles**

### **I.2.1 .Historique**

Toutefois, l'histoire des HE remonte à 2000 ou 3000 ans avant cette période. Les Égyptiens utilisaient déjà de l'essence de térébenthine et il est fortement suggéré que certains parfums étaient obtenus par le biais d'huiles distillées. La distillation, initialement développée par les Égyptiens, Indiens et Perses, a connu une amélioration significative au IXe siècle grâce à l'influence des Arabes qui ont notamment contribué à l'évolution de l'alambic attribuée à Avicenne (980-1037). La discipline des huiles essentielles s'est ensuite répandue en Europe lors des croisades au XIIIe siècle. C'est principalement des pharmaciens qui ont dirigé l'évolution des méthodes de production et de la connaissance de ces extraits.

Au cours des siècles ultérieurs, les HE étaient avant tout exploitées pour leurs propriétés curatives et leur production était relativement limitée, ce qui n'est plus le cas actuellement. Les huiles essentielles sont désormais intégrées dans notre vie courante, leur emploi s'étendant à divers secteurs tels que les industries pharmaceutiques et cosmétiques, l'agroalimentaire, l'aromathérapie, ainsi qu'en agriculture où elles servent de pesticides naturels. (Aissata Camara ,2009).

### **I.2.2. Définition**

D'après Budavari (1996 ), « les HE, aussi connues sous le nom d'essences végétales, sont des substances huileuses qui se distinguent par leur caractère volatil, leur parfum distinctif et leur teinte généralement incolore ou légèrement colorée ». Elles sont obtenues à partir de la matière végétale par divers moyens, y compris la distillation à la vapeur d'eau, l'extraction mécanique, le tapping ou encore l'enfleurage.

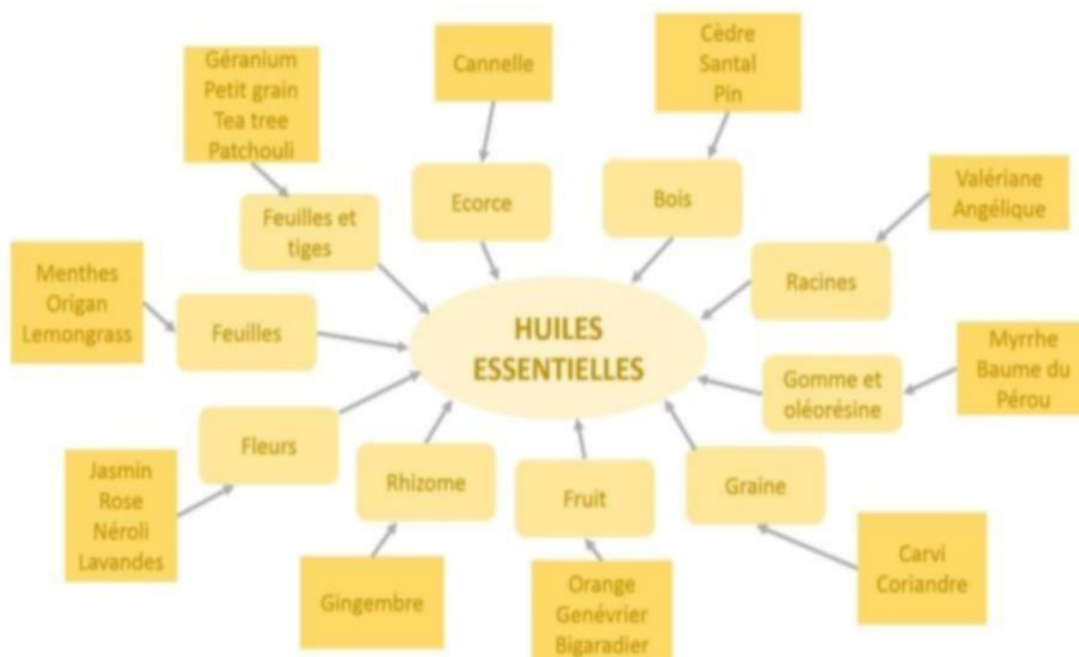
Selon AFNOR (2000), « les HE sont des produits dérivés de matières premières végétales, soit par extraction à la vapeur d'eau, soit grâce à des techniques mécaniques appliquées à l'épicerie de Citrus, soit via distillation à sec ».

Selon Cavalli (2002), « les HE sont des produits généralement assez complexes qui contiennent les principes volatils présents dans les plantes et qui ont été plus ou moins modifiés durant leur préparation ».

Et par la suite la Commission de la Pharmacopée Européenne (2008), définit l'HE comme un « Produit odorant, généralement de composition complexe, dérivé d'une matière première végétale définie botanique ».

### **I.2.3. Répartition des huiles essentielles dans la plante**

Les HE sont largement réparties dans le règne végétal, les plantes capables d'élaborer les constituants qui composent ces essences sont désignées sous le terme de plantes aromatiques. Elles peuvent être extraites à partir de tous les organes végétaux : sommités fleuries, écorces, racines, rhizomes, fruits, bois, etc. (Figure 08). Au sein d'une même plante, elles peuvent être présentes à la fois dans différents organes. Leur composition peut varier d'une partie de la plante à l'autre, elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors soit stockées dans une cellule transformée en cellule à essence (Lamiacées), ou dans des poils glandulaires, des poches sécrétrices, des canaux sécréteurs (Bouras M, 2018).



**Figure 8: Exemples d’huiles essentielles issues de différentes parties de plantes (Deschepper, 2017).**

#### **I.2.4. Composition chimique des huiles essentielles**

Comme toute substance, les HE présentent une composition chimique qui peut être analysée et varie considérablement. On dénombre environ des milliers de composants isolés, et il y a encore beaucoup à explorer (Bacis, 1999).

Ces composants sont principalement regroupés en deux catégories, définies par des origines biogénétiques différentes:

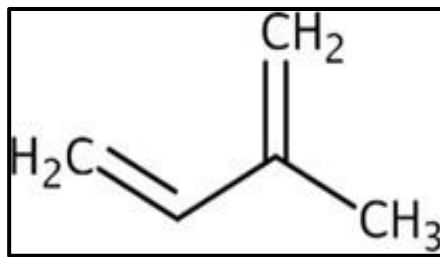
- ❖ Groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques): C’est le groupe majeur et le plus important
- ❖ Groupe des composés aromatiques dérivés du phenyl propane, beaucoup moins fréquents.

Ces HE peuvent également peuvent contenir plusieurs produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des composants non volatils (Bruneton, 1999).

##### **I.2.4.1. Terpénoïdes: (Terpènes)**

Les terpènes proprement dits sont principalement des liquides volatils, rarement des solides, ils sont des hydrocarbures formés par la combinaison de deux unités isopréniques ou plus.

Il s'agit de polymères d'isoprène ayant la formule chimique  $(C_5H_8)_n$  (Figure 09).



**Figure 9: Structure d'isoprène (Macheix *et al.*, 2005).**

Les changements structurels dans ce groupe sont déterminés par:

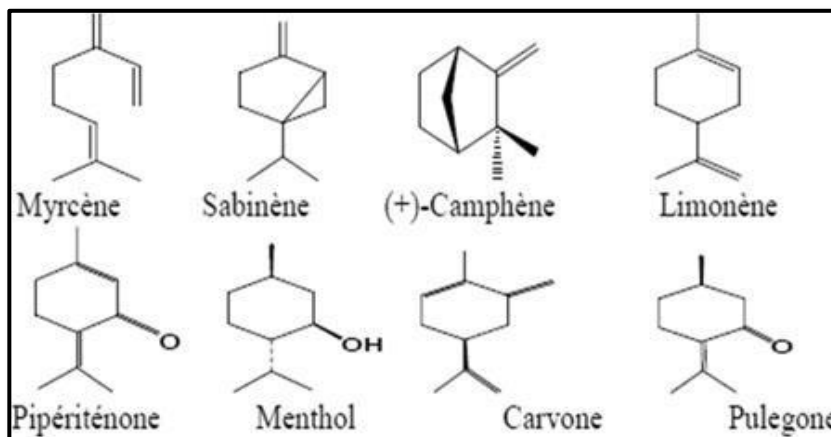
- le nombre d'atomes de carbone qu'il contient:
- Monoterpènes C<sub>10</sub> (Figure 10).
- Sesquiterpènes de 15 carbones (Figure 11).
- Diterpènes C<sub>20</sub>.
- Nature saturée ou insaturée des liaisons;
- Organisation en ligne ou en cycle;
- Disposition spatiale (formes de chaise, de bateau ou de trièdre) ;

Caractéristiques des groupes fonctionnels:

- ✓ Alcool terpénique R-OH.
- ✓ Cétones RI-CO-R<sub>2</sub>.
- ✓ Aldéhydes de type R-CHO.
- ✓ Esters de type R-COO-R.
- ✓ Ethers de type R<sub>1</sub>-O-R<sub>2</sub>.

#### **I.2. .4.1.1. Monoterpènes (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>) :**

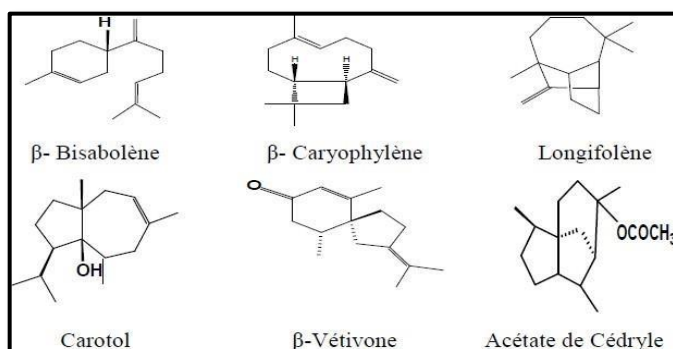
Sont des hydrocarbures aliphatiques les plus simples, qui constituent la majorité des terpènes (90%), se retrouvent dans les huiles essentielles. Ils contiennent deux unités d'isoprène liées « tête à queue ». Ils peuvent être de nature acyclique, monocyclique ou bicyclique (El Haib. A ,2011, Bruneton, 1993).



**Figure 10: Structures chimiques de quelques monoterpènes extraits des HE.**  
(Finar,1994).

#### I.2.4.1.2. Sesquiterpènes (C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>)

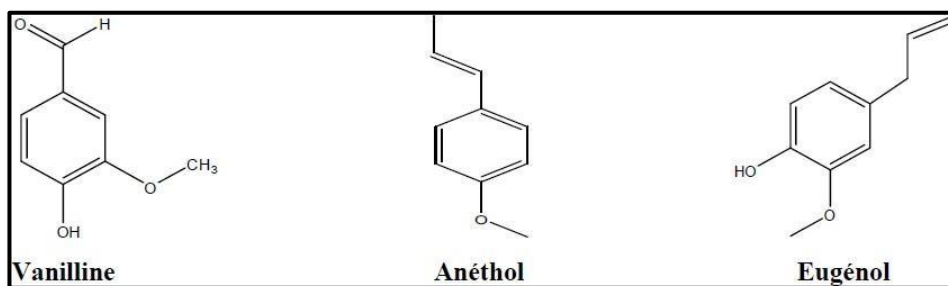
Il s'agit d'une combinaison de trois unités isopréniques. Ils présentent une diversité plus abondante que les monoterpènes. On les classe en : monocycliques, bicycliques, tricycliques et polycycliques (El Haib. A ,2011 , Ernest J. P , 2008). Ils renferment également des fonctions telles que : alcools, cétones, aldéhydes, esters (Bruneton, 1993).



**Figure 11: Structures chimiques de quelques sesquiterpènes extraits des HE.**  
(Finar,1994).

#### I.2.4.2. Composés aromatiques

Cette classe comporte des composés aromatiques volatils dérivés du phényl propane (Un noyau aromatique est associé à une chaîne de trois carbonnes). Cette catégorie inclut des substances aromatiques notables telles que la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et de nombreuses autres. On les retrouve plus souvent dans les huiles essentielles de la famille des Apiaceae (par exemple : persil, anis.) (Alloune , 2015).



**Figure 12: Structures chimiques de quelques composés aromatiques extraits des HE (Finar, 1994).**

#### **I.2.4.3. Facteurs de variabilité de la composition chimique**

La composition chimique des HE varie considérablement, même au sein d'une même espèce, en raison de diverses influences. Ces variations, appelées chimio variétés, peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, notamment l'origine botanique, l'organe de production, l'emplacement géographique, les conditions climatiques dans lesquelles la plante a évolué, ainsi que la façon dont les plantes sont conservées. (Samate A. D ,2002).

#### **I.2.4.4. Composition chimique de l'huile essentielle de *P. lentiscus* L**

L'étude de la composition volatile de l'huile essentielle de *P. lentiscus* L a fait l'objet de nombreux travaux à travers le bassin méditerranéen. Grâce à l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), outil de référence pour l'identification précise des métabolites secondaires, une grande hétérogénéité chimique a été mise en évidence.

Le Tableau ci-dessous présente quelques molécules contenues dans l'HE du *P.lentiscus* L extraites de différentes parties de la plante.

**Tableau 3: Quelques molécules contenues dans l'HE de différente partie du *P.lentiscus L***

Molécule	Parties de la plante			
	Rameaux feuillés (Arabi A. <i>et al.</i> ,2017)	Partie aérienne (Beghlal D. <i>et al.</i> ,2016)	Feuilles (Kıvçak B. <i>et al.</i> ;2004)	Tiges (Kıvçak B. <i>et al.</i> ;2004)
$\alpha$ – pinene	42,13	5,1	0,5	19,4
Sabinene	6,46	3,5	1,8	23,2
Terpinen-4-ol	6,22	19,3	29,2	5,7
$\gamma$ -Terpinene	6,21	5,9	/	1,8
Charyophelene	4,43	/	/	/
$\alpha$ -Terpinene	4,1	1,3	/	1,1
$\alpha$ -Terpineol	2,95	/	3,5	0,4
$\alpha$ -Terpinolene	2,18	/	/	/
$\alpha$ -Cadinol	1,98	/	3	0,6
Limonene	1,8	8,1	0,4	6,9
$\beta$ -Pinene	1,76	0,9	1,1	2,8
$\beta$ -Phellandrene	1,75	0,6	/	2,3
Epi-Cadinol	1,55	/	/	/
Z- $\beta$ -Ocimene	1,5	/	/	/
$\beta$ -Myrcene	1,36	2,3	/	/
Germacrene D	1,35	/	0,7	14,1
Camphen	1,17	1,1	/	0,3
2-Undecanone	1,05	/	2,8	/
Bornyl acetate	1,03	/	1,4	0,1

## 1.2.5. Propriétés des HE

### 1.2.5.1. Propriétés physico-chimiques

D'après (Djeddi. S , 2012), les huiles essentielles possèdent les caractéristiques physico-chimiques suivants (Tableau 04).

**Tableau 4: caractéristiques physico-chimiques suivantes des HE**

Propriétés	Description scientifique
<b>Caractère physique</b>	
<b>État physique</b>	Généralement liquides à température ambiante.
<b>Volatilité</b>	Substances aromatiques volatiles à température ambiante
<b>Densité relative</b>	Densité inférieure à celle de l'eau, variant entre 0,85 et 0,95.
<b>Indice de réfraction</b>	Généralement élevés
<b>Point d'ébullition</b>	Température d'ébullition comprise entre 160 °C et 240
<b>Caractère chimique</b>	
<b>Inflammabilité</b>	Composés facilement inflammable
<b>Solubilité</b>	Solubles dans les solvants organiques et insolubles dans l'eau
<b>Activité optique</b>	Souvent optiquement actifs.
<b>Oxydation</b>	Oxydation progressive conduisant à une coloration jaunâtre

**I.2. .5.2. Propriétés organoleptiques :**

Ces parfums, qui ont une durée de conservation restreinte, peuvent facilement se dégrader et sont sensibles à l'oxydation. Elles se manifestent en tant que substances visqueuses, pouvant être parfaitement fluides, ou même résineuses, émettant des arômes puissants et volatiles. Ces produits stimulants sont employés aussi bien en intérieur qu'en extérieur du corps, parfois sous forme pure, la majorité du temps sont-ils dilués dans de l'alcool ou dans un autre solvant adéquat (Bardeau, 1976).

D'après (Baudoux, 2001) trois aspects peuvent être régulés :

- ❖ **La couleur:** Chaque HE a une couleur unique, qui contribue à sa reconnaissance et à l'évaluation de sa qualité. Cette couleur peut changer au fil du temps et par l'oxydation, se dirigeant généralement vers une couleur brunâtre.
- ❖ **L'odeur :** Chaque HE possède un parfum unique, toutefois, pour la

reconnaître, il faut avoir une sensibilité olfactive fine.

❖ **La saveur** : Habituellement, les HE de moindre qualité ou contrefaites présentent un goût déplaisant qui s'intensifie avec le temps

### **I.2.6. Conservation des HE**

Les HE sont très délicates à cause de leur évaporation rapide et se dégradent en présence de lumière, de chaleur et d'oxygène. Pour maintenir leurs caractéristiques, elles doivent être gardées à l'écart de ces facteurs, dans des flacons hermétiques en verre ambré, aluminium ou acier inoxydable à une température ne dépassant pas +6°C (Alloune, 2015, Valnet J, 1984).

### **II.2.7. Toxicité des HE**

Malgré leurs vertus thérapeutiques et cosmétiques reconnues les huiles essentielles doivent être manipulées avec soin compte tenu de leur toxicité potentielle. Quelques-unes d'entre elles renferment des substances hautement irritantes pour la peau, comme le thymol ou le carvacrol. Certaines, contenant une forte concentration en cinnamaldéhyde, peuvent être à l'origine de réactions allergiques.

De plus, les HE d'agrumes qui contiennent des furocoumarines peuvent être photo toxique si elles sont exposées à la lumière du soleil.

En outre, certaines HE contiennent des cétones comme l' $\alpha$ -thuyone, reconnues pour leur caractère neurotoxique, ce qui en fait une menace pour le système nerveux si elles sont mal utilisées (Guba, 2001).

Les huiles essentielles représentent un groupe complexe de métabolites secondaires volatils synthétisés par les plantes aromatiques. Elles sont principalement constituées de monoterpènes, de sesquiterpènes et de leurs dérivés oxygénés, auxquels sont attribuées de nombreuses activités biologiques d'intérêt pharmacologique et industriel (Bakkali et al., 2008). Grâce à leur composition chimique diversifiée, les huiles essentielles jouent un rôle écologique important dans la protection des plantes contre les agents pathogènes, les insectes et les stress environnementaux.

### **I.2.8. Méthodes d'extraction d'HE**

La distillation, qui est la technique la plus ancienne et courante pour l'extraction d'huiles essentielles, fait partie des nombreuses méthodes disponibles. Des méthodes plus modernes ont été instaurées pour optimiser le rendement ou la qualité des huiles essentielles obtenues, réduire le temps d'extraction, minimiser la quantité de solvant utilisée et accélérer la cinétique d'extraction (Besombes .C, 2008).

## I.2.8.1. Techniques d'extractions conventionnelles

### I.2.8.1.1. Distillation

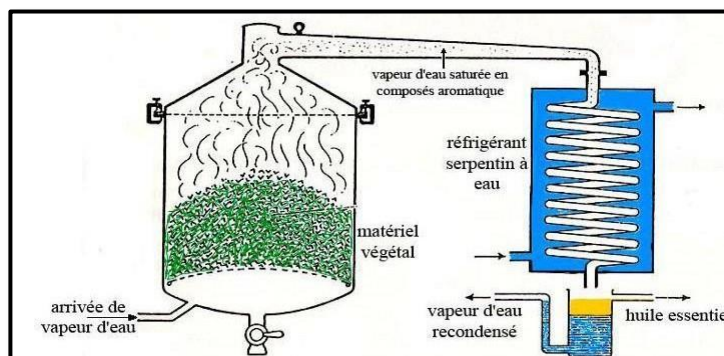
Il existe différentes méthodes utilisant ce principe :

#### I.2.8.1.1.1. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur constitue la technique la plus utilisée et la plus aisée à mettre en œuvre pour la production d'huiles essentielles et demeure sans doute la plus rentable, vraisemblablement en raison de l'investissement matériel relativement peu important.

L'extraction par distillation par entraînement à la vapeur d'eau sous basse pression. Le procédé consiste à mettre la partie souhaitée du végétal dans une cuve. Celle-ci va être traversée par de la vapeur d'eau qui va entraîner les molécules aromatiques de la plante. Ce mélange va passer dans une colonne réfrigérante où il va se condenser. L'huile essentielle se sépare par décantation. En fonction de sa densité, elle peut être recueillie à deux niveaux:

- Au niveau supérieur du distillat, si elle est plus légère que l'eau.
- Au niveau inférieur du distillat, si elle est plus dense que l'eau. (Samate A. D. .2002, Koziol N ,2015)



**Figure 13: Schéma du principe de la technique de l'entraînement à la vapeur d'eau(Lucchesi, 2005)**

#### I.2.8.1.1.2. Hydro distillation

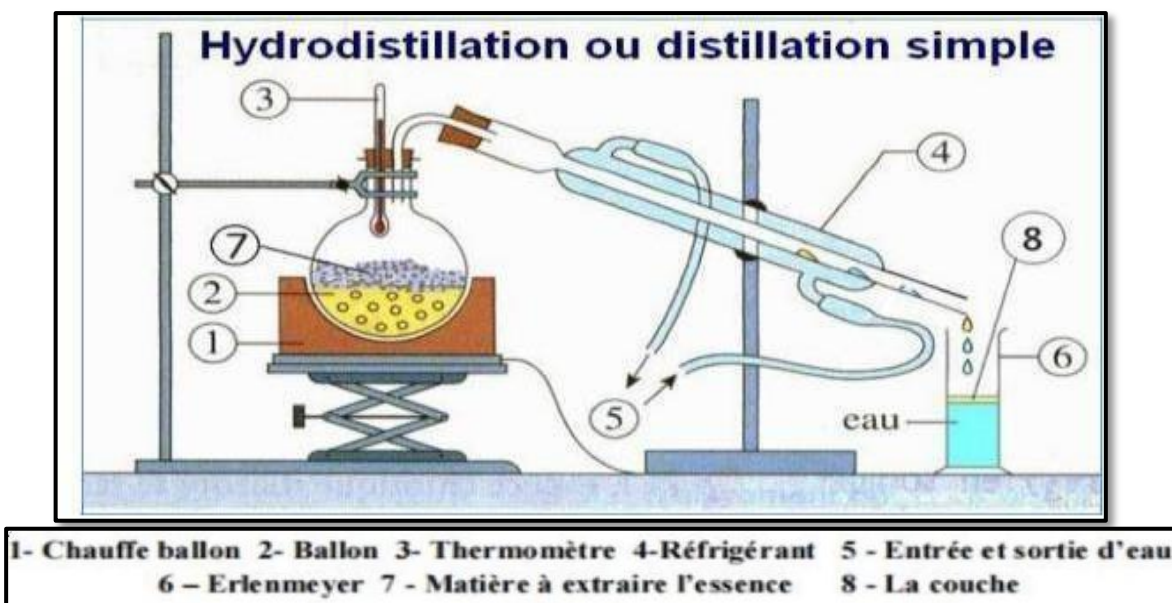
L'hydrodistillation est la méthode la plus couramment utilisée pour l'extraction des huiles essentielles. Elle consiste à immerger la matière végétale dans l'eau puis à porter le mélange à ébullition. Sous l'effet de la chaleur, les cellules végétales se rompent et libèrent

les composés aromatiques qui sont entraînés par la vapeur d'eau sous forme d'un mélange azéotropique (Jouault, 2012).

Le mélange « eau-huile essentielle » s'évapore à une température inférieure à celle des constituants pris séparément. Ainsi, sous pression atmosphérique, l'évaporation se produit autour de 100 °C, ce qui permet l'extraction de composés aromatiques dont les températures d'ébullition sont généralement très élevées (Mehani, 2015).

Après condensation, le distillat se sépare en deux phases, une phase aqueuse et une phase organique correspondant à l'huile essentielle, en raison de leur différence de densité. Cette opération peut être réalisée avec ou sans recyclage de la phase aqueuse (Fekih N., 2014).

À l'échelle du laboratoire, l'appareil de type Clevenger modifié permettant la cohobation est le dispositif le plus utilisé conformément aux recommandations de la Pharmacopée Européenne (Lucchesi, 2005). La durée de l'hydrodistillation varie selon la nature du matériel végétal et les conditions opératoires ; elle influence à la fois le rendement d'extraction et la composition chimique de l'huile essentielle obtenue (Elhaib, 2011).

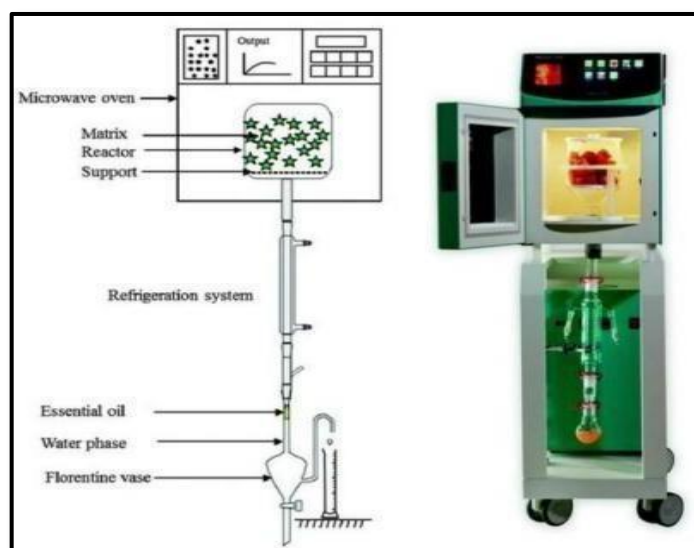


**Figure 14: Schéma du dispositif de l'hydro distillation (Jouault, 2012)**

#### **I.2.8.1.1.3. La distillation par la percolation ou hydro diffusion**

C'est une méthode également récente, qui fonctionne à l'inverse de la distillation. Effectivement, la vapeur d'eau est introduite de haut en bas, plutôt que de bas en haut. Cette méthode offre, pour certaines plantes comme les conifères ou la cannelle, le bénéfice d'être plus rapide et, de ce fait, réduit la probabilité de détériorer la qualité des huiles essentielles collectées (Figure 15). Les composés récupérés

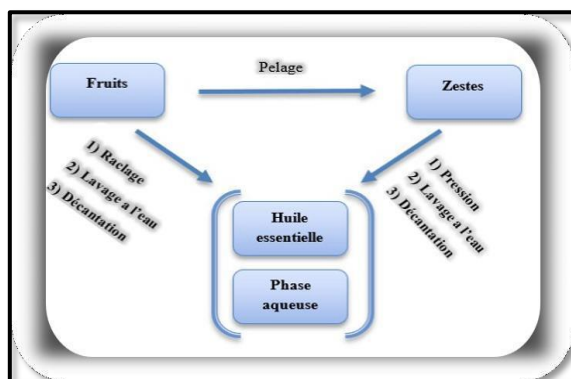
sont chargés de composants non volatils, nous nous référons alors à ceux-ci comme essences de percolation plutôt qu'huiles essentielles (Zayat, 1985).



**Figure 15:** Schéma d'extraction par Hydro diffusion (Jouault, 2012)

#### I.2.8.1.2. Expression à froid

Le procédé d'extraction par expression à froid, dont le principe est illustré dans la Figure 16, est assurément le plus simple mais aussi le plus limité. Il est réservé à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes des hespéridés ou encore d'agrumes (citron, mandarine, ...). Toutefois, ce sont des produits fragiles en raison de leur composition en terpènes et aldéhydes. Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices. L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau et reçoit tout le produit habituel de l'entraînement à la vapeur d'eau, d'où la dénomination d'HE. (Raynaud, 2006).



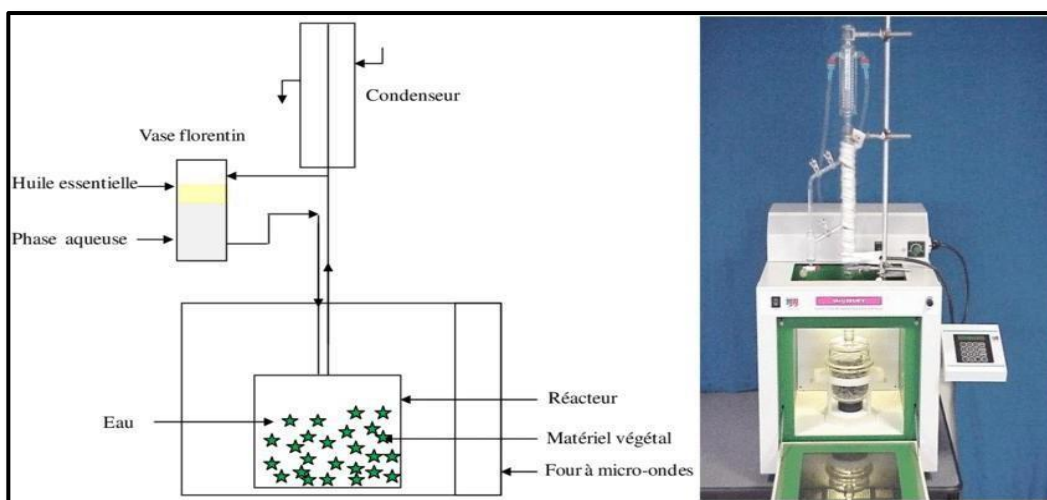
**Figure 16:** Principe de l'expression à froid.(Boutekedjiret *et al.* (2003).

### I.2.8.2. Techniques d'extractions innovantes :

#### I.2.8.2.1. Extraction par micro-ondes

Depuis 1996, avec les travaux de Ganzler et *al*, l'extraction assistée par micro-onde a connu de profonds changements. A l'heure où la rapidité, l'efficacité, et la sélectivité sont devenues les caractéristiques principales d'une nouvelles et bonne technique d'extraction (Ferhat, 2016) qu'on appelle l'hydro distillation par micro-ondes (Figure 17), les micro-ondes génèrent un chauffage rapide et intense des substances polaires avec une réduction importante dans le temps de réaction, et dans la plupart des cas des rendements élevés (Zlotorzynski, 1995).

Dans ce Procédé, la plante est chauffée par rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite séquentiellement, l'huile essentielle est entraînée dans le mélange isotropique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée. Ce processus est peu consommateur d'énergie et d'eau et le produit obtenu est de qualité supérieure à celle du produit de l'hydro distillation traditionnelle (Bruneton,1999).



**Figure17:** Montage hydro distillation assistée par micro-ondes (Farhat ,2016)

## **I.2.9. Activités biologiques des HE**

L'activité biologique d'HE essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et en particulier, avec les groupements fonctionnels des composés majoritaires : les phénols (thymol, carvacrol, eugénol), les alcools ( $\alpha$ -terpinéol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes et les composés terpéniques et cétoniques (Dorman et Deans, 2000). Les composés minoritaires jouent aussi un rôle important en renforçant les effets des composés principaux (Bassolé et Juliani, 2012). L'efficacité d'une huile essentielle dépend ainsi de sa richesse en composés phytochimiques ; plus elle est riche en substances actives, plus son activité est importante (Zhiri, 2006).

Ces activités biologiques sont multiples et incluent des activités anti hypertensives, antioxydantes, anti-inflammatoires, analgésiques, antivirales, antifongiques, ainsi qu'antimicrobiennes (Anwar *et al.*, 2019).

### **I.2.9.1. Activité antibactérienne**

La diversité qualitative et quantitative des composés présents dans l'huile essentielle laisse à penser que leur capacité antibactérienne ne découle pas d'un seul mécanisme d'action, mais plutôt d'une synergie de processus qui s'attaquent à différents endroits des cellules (Carson *et al.*, 2002).

Selon diverses investigations mécanistiques, ces substances agissent de différentes manières sur les bactéries, constituant notamment des perturbations de la membrane cytoplasmique, et la force motrice protonique, provoquant l'échappement d'électrons, sans oublier la coagulation ou la dénaturation des éléments protéiques intracellulaires (Davidson, 1997).

#### **I.2.9.1.1. Définition sur les Bactéries**

Ce sont des cellules procaryotes dont l'ADN n'est pas entouré par une membrane nucléaire. Beaucoup de bactéries contiennent des structures circulaires d'ADN extra chromosomiques appelées plasmides. Il n'y a pas d'autres organites dans le cytoplasme à l'exception du ribosome, qui est plus petit que celui des cellules eucaryotes. A l'exception des mycoplasmes, les bactéries sont entourées de parois complexes, selon qu'elles sont à Gram positif ou à Gram négatif. De nombreuses bactéries possèdent des flagelles, des pili, ou une capsule à l'extérieur de la paroi (Hart et Shears, 1999). La paroi bactérienne a un rôle protecteur, c'est la première barrière vis-à-vis de toutes les agressions qui l'entourent.

### I.2.9.1.1.1. Bactérie Gram négative

- ***Escherichia coli (E. coli)*** : *Escherichia coli (E. coli)* est une bactérie anaérobie facultative, non sporulée, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle se présente sous forme de bacille mobile ou immobile selon les souches et constitue l'un des principaux microorganismes de la flore intestinale des humains et des animaux à sang chaud. En raison de sa croissance rapide, de sa facilité de culture et de sa diversité génétique, *E. coli* est largement utilisée comme organisme modèle en microbiologie et en biologie moléculaire. Bien que la majorité des souches soient commensales et bénéfiques pour l'hôte, certaines souches pathogènes sont responsables d'infections intestinales, urinaires, septicémiques et méningées. (Madigan *et al.*, 2021).
- ***Klebsiella pneumoniae*** : C'est une bactérie encapsulée, non mobile, anaérobie facultative et appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle fait partie de la flore normale du tractus gastro-intestinal et des voies respiratoires supérieures chez l'être humain. Cependant, elle constitue un important pathogène opportuniste responsable d'infections nosocomiales et communautaires, notamment les pneumonies, les infections urinaires, les septicémies et les infections des tissus mous. La capsule polysaccharidique représente son principal facteur de virulence, lui permettant de résister à la phagocytose et aux mécanismes de défense de l'hôte. (Paczosa et Meccas, 2016).
- ***Klebsiella oxytoca*** : C'est une bactérie encapsulée, non mobile, anaérobie facultative, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle fait partie de la flore commensale du tractus gastro-intestinal humain, mais peut également agir comme un pathogène opportuniste. *K. oxytoca* est impliquée dans diverses infections nosocomiales et communautaires, notamment les infections urinaires, les pneumonies, les bactériémies et certaines colites hémorragiques associées à l'utilisation d'antibiotiques. Sa capsule polysaccharidique constitue un important facteur de virulence en lui permettant d'échapper aux mécanismes de défense de l'hôte. (Abbott, 2022).
- ***Proteus mirabilis*** : C'est une bactérie, mobile, anaérobie facultative et appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle est caractérisée par sa forte mobilité due à ses flagelles péritriches et par sa capacité à produire l'enzyme uréase, qui hydrolyse l'urée en ammoniac et en dioxyde de carbone. Cette propriété favorise l'alcalinisation de l'urine et la formation de calculs urinaires. *P. mirabilis* est un microorganisme opportuniste fréquemment impliqué dans les infections urinaires compliquées, notamment chez les patients porteurs de sondes urinaires, ainsi que dans les infections de plaies et les septicémies. (Janda et Abbott, 2021).

➤ ***Pseudomonas aeruginosa*** : C'est une bactérie, aérobie stricte, mobile grâce à un ou plusieurs flagelles polaires et appartenant à la famille des Pseudomonadaceae. C'est un pathogène opportuniste largement répandu dans l'environnement (eau, sol, végétaux). Elle est responsable de nombreuses infections nosocomiales, notamment des infections respiratoires, urinaires, cutanées et des bactériémies, particulièrement chez les patients immunodéprimés. Sa capacité à former des biofilms et sa résistance naturelle à de nombreux antibiotiques en font un agent pathogène majeur en milieu hospitalier. (Moradali *et al.*, 2017)

➤ ***Acinetobacter baumannii*** : C'est une bactérie strictement aérobie, non fermentaire, immobile et appartenant à la famille des Moraxellaceae. Elle est largement distribuée dans l'environnement et constitue un pathogène opportuniste majeur en milieu hospitalier. *A. baumannii* est responsable de diverses infections nosocomiales, notamment les pneumonies associées à la ventilation mécanique, les bactériémies, les infections urinaires et les infections des plaies. Sa remarquable capacité à survivre sur les surfaces inertes et à développer une multirésistance aux antibiotiques en fait une menace importante pour la santé publique. (Antunes *et al.*, 2014).

#### **I.2.9.1.1.2. Bactérie Gram positive**

➤ ***Staphylococcus aureus*** : C'est une bactérie de forme sphérique (coque), appartenant à la famille des Staphylococcaceae. Elle se présente généralement en amas irréguliers rappelant des grappes de raisin. *S. aureus* est un microorganisme commensal de la peau et des muqueuses, notamment des fosses nasales, mais il peut également agir comme un pathogène opportuniste. Il est responsable d'un large éventail d'infections allant des infections cutanées superficielles aux infections invasives sévères telles que les septicémies, les endocardites, les pneumonies et les intoxications alimentaires. Sa virulence est liée à la production de nombreuses toxines, enzymes et facteurs d'adhésion. (Tong *et al.*, 2015).

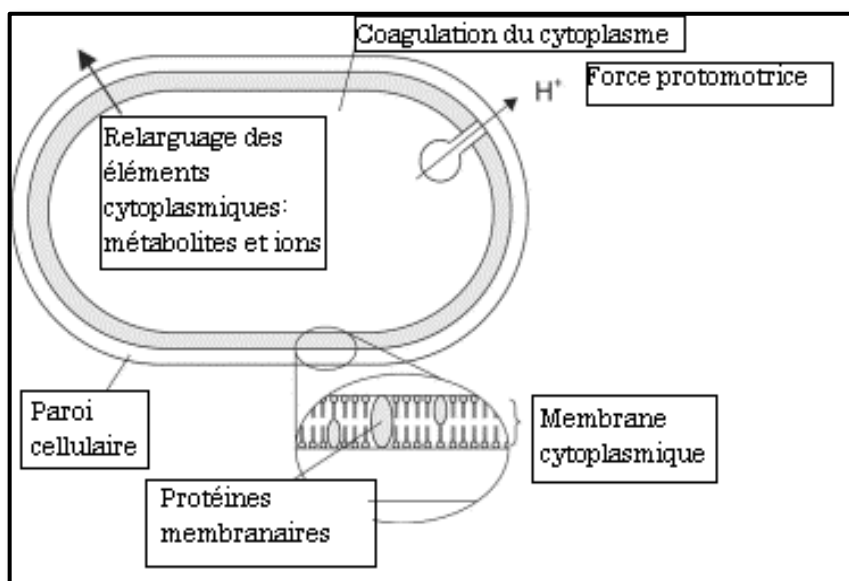
#### **I.2.9.1.2. Mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries**

Le mode d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé (Kalemba et Kunicka, 2003, Burt, 2004).

Compte-tenu de la variabilité quantitative et qualitative des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Bajpai et Kang, 2010).

La principale caractéristique des huiles essentielles est attribuée à l'hydrophobicité de certains de leurs composants qui leur permet de traverser facilement la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire en provoquant une déstabilisation de sa structure et en augmentant sa perméabilité (Souza *et al.*, 2006). Ces modifications entraînent des pertes anormales d'ions et de composés intracellulaires et la coagulation du contenu protéique des cellules (Davidson et Parish, 1989 ; Ultee *et al.*, 2002).

Les principales localisations des sites d'action des constituants des huiles essentielles sont indiquées ci-dessous (figure18)



**Figure 18: Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (Burt, 2004)**

Le mode d'action des huiles essentielles dépend du type de microorganismes. En général, les bactéries Gram négatives sont plus résistantes que les bactéries Gram positives grâce à la structure de leur membrane externe. En effet, cette dernière est riche en lipopolysaccharides (LPS), ce qui la rend plus hydrophile, empêchant ainsi les composés hydrophobes des huiles essentielles d'y adhérer (Cristiani *et al.*, 2007).

### **1.2.9.2. Activité antioxydante**

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le  $\beta$ -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E), la quercétine, la rutine et le Picnogénol. La plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydants sont attribuées en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les

radicaux hydroxyyles (OH•) et superoxydes (O<sub>2</sub>•) (Bartosz, 2003). La capacité antioxydante des huiles essentielles est étroitement liée à tout le contenu phénol (Yanishlieva *et al.*, 1999).

#### **I.2.9.2.1. Stress oxydatif**

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Boyd *et al.*, 2003).

#### **I.2.9.2.2. Radicaux libres**

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, donc très réactifs et, par conséquent, leur durée de vie est généralement très courte, de l'ordre de 4-10 secondes, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron (Beckman et Ames, 1998).

#### **I.2.9.2.3. Conséquences du Stress oxydatif**

Les phénomènes radicalaires de base sont utiles au bon fonctionnement de l'organisme. L'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponibles. La conséquence de ce déséquilibre va entraîner une agression appelée « stress oxydatif » (Rahman, 2003).

Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés : lipides, protéines, glucides et ADN (Arausseau, 2002). Toutes ces altérations augmentent le risque de plus de 30 processus de différentes maladies (Aruoma, 1998). Parmi lesquelles les maladies d'Alzheimer de Parkinson, de Creutzfeldt Jacob et de méningo-céphalites, les maladies cardiovasculaires et déficience cardiaque (Jha *et al.*, 1995), les œdèmes et vieillissement prématuré de la peau et le cancer (Georgetti *et al.*, 2003).

#### **I.2.9.2.4. Définition d'un antioxydant.**

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003). Plusieurs plantes utilisées en médecine traditionnelle sont douées de propriétés antioxydants remarquables. Elles contiennent une grande variété d'antioxydants comme la vitamine C et E, les caroténoïdes, les oligoéléments et surtout les polyphénols (Popovici *et al.*, 2009).

### **I.2.9.2.5. Types d'activités antioxydantes**

**I.2.9.2.5.1. Antioxydants enzymatiques** Ces sont des antioxydantes endogènes qui représentent la défense principale de notre organisme contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Bensakhria, 2018). Parmi les exemples figurent la superoxyde dismutase, la catalase, les glutathion peroxydases, la glutathion réductase (Gaoui *et al.*, 2023).

**I.2.9.2.5.2. Antioxydants non enzymatiques** Ces sont des substances chimiques de faible poids moléculaire agissent en tant qu'antioxydants. Néanmoins, leur rôle n'est pas catalytique (Sharifi *et al.*, 2020)

➤ **Antioxydantes non enzymatiques endogènes** On compte plusieurs réducteurs endogènes capables de protéger l'organisme contre les radicaux libres, y compris le glutathion, la bilirubine, l'acide urique, la coenzyme Q, la mélatonine et l'acide alpha-lipoïque (Sharifi *et al.*, 2020).

➤ **Antioxydants non enzymatiques exogènes** Étant donné que leurs principales voies de synthèse se retrouvent majoritairement dans les cellules microbiennes ou végétales, il est indispensable de fournir en permanence des antioxydants exogènes par l'alimentation, comme la vitamine E, la vitamine C, le  $\beta$ -carotène et les polyphénols (Sharifi *et al.*, Gaoui *et al.*, 2023).

### **I.2.9.2.6. Classification des antioxydants**

#### **I.2.9.2.6.1. Antioxydants synthétiques ( Artificiels)**

Dans le secteur de l'alimentation, on fait souvent appel à des antioxydants synthétiques comme le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), le gallate propylé (PG) et le tétra-butylhydroquinone (TBHQ). Leur large utilisation est due à leur efficacité et à leur coût moins chers par rapport aux antioxydants naturels. Toutefois, leur sécurité est souvent mise en question, car ils suscitent un besoin de recherche pour trouver des substituts naturels, comme des antioxydants alimentaires, d'après Wang *et al.* (2003). Ces antioxydants possèdent une nature chimique. Ils présentent des impacts défavorables sur le corps, contribuant à la manifestation de certaines pathologies (Balasundram *et al.*, 2006).

#### **I.2.9.2.6.2. Antioxydants naturels :**

L'organisme possède une grande variété d'antioxydants : diverses enzymes sont produites pour réparer les possibles altérations oxydatifs des protéines ou de l'ADN, alors que d'autres sont obtenues de l'alimentation. Dans le domaine de l'industrie agroalimentaire et pour la santé humaine, les antioxydants tels que les composés phénoliques, les composés azotés, les caroténoïdes et l'acide ascorbique sont très efficaces Pratiquement tous les

micro-organismes, les champignons et même les tissus animaux possèdent d'autres antioxydants (Messaoudi et Lahouazi, 2015).

#### **I.2.9.2.7. Rôles et fonctions des antioxydants**

Le rôle physiologique des antioxydants est de protéger les composants cellulaires contre les dommages résultant de réactions chimiques impliquant des radicaux libres. Des éléments extérieurs comme la pollution, les radiations, les UV ou l'alcool peuvent conduire à une production excessive de ces espèces réactives, ce qui rend notre système de défense interne incapable de réduire toutes ces espèces réactives. Ainsi, notre organisme nécessite une alimentation riche en antioxydants. Comme les vitamines C, E et A, ainsi que les polyphénols et les flavonoïdes (Venkatachalam et Muthkrishnan, 2012).

#### **I.2.9.2.8. Evaluation du pouvoir antioxydant**

Plusieurs méthodes sont utilisées pour mesurer l'activité antioxydant d'un matériel biologique. Les plus couramment utilisés sont ceux impliquant des composés chromogènes de nature radicale qui stimulent les espèces réductrices d'oxygène. Ces méthodes sont populaires en raison de leur facilité, leur rapidité et leur sensibilité. La présence d'antioxydants conduit à la disparition de ces radicaux chromogènes (Shahin *et al.*, 2008). Actuellement, une des méthodes analytiques les plus communes pour déterminer le pouvoir antioxydant des huiles essentielles est le test chimique qui utilise le DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) Roginsky et Lissi., 2005). (Cette méthode a été mise au point par Brand-Williams, Cuvelier et Berset en 1995 et modifiée, plus tard, par Sanchez-Moreno, Larrauri et Saura-Calixto en 1998. C'est la méthode la plus utilisée pour évaluer le pouvoir antioxydant des extraits de plantes (Shahin *et al.*, 2008).

Il existe plusieurs méthodes pour évaluer l'activité antioxydante des substances naturelles, ces méthodes reposent essentiellement sur deux principes :

- Le premier est associé avec la peroxydation lipidique, comme les tests de l'acide thiobarbiturique (TBA), du  $\beta$ -carotène et des diènes conjugués.
- Le deuxième repose sur le transfert d'électrons ou de protons pour la neutralisation des radicaux ou de certains métaux, c'est le cas des tests : DPPH, ABTS, FRAP....

Le tableau 05 regroupe les tests les plus utilisés pour évaluer l'activité antioxydante des extraits naturels.

**Tableau 5: Les tests les plus utilisés pour évaluer l'activité antioxydante.**

Test	Molécule impliquée	Mécanisme réactionnel	Références
$\beta$ -carotène	$\beta$ -carotène, acide lonoléique	Oxydation du $\beta$ carotène par les produits de dégradation de l'acide lonoléique	<b>Laguerre et al., (2007)</b>
DPPH	DPPH.	Transfert de protons	<b>Molyneux, 2004</b>
ABTS	ABTS.	Transfert de proton	<b>(Chen., 2004)</b>
FRAP	Fe <sup>3+</sup> -TPTZ	Transfert d'électrons	<b>Prior et al., 2005</b>

**I.2.9.3. Activité antifongique**

Dans les domaines phytosanitaires et agroalimentaires, les huiles essentielles et leurs composants actifs montrent un potentiel non négligeable en tant qu'agents naturels de contrôle contre les champignons phyto pathogènes et les micro-organismes qui détériorent les produits alimentaires. Selon Lisbalchin (2002), les plantes de la famille des Lamiacées comme le thym, la lavande, la menthe, le romarin et la sauge sont particulièrement étudiées pour leurs vertus antifongiques.

*Chapitre II*  
*Matériels et méthodes*

## II.1. .Objectif

L'objectif de notre étude est l'extraction de l'huile essentielle de *P. lentiscus* L. (région de Djelfa), et la mise en évidence de ses activités antioxydante et antimicrobienne vis-à-vis de multiples souches bactériennes, ainsi la comparaison de ces propriétés avec celles d'une huile essentielle commercialisée.

## II.2. Lieu de travail

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du Laboratoire de recherche en Chimie Organique et des Substances Naturelles (LCOSN), rattaché à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Ziane Achour de Djelfa. Ce cadre de recherche a permis de mettre en œuvre notre expertise en chimie des substances naturelles, notamment pour l'extraction et la caractérisation des extraits végétaux, en tirant pleinement parti des équipements instrumentaux disponibles au sein de ce laboratoire.

## II.3. Matériel et méthodes

### II. 3. 1. Matériel chimique et appareillage

#### II.3.1.1. Réactifs et matériels

Les réactifs et les matériels utilisés dans notre travail figurent dans le tableau 06

**Tableau 6: Réactifs et matériels utilisés.**

Appareillage	Verreries et autres	Produits
- Chauffe ballon	- Ballons	- souche bactérienne
- Spectrophotomètre	- Béchers	- Acide ascorbique - BHT
- Clevenger	- Tubes à essais	- DPPH
-Autoclave	-Boîtes de pétri stériles	- DMSO
- Bain marie	- Epprouvettes graduées	- Ethanol
-Balance de précision	- Embouts	- Eau distillée
- Étuve microbiologique	- Papier filtre	- Eau physiologique
-Réfrigérateur	- Pipettes et micro pipette.	- Mc Farland
-Bec bunsen	- Écouvillons stériles	-Acide sulfurique
-Vortex	- Flacon avec bouchon	(H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )
	- Pipette pasteur	-Chlorure de baryum
		(BaCl <sub>2</sub> )

## II.3.2. Matériel végétal

### II.3.2.1. Collecte de la plante

Les feuilles de la plante *P. lentiscus* L sont récoltées durant le mois de Mai 2026 au niveau de la région de Bastama, située dans la wilaya de Djelfa (Algérie). Afin d'assurer la traçabilité géographique de notre matériel d'étude, les coordonnées GPS exactes du site de prélèvement ont été enregistrées comme suit :

Latitude : 34° 56' 37" N

Longitude : 3° 23' 9" E



**Figure 19: Carte de situation géographique de la zone d'étude (Région de Bastama, Djelfa).**

Afin de mener l'étude comparative prévue dans ce travail, un échantillon commercial d'huile essentielle extraite également à partir des feuilles de *P. lentiscus* L. a été acquis auprès d'un fournisseur spécialisé situé dans la Wilaya de Blida (Algérie) ; (figure 25). Cet échantillon servira de référence pour comparer le rendement ainsi que l'activité biologique (antioxydante et antibactérienne) de notre huile essentielle extraite au laboratoire à partir des feuilles récoltées localement (Région de Bastama, Djelfa) .



**Figure 20: Huile essentielle commerciale de *P. lentiscus* L. (Référence – Wilaya de Blida).**



**Figure 21: Arbuste de *P. lentiscus* L. dans son habitat naturel (Région de Djelfa).**

#### **II.4. Protocole d'extraction de l'HE de *P. lentiscus* L.**

préalablement fragmentées, dans un ballon de 1 L. Ce dernier a été rempli d'eau distillée aux deux tiers (2/3) de sa capacité afin d'éviter les projections durant l'ébullition. Le système a été chauffé à l'aide d'un chauffe-ballon (Figure 22 ) durant un cycle de 4 heures. Au cours de ce processus, les composés volatiles entraînés par la vapeur d'eau ont été condensés au niveau du réfrigérant. Le distillat est ensuite collecté dans la colonne

graduée du dispositif. Compte tenu de sa faible densité par rapport à la phase aqueuse, l'huile essentielle se dissocie de l'eau pour s'accumuler en surface.



**Figure 22: Dispositif d'hydro distillation utilisé type Clevenger (Photo originale,2026)**

### **II.5. Conservation des HE**

En raison de sa volatilité élevée et de sa sensibilité à l'air et à la lumière (Valnet, 1984), l'huile essentielle de *P.lentiscus* L. a été conservée, dans un tube hermétiquement fermé en verre ambré, enveloppé de papier aluminium dans l'obscurité.

### **II.6. Calcul du rendement des HE**

Selon Merabet (2018), le rendement correspond à l'efficacité d'extraction de HE à partir du matériel végétal utilisé. Il s'exprime en pourcentage et représente le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse de matière végétale initialement employée.

La formule utilisée est la suivante :

$$R (\%) = [MHE / MVS] \times 100$$

R (%) : rendement en HE, exprimé en pourcentage.

MHE : masse de l'HE obtenue (en g).

MVS : masse de matière végétal (feuilles ) fraîche utilisé (en g).

Cette grandeur permet d'évaluer l'efficacité du procédé d'extraction et de comparer des conditions expérimentales ou des méthodes d'extraction différentes.

## II.7. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE de *P. lentiscus* L *in vitro*

La première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (Boyle, 1955). Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (Burt, 2004). La multiplication des bactéries et leur sporulation ainsi que la synthèse des toxines sont limitées par l'effet des huiles essentielles qui arrêtent leur croissance et agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (Kalemba et Kunicka, 2003). Dans ce travail plusieurs approches servent à mesurer leur efficacité, y compris la sélection et l'origine des souches bactérienne, leur mise en culture, la préparation des disques, et l'application de méthodes comme l'aromatogramme de diffusion sur disque et la dilution en milieu solide gélose (Kahel, 2013).

### II.7.1. Souches microbiennes testées

L'activité antimicrobienne de l'HE de *P. lentiscus* L a été évaluée vis-à-vis sept souches microbiennes suivantes :

**Tableau 7: Liste des souches bactériennes testées**

Bactérie Gram négative	Bactérie Gram positive
- <i>Escherichia coli</i>	- <i>Staphylococcus aureus</i>
- <i>Proteus mirabilis</i>	
- <i>Klebsiella oxytoca</i>	
- <i>Klebsiella pneumoniae</i>	
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
- <i>Acinetobacter baumannii</i>	

Le choix des souches testées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait de *P.lentiscus* L est motivé par leur impact pathologique significatif dû à leur pouvoir pathogène. Ces souches proviennent de la collection de l'unité de microbiologie de l'hôpital Mahad Abdelkader-Djelfa

### II.7.2. Protocoles d'étude

#### II.7.2.1. Préparation de milieu MH (Mueller Hinton)

Gélose Mueller Hinton est un milieu de culture pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries peu exigeantes.. Pour la préparation de la gélose Mueller Hinton

on introduit 38g de MH dans 1L d'eau distillé (selon la fiche technique de la boîte gélose Muller Hinton), le mélange obtenu est soumis sous agitation continue à une température élevée jusqu'à l'ébullition. Le milieu sera divisé dans des flacons en verre pour la stérilisation dans l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes.

#### **II.7.2.2. Préparation de l'eau physiologique**

L'eau physiologique, ou solution saline physiologique, est une solution aqueuse contenant 9 g de chlorure de sodium (NaCl) par litre d'eau distillée, soit une concentration de 0,9 % (m. Pour sa préparation, 9 g de NaCl sont dissous dans une quantité suffisante d'eau distillée, puis le volume est ajusté à 1 L. La solution est ensuite stérilisée, généralement par autoclavage à 121 °C pendant 15 minutes, afin de garantir son innocuité microbiologique. (Allen, 2021)

#### **II.7.2.3. Préparation des disques d'aromatogramme**

Nous avons coupé les feuilles de papier Wattman N °3 en disques de 6 mm de diamètre, ensuite ils sont mis dans un tube en verre à visse et stérilisés à l'autoclave et conservés jusqu'à l'utilisation.

#### **II.7.2.4. Stérilisation du matériel**

Le milieu de culture MH (Mueller Hinton), l'eau physiologie, les tubes à essai, les disques en papier filtre (6 mm de diamètre), les pinces enrobées dans papier aluminium ont été stérilisés par autoclavage à 121°C pendant 2h.

#### **II.7.2.5. Repiquage des souches bactériennes**

Afin d'obtenir une culture jeune, et des colonies isolées les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries sur gélose nutritive en boîte de pétri. à l'aide d'une pipette pasteur, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h, qui ont servi à préparer l'inoculum bactérien (Annexe 01)

#### **II.7.2.6. Préparation des dilutions des extraits d'huile essentielle**

Pour pouvoir obtenir différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles, nous l'avons diluée dans le DMSO (diméthylsulfoxyde). Ce choix a été fait, parce que, le DMSO est le solvant préférable pour la majorité des auteurs, notamment, Gachkar *et al*, 2006 qui ont prouvé que le DMSO n'a aucun pouvoir antibactérien puissant.

les dilutions d'HE ( extrait au niveau de laboratoire et commerciale) sont réalisées selon les dilutions suivantes :

- ✓  $T \frac{1}{2}$ : 100  $\mu$ L d'extrait d'huile avec 100  $\mu$ L de DMSO . [50%]
- ✓  $T \frac{1}{5}$ : 80  $\mu$ L d'extrait d'huile  $T \frac{1}{2}$  avec 120  $\mu$ L de DMSO [20%]
- ✓  $T \frac{1}{20}$ : 50  $\mu$ L d'extrait d'huile  $T \frac{1}{5}$  avec 150  $\mu$ L de DMSO [05%].

#### **II.7.2.7. Préparation du standard McFarland**

McFarland est une norme de turbidité utilisée pour normaliser le nombre approximatif de bactéries dans une suspension liquide pour tester la sensibilité aux agents antimicrobiens, les réactifs sont :

- 9.95ml Acide sulfurique 1%.
- 0.05 ml Chlorure de baryum 1%

Ce qui nous donne 10 ml de McFarland 0.5, puis mesurer l'absorbance par spectrophotométrie à 625nm, elle doit être entre [0.08-0.1] (Becton, Dickinson, & Shannon,2005)

#### **II.7.2.8. Méthode de diffusion sur disque**

##### **II.7.2.8.1. Réalisation d'Antibiogramme standard des souches testées**

Après identification bactérienne, toutes les souches ont fait l'objet d'un test de sensibilité aux antibiotiques selon la méthode préconisée par le comité de la standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale.

Nous avons réalisé un antibiogramme standard (méthode de diffusion) selon la technique préconisée par le CLSI (2025) comme suit :

##### ➤ **Préparation et standardisation de l'inoculum bactérien**

Après la stérilisation de zone de travail avec l'eau de javel, une suspension bactérienne de chaque souche à tester est préparée à partir d'une culture jeune de 18heures : des colonies isolées, distincte et homogènes sont prélevées à l'aide d'une pipette pasteur et placées dans un tube contenant 9 ml à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% puis homogénéisées à l'aide d'un vortex. La suspension ainsi obtenue est ajustée à l'échelle 0.5 McFarland (~  $10^8$  UFC/ml)

##### ➤ **Ensemencement des boîtes**

Après la stérilisation de milieu MH et le coulage de ce dernier dans des boîtes de pétrie 4mm de hauteur. La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzène selon les étapes suivante.

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (Il est nécessaire d'éviter, la contamination du manipulateur et de la paillasse).

- L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas. - Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de Pétrie de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Les boîtes ont ensuite été laissées à température ambiante pendant 30 min pour permettre l'absorption de l'inoculum

#### ➤ **Application des disques d'antibiotiques**

Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface de la gélose Mueller-Hinton préalablement ensemencée avec une suspension bactérienne de chaque souche étudiée.

\* **Pour les Gram négative**, nous avons testé les antibiotiques suivants: Imipenème (IPM), Gentamycine (CN), Sulfaméthoxazole + Triméthoprime (SXT), Amoxicilline + Acide clavulanique (AMC), Colistine (CS), Ciprofloxacine (CIP)

\* **Pour les Gram positive**, nous avons utilisé les antibiotiques suivants:

Gentamicine (CN), Vancomycine (VA), Tétracycline (TE), Ofloxacine (OFX), Sulfaméthoxazole + Triméthoprime (SXT), Ciprofloxacine (CIP)

#### ➤ **Incubation et Lecture**

Les boîtes de pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures et après la lecture se fait par mesure du diamètre en (mm) de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse puis interprétés en se référant à la table de lecture de l'antibiogramme

#### **II.7.2.8.2. Réalisation de l'aromatogramme des souches testées**

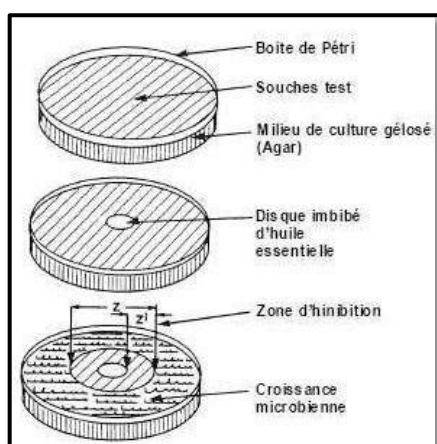
L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme précédemment cité (SATRANI *et al.*, 2007 ; Benjilali *et al.*, 1986).

Elle a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des HE à tester et de s'appliquer à un grand nombre d'espèces bactériennes (Pibiri, 2005). Cette méthode consiste à mettre en évidence une éventuelle activité antimicrobienne de l'extrait des plantes recensé, en présence des germes tests.

Des disques de papier Wattman de 6mm de diamètre absorbants stériles, imprégnés d'une quantité d'extrait (10 µl) sont disposées sur une gélose MH ensemencées par les souches testées (03 disques d'extrait d'HE de chaque dilution et un disque de DMSO pour contrôle négatif). (Rozman et Jersek, 2009).

Après un temps de diffusion de 20 min à température ambiante (Gachkar *et al.*, 2007), les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 h .

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition, le diamètre d'inhibition rapportée est inclus en diamètre du disque de papier (6mm). Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible.



**Figure 23: Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîte de Pétri (Pibiri, 2005).**

L'interprétation des résultats des diamètres des zones d'inhibition obtenus s'appuie sur une échelle d'évaluation de l'activité antimicrobienne proposée par (Ponce *et al.* 2003). La présence de cette zone indique que la substance possède une activité inhibitrice (bactéricide).

### **II.8. Evaluation de l'activité antioxydante de *P. lentiscus* L**

L'activité antioxydant d'HE est liée à leurs composés volatils (Messaoudi et Lahouazi, 2015), capables de neutraliser les radicaux libres responsables de nombreuses maladies (Shaaban *et al.*, 2012).

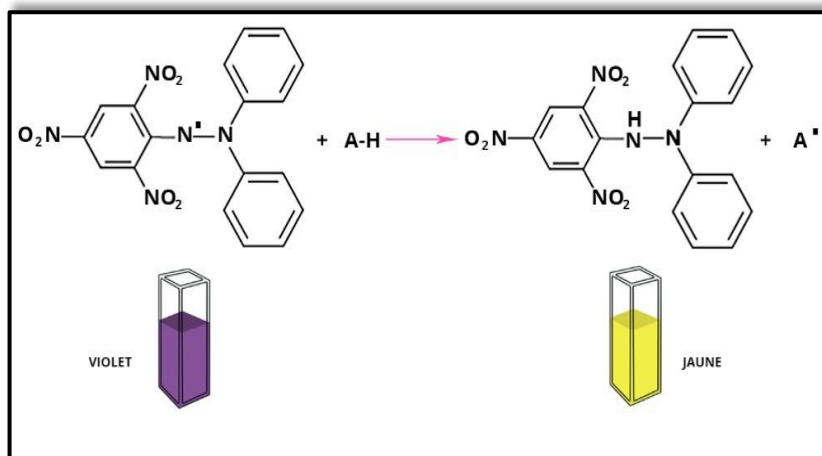
Il s'agit dans cette étude d'étudier la propriété antioxydante d'huile essentielle de *P.lentiscus* L à l'aide d'une méthode d'activité de piégeage radicalaire par DPPH (2,2-Diphényl-picrylhydrazine) eu utilisant le 2,6-di-tert-butyl-methylphenol hydroxytoluene, (BHT) et l'acide ascorbique (AA) comme référence.

#### **II.8.1. Piégeage des radicaux libres DPPH**

##### **II.8.1.1. Principe du test**

L'évaluation du pouvoir antioxydant d'extrait d'huile et des antioxydants face au radical DPPH libre a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre en observant la réduction de ce

radical, accompagnée de son changement de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) et une absorption caractéristique à 517 nm. Ce pouvoir réducteur est dû aux substances anti radicalaires et qui entraîne une diminution de l'absorbance (Molyneux, 2004).



**Figure 24: Mécanisme de réduction du radical libre DPPH(Benyoucef,. 2020)**

### II.8.1.2. Mode opératoire

L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH a été déterminée selon la méthode de Blois (1958).

Une gamme de concentrations (1 à 10 mg/ml) diluée avec de l'éthanol de l'huile essentielle de *P. lentiscus* L (extraite au laboratoire et commerciale) ont été préparées ainsi différentes concentrations d'Acide Ascorbique (AA) et de Butyle hydroxy toluène (BHT)

Pour chaque essai, 500 µL de solution de DPPH ont été mélangés avec 500 µL de la solution à tester.

Un témoin a été préparé en mélangeant 500 µL de DPPH avec 500 µL d'éthanol.

Après homogénéisation au vortex, les mélanges ont été incubés à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante.

L'absorbance a ensuite été mesurée contre un blanc à l'aide à 517 nm par un spectrophotomètre UV-VIS type Beckman DU520.

. L'acide ascorbique (AA) et du Butyle hydroxy toluène (BHT) ont été utilisés comme antioxydants de référence à des fins comparatives.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé selon la formule :

$$\text{Pourcentage d'inhibition(\%)} = ((A_0 - A_1) / A_0) * 100$$

Avec :

**A0** : absorbance du témoin

**A1** : absorbance de l'échantillon

La concentration inhibitrice médiane (IC<sub>50</sub>), correspondant à la concentration d'HE nécessaire pour piéger 50 % des radicaux DPPH, a été déterminée par extrapolation à partir de la courbe de régression linéaire reliant le pourcentage d'inhibition à la concentration testée. Cette valeur a été calculée à partir de l'équation **50 = a\*(IC<sub>50</sub>) + b**

*Chapitre III*  
*Résultats et Discussions*

### III.1. Propriétés organoleptique d'HE

L'évaluation des propriétés organoleptique de l'huile essentielle extraite des feuilles fraiche de *P. lentiscus* L. a révélé qu'elle se présente comme un liquide mobile, limpide et incolore et sur le plan olfactif, elle dégage une odeur aromatique forte et caractéristique, dominée par des nuances herbacées.

### III.2. Rendement en huile essentielle de *P.lentiscus* L

Le rendement en huile essentielle de *P .lentiscus* L obtenu dans notre étude est de 0,40%. Ce résultat s'inscrit parfaitement dans l'intervalle de variabilité (0,02% à 0,60%) rapporté pour cette espèce dans le bassin méditerranéen.

En effet, notre valeur est très proche de celle obtenue par Ait Saidi et Benmahioul (2020) qui ont enregistré un taux de 0,39% sur des feuilles fraîches. En revanche, notre rendement est nettement supérieur à celui rapporté par Benhassaini *et al.*, (2012) dans la région de Ramka (Relizane, Algérie) qui n'était que de 0,054%.

À l'échelle maghrébine, nos résultats restent légèrement supérieurs à ceux obtenus au Maroc (Région de Taounate) par El Bouzidi *et al.*, (2013) avec 0,32%, ainsi qu'en Tunisie où les rendements fluctuent entre 0,15% et 0,35% selon les stations d'étude (Mechergui *et al.*, 2016). Enfin, une étude menée en Italie (Sardaigne) par Piras *et al.* (2017) confirme que le rendement varie de 0,09% à 0,32% en fonction du cycle phénologique et de la période de récolte.

### III.3. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'HE de *P .lentiscus* L

Nous avons évalué l'activité antibactérienne des extraits de *P lentiscus* L. sur les souches bactériennes par la méthode de diffusion sur disques, cette méthode est employée pour étudier l'activité antibactérienne des substances naturelles et des extraits des plantes (Gülçin *et al.*, 2004). La méthode de disque a permis de déterminer l'action des différents extraits vis-à-vis les différentes souches microbiennes, celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné de l'extrait. Le diamètre de la zone d'inhibition se diffère d'un micro-organisme à un autre. La variation de l'activité antibactérienne des extraits s'explique par les variation de leurs compositions chimiques, il a été rapporté, qu'un extrait est considéré comme actif lorsqu'il induit une zone d'inhibition supérieure à 10mm (Tekwu *et al.*, 2012).

### III.3.1. Résultats d'antibiogramme standard

Le tableau 08 résume les résultats des diamètres des zones d'inhibitions des différentes souches aux antibiotiques testés (Annexe 02)

**Tableau 8: Diamètres des zones d'inhibitions en (mm) des différentes souches aux antibiotiques testés.**

ATB Souche Bactérienne	IPM	CN	SXT	AMC	CS	CIP
<i>E.coli</i>	30/S	20 /S	25 / S	11	14 / S	32 / S
<i>Proteus Moirabilis</i>	25 /S	18 /S	26 / S	17 / I	<06 / R	30 /S
<i>Klebsiella Oxytoca</i>	34 /S	18 / S	12 / I	<06 / R	12 / S	35 / S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	25 /S	20 / S	<06 / R	<06 / R	12 / S	22 / S
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	24 /S	<06 / R	12 / R	NT	12 / S	<06 /R
<i>Acinetobacter Baumannii</i>	14 /R	<06 / R	<06 / R	NT	17 / S	<06 / R
<i>Staphylococcus Aureus</i>	NT	30 / S	15 / I	NT	NT	12 / R

**NT:** Antibiotique non testé, **S** : sensible, **R** : résistante, **I** : intermédiaire

Antibiotiques :Imipenème (IPM ),Gentamycine(CN),Sulfaméthoxazole+Triméthomprime (SXT ),Amoxicilline+ Acide clavulanique (AMC) , Colistine (CS) , Ciprofloxacin (CIP)

Les résultats obtenus sont comparés aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes à la standardisation national de l'antibiogramme en médecine humaine et vétérinaire de l'année 2025 (Annexe 03) et le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (2015), ce qui permet de classer la bactérie selon l'une des catégories suivante :

sensible (S), résistante (R) ou intermédiaire (I)

D'après les résultats présentés dans le tableau 08, l'activité antibactérienne des antibiotiques testés, ont démontré une large variation des diamètres des zones d'inhibition allant de < 06 à 35 mm.

Parmi les antibiotiques qui ont donné les plus grandes zones d'inhibition, on distingue: Ciprofloxacine et Imipenème contre *k. oxytoca* (35 ,34 mm respectivement).

Les souche *E.coli* ,*P. mirabilis* , *k. oxytoca* et *k. pneumoniae* ainsi *P.auriginosae* présentent une sensibilité qui varie de 24 à 34 mm envers l'Imipenème en revanche ils sont pratiquement résistants au Amoxicilline + Acide clavulanique.

Le diamètre < 06 mm pour la Colistine chez *P. mirabilis* par rapport aux autres bactéries s'explique par une résistance naturelle (intrinsèque) de cette bactérie à cet antibiotique.

*A.baumannii* présente des diamètres très faibles ou nuls sur la majorité des antibiotiques (ex: IPM à 14 mm, CIP et CN < 06 mm), ce qui évoque un profil de bactérie hautement résistante.

### III.3.2. Résultats d'aromatogramme

L'interprétation des résultats obtenus repose sur l'échelle d'évaluation de l'activité antimicrobienne proposée par Ponce *et al.* (2003). Selon cette classification, les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne sont répartis en quatre catégories distinctes (tableau 09), permettant ainsi de quantifier le degré d'efficacité d'HE testées.

**Tableau 9: Estimation de l'activité antimicrobienne en fonction de la zone d'inhibition (Ponce *et al.*,2003).**

Activité antimicrobienne	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
Extrêmement sensible	Plus de 20
Très sensible	De 15 à 19
Sensible	De 08 à 14
Non sensible(Résistant)	Moins de 08

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'HE de *P. lentiscus* L par la méthode des disques vis-à-vis des sept souches testées (Annexe 04) sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 10: Diamètres des zones d'inhibition en (mm) induites par l'HE de *P. lentiscus* L vis-à-vis les souches testées**

Dilution Souche Bactérienne	T 1/2 (50%)		T 1/5 (20%)		T 1/20 (05%)		Témoin
	Extrait labo	Extrait commercial	Extrait labo	Extrait commercial	Extrait labo	Extrait commercial	DMSO
<i>E.coli</i>	< 06	10	< 06	09	< 06	08	< 06
<i>Proteus Moirabilis</i>	11	09	09	08	08	07	< 06
<i>Klebsiella Oxytoca</i>	08	12	< 06	09	07	< 06	< 06
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	09	09	08	08	07	07	< 06
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	< 06	< 06	< 06	< 06	< 06	< 06	< 06
<i>Acinetobacter Baumannii</i>	11	09	10	08	08	07	< 06
<i>Staphylococcus Aureus</i>	08	10	07	09	< 06	08	< 06

La diminution progressive des diamètres d'inhibition observée lors des dilutions successives des extraits de *P.lentiscus* L est en accord avec les résultats rapportés par, Jalayer-Naderi *et al.* (2016) .

Les diamètres d'inhibition ont diminué progressivement avec les dilutions (T1/2, T1/5 et T1/20), montrant que l'activité antibactérienne est concentration-dépendante.

L'extrait commercial a présenté une meilleure activité contre *E. coli* (10 mm à T1/2 ; 08 mm à T1/20), ainsi que contre *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* et *Staphylococcus aureus*, avec des diamètres d'inhibition supérieurs à ceux de l'extrait préparé au laboratoire.

L'extrait d'HE préparé au laboratoire a montré une meilleure efficacité contre *P. mirabilis* et *A. baumannii*, avec un diamètre maximal de 11 mm à la dilution T1/2.

*P. aeruginosa* n'a présenté aucune sensibilité aux deux extraits quelle que soit la dilution. Globalement, les bactéries Gram positives ont été plus sensibles que les Gram négatives,

bien que certaines souches Gram négatives (*P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* et *A. baumannii*) aient également montré une sensibilité variable

Selon Djenane *et al.* (2011), l'activité antibactérienne des extraits étudiés varie considérablement selon la souche bactérienne testée et le diamètre d'inhibition diminue systématiquement lorsque l'extrait est plus dilué (1/2 - 1/5- 1/20), cela explique que l'effet inhibiteur est directement lié à la concentration en principes actifs présents dans les extraits.

L'extrait commercial s'est révélé plus efficace contre certaines bactéries, notamment *Escherichia coli*, où il a présenté une faible activité inhibitrice (10 mm à la dilution 1/2 et 08 mm à 1/20), alors que l'extrait préparé au laboratoire n'a montré aucune activité détectable (< 06 mm). Cette observation est comparable à celle rapportée par Raho (2017) qui a observé une absence d'activité de l'huile essentielle, contrairement au Benhammou *et al.* (2008), qui ont mis en évidence une activité modérée des extraits de *P. lentiscus* L vis-à-vis de cette bactérie Gram négatif

Des résultats presque similaires ont été observés pour *K. oxytoca* et *Staphylococcus aureus*, pour lesquelles l'extrait commercial a produit des diamètres d'inhibition plus importants à toutes les dilutions testées.

En revanche les résultats de Mezni *et al.* (2012) et Djenane *et al.* (2011), qui ont rapporté une sensibilité élevée de *Staphylococcus aureus* aux extraits de *P. lentiscus* L du moment que *K. oxytoca* la sensibilité enregistrée est comparable aux observations de Koutsoudaki *et al.* (2005), qui ont signalé une activité antibactérienne des huiles essentielles et extraits de *P. lentiscus* L contre plusieurs entérobactéries du genre *Klebsiella*.

L'extrait d'huile essentielle préparé au laboratoire a démontré une meilleure efficacité contre *P. mirabilis* et *A. baumannii*, avec un diamètre d'inhibition atteignant 11 mm à la dilution 1/2. Cette activité est restée globalement supérieure à celle de l'extrait commercial au cours des dilutions successives. L'activité observée contre *P. mirabilis* est également en accord avec les travaux de Derwich *et al.*, (2010), qui ont montré que l'extrait d'HE de *P. lentiscus* L possède une action inhibitrice sur cette bactérie.

Par ailleurs, *A. baumannii*, connue pour sa multirésistance aux antibiotiques conventionnels, a montré une sensibilité notable aux deux extraits testés (11 mm et 09 mm à la dilution 1/2).

Ce résultat concorde avec les travaux de Peleg *et al.*, (2008), qui ont indiqué que certaines substances naturelles peuvent exercer une activité inhibitrice intéressante contre cette bactérie opportuniste..

Concernant *P. aeruginosa*, aucune activité antibactérienne n'a été observée pour les deux extraits (< 06 mm) quelles que soient les dilutions appliquées. Cette résistance peut être expliquée par la présence d'une membrane externe peu perméable associée à des systèmes de pompes d'efflux très efficaces, limitant la pénétration et l'accumulation des composés bioactifs. Des observations similaires ont été rapportées par Nikaido (2003) et Poole (2004), qui ont souligné le rôle majeur de ces mécanismes dans la résistance intrinsèque de *P. aeruginosa*.

Globalement, les bactéries Gram positives ont présenté une sensibilité plus élevée, traduite par des diamètres d'inhibition plus importants. Cette susceptibilité accrue peut être attribuée à la structure relativement simple de leur enveloppe cellulaire, constituée essentiellement d'une épaisse couche de peptidoglycane qui ne constitue pas une barrière efficace contre la diffusion des composés bioactifs.

À l'inverse, les bactéries Gram négatives se sont révélées globalement moins sensibles aux extraits testés. Cette résistance relative est principalement liée à la présence d'une membrane externe riche en lipo polysaccharides, qui limite la pénétration des molécules antimicrobiennes vers leurs sites d'action intracellulaires. Cette observation est particulièrement illustrée par *P. aeruginosa*, qui n'a présenté aucune sensibilité aux extraits étudiés, quelle que soit la dilution appliquée.

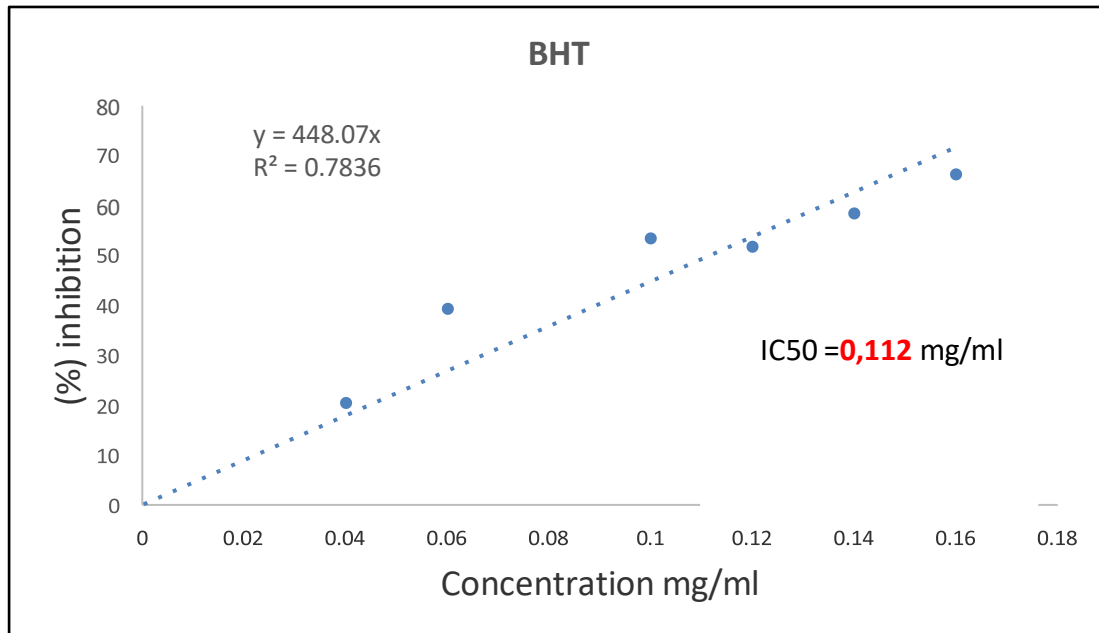
Cependant, certaines bactéries Gram négatives telles que *P. mirabilis*, *K. oxytoca* et *A. baumannii* ont présenté des degrés variables de sensibilité, suggérant que d'autres facteurs interviennent, notamment la composition de l'enveloppe cellulaire, les mécanismes de résistance intrinsèque et la nature des composés bioactifs présents dans les extraits.

De ce fait, les résultats obtenus confirment le potentiel antibactérien de *P. lentiscus* L décrit par plusieurs auteurs. Les différences observées entre l'extrait préparé au laboratoire et l'extrait commercial pourraient être attribuées aux variations de la composition

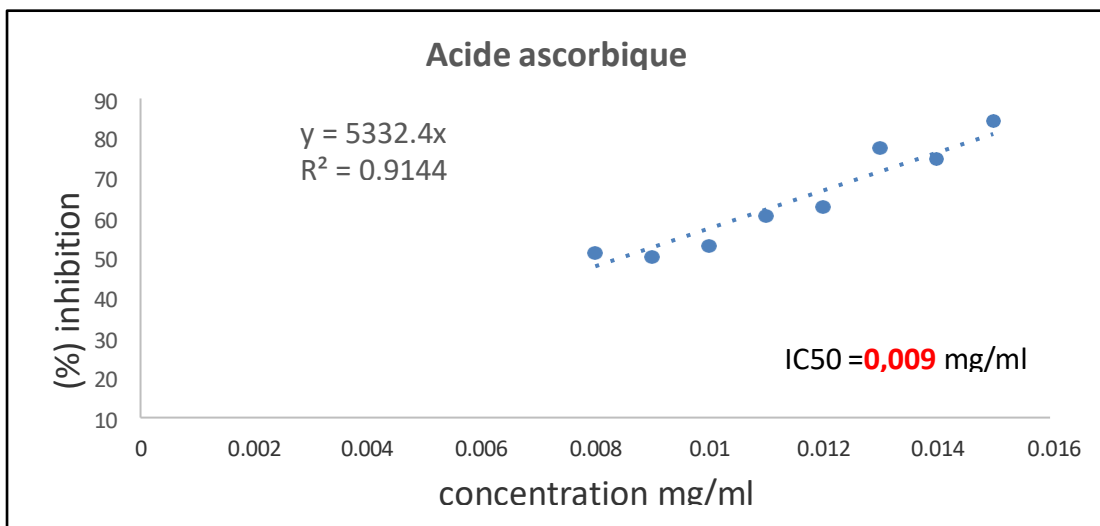
Chimique de la plante, aux méthodes d'extraction, aux conditions de conservation ainsi qu'à l'origine géographique du matériel végétal, des facteurs déjà signalés par Mezni *et al.* (2012) et Djenane *et al.* (2011) comme influençant fortement l'activité biologique de cette espèce.

### III.4. Évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH

L'activité antioxydante des HE de *P.lentiscus* L. (extraite au laboratoire et commerciale) a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, en utilisant l'acide ascorbique (AA) et le butylhydroxytoluène (BHT) comme antioxydants de référence. Les valeurs des concentrations inhibitrices médianes (IC50), définies comme la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire de 50% le radical DPPH, ont été déterminées par extrapolation à partir des courbes de régression linéaire.

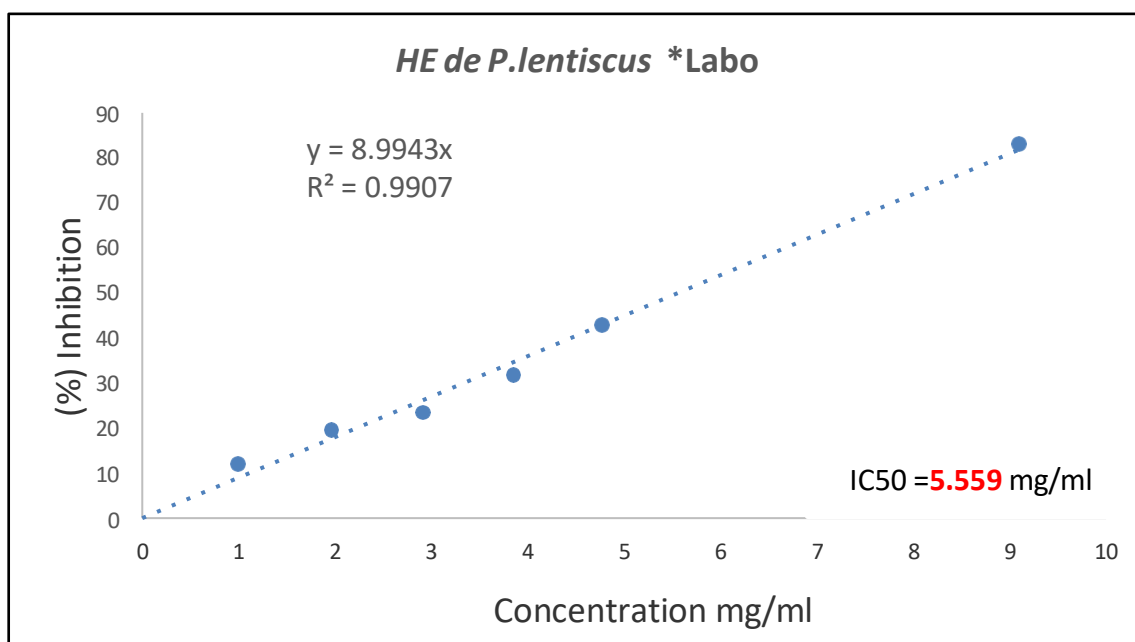


**Figure 25: Courbes de régression linéaire de l'activité anti-radicalaire (DPPH) d'antioxydant de référence (BHT) en fonction de la concentration.**



**Figure 26: Courbes de régression linéaire de l'activité anti-radicalaire (DPPH) d'antioxydant de référence (AA) en fonction de la concentration.**

Les courbes d'étalonnage de la régression linéaire de l'acide ascorbique et du BHT révèlent une augmentation rapide et significative du pourcentage d'inhibition (I%) à de très faibles concentrations, affichant des valeurs d'IC<sub>50</sub> respectives de 0,009 mg/ml et 0,112 mg/ml. Cette efficacité remarquable s'explique par la pureté chimique de ces composés de synthèse. L'acide ascorbique (Vitamine C) possède une structure hydrophile hautement réactive, capable de céder instantanément un atome d'hydrogène (proton H<sup>+</sup>) pour réduire le radical DPPH• (violet) en DPPH-H stable (jaune). De même, le BHT, présente une forte capacité de piégeage des radicaux libres avec une grande stabilité cinétique.



**Figure 27:** Courbes de régression linéaire de l'activité anti-radicalaire (DPPH•) des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L ( extraite au laboratoire ) en fonction de la concentration.

L'analyse quantitative montre que l'huile essentielle extraite au laboratoire induit une diminution de l'absorbance à 517 nm proportionnelle à l'augmentation de la concentration (effet dose-dépendant), avec une IC<sub>50</sub> de 5,559 mg/ml.

Bien que cette activité soit nettement inférieure à celle des molécules de référence, elle confirme le potentiel antioxydant d'HE de *P.lentiscus* L. Cette propriété est étroitement liée à la présence de ses composés volatils tels que les terpénoïdes .

L'huile essentielle commerciale n'a affiché aucune activité de piégeage radicalaire aux concentrations testées. Par conséquent, sa valeur d'IC50 n'a pas pu être déterminée (ND).

Les résultats de cette étude mettent en évidence que l'huile essentielle de *P. lentiscus* L. extraite au laboratoire possède des propriétés antioxydantes prometteuses, bien que faible par rapport aux standards synthétiques (AA et BHT)

**Nos résultats** concordent avec plusieurs travaux qui classent l'activité antioxydante de *P. lentiscus* L. comme modérée à faible par rapport aux antioxydants de synthèse.

En effet, l'étude menée par Charef *et al.*, (2008) sur l'HE de *P. lentiscus* L a révélé des valeurs d' IC50 comprises entre 3,5 mg/ml et 6,2 mg/ml

En revanche, Atmani *et al.*, (2019) ont rapporté une activité plus marquée avec une IC50 de 1,25 mg/ml.

Par ailleurs, Boutemine *et al.* (2018) ont mis en évidence une activité antiradicalaire plus prononcée pour l'HE de *P.lentiscus* , avec une IC50 de 2,10 mg/ml.

Nos résultats concernant la supériorité absolue des antioxydants de référence (BHT et Acide Ascorbique) rejoignent parfaitement les conclusions de Benhammou *et al.*, (2019).

Enfin, l'inactivité totale de L'HE commercial (IC50 = non déterminé) contredit l'ensemble de la littérature scientifique.

# *Conclusion*

**Conclusion**

Ce travail de recherche a été consacré à la valorisation du patrimoine phytogénétique de la flore Algérienne, en se focalisant sur une espèce majeure de la pharmacopée traditionnelle : *Pistacia lentiscus* L. (Lentisque pistachier), récoltée dans son habitat naturel au niveau de la région de Bastama (Wilaya de Djelfa). L'étude s'est portée sur l'extraction de son huile essentielle à partir des feuilles fraîches par hydrodistillation type Clevenger et l'évaluation *in vitro* des propriétés biologiques (antimicrobiennes et antioxydantes) de cette huile essentielle (HE), tout en menant une étude comparative avec un échantillon commercial de référence.

Les principaux résultats sont :

- L'extraction a fourni une HE limpide avec un rendement moyen de 0,40 %.
- Activité antimicrobienne : L'HE de laboratoire a montré une efficacité supérieure à celle du commerce contre *Proteus mirabilis* et *Acinetobacter baumannii* (11 mm à la dilution 1/2). À l'inverse, l'échantillon commercial s'est révélé plus actif sur *S. aureus*, *E. coli* et *K. oxytoca*. Par contre la souche *P. aeruginosa* est restée totalement résistante aux deux extraits.
- Activité antioxydante : L'HE extrait au de laboratoire a révélé un pouvoir de piégeage du radical DPPH modéré avec une IC50 de 5,559mg/ml . En revanche, l'échantillon commercial s'est montré totalement inactif,

De ce fait les résultats obtenus confirment le potentiel biomédical de l'huile essentielle extraite de *Pistacia lentiscus* L. provenant de Djelfa comme ressource naturelle d'agents bioactifs.

À l'issue de cette étude, notre travail ouvre la voie à de nouvelles limitation de recherche, notamment :

- Caractérisation chimique : Réaliser une analyse approfondie par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG-SM) afin d'identifier précisément le chémotype exact de l'HE de *Pistacia lentiscus* L. de la région de Bastama (Djelfa).
- Quantification antimicrobienne : Déterminer les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Bactéricides (CMB) par la méthode de micro dilution afin de quantifier avec précision l'effet inhibiteur de cette huile.

- Élargissement du screening biologique : Tester l'effet de cette HE sur d'autres souches pathogènes cliniques, notamment des souches fongiques (champignons et levures) ou des bactéries phytopathogènes pour une application en protection des cultures.
- Élargir les tests antioxydants à d'autres méthodes complémentaires (comme le test FRAP ou le blanchiment du bêta-carotène).
- Explorer et comparer de nouvelles méthodes d'extraction éco-responsables et innovantes (telles que l'extraction assistée par micro-ondes ou par ultrasons) sur le rendement et la réactivité antioxydante.
- Étudier la cytotoxicité de cette huile afin de garantir son innocuité en vue d'une éventuelle application thérapeutique ou alimentaire.

*Références*  
*Bibliographique*

# A

1. **Abbott, S. L. (2022).** *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and other Enterobacterales.* In J. E. Bennett, R. Dolin, & M. J. Blaser (Eds.), *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disases* (9th ed.). Elsevier.
2. **Abbott, S. L. (2022).** *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacterales.* In J. Versalovic, K. C. Carroll, G. Funke, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & D. W. Warnock (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (13th ed.). Washington, DC: American Society for Microbiology.
3. **AFNOR. (2000).**« Recueil de normes » : les huiles essentielles Tome 2 .Monographies relatives aux huiles essentielles.AFNOR. Paris (France). 661-663
4. **Aissata Camara (2009) : Lutte contre sitophilusoryzae I.** (coleoptera: curculionidae) et *tribolium castaneum herbst* (coleoptera:tenebrionidae) dans les stocks de riz par la technique d'étuvage traditionnelle pratiquée en basseguinée et l'utilisation des huile essentielles végétales, Thèse de Doctorat, Université du Québec à Montréal), p : 8-18
5. **Aït youssef M. (2006).** *Plantes médicinales de cabylie.* Paris, p 260-263.
6. **Ait Saidi, S., & Benmahioul, B. (2020).** Évaluation du rendement et de la composition chimique de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L. du Parc National de Theniet El Had (Algérie). *Journal of New Sciences*, 74(3), 4492–4498).
7. **Alloune, F, (2015).**Etude de l'extraction du limonène à partir des écorces d'orange,Univ, Tizi ouezou , P10-11-12-13-14.
8. **Al-Razi A.B. (1955).** *Kitab al-Hawi fi al-tibb* Osmania Oriental Publications Bureau, Osmania University, Hyderabad, India.
9. **Amhamdi, H., Aouinti, F., Wathelet, J.P., Elbachiri, A. (2009).** Chemical Composition of the Essential Oil of *Pistacia lentiscus* from Eastern Morocco. *records of natural products* , 3 , 90- 95.

10. **Antifungal activity of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu.** J. Am. Oil. Chem. Soc, 87(3), 327-336p
11. **Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., Robards, K., (2002).** Methods for testing antioxidant activity. *Analys.*, 127: 183–198.
12. **Antunes, L. C. S., Visca, P., & Towner, K. J. (2014).** *Acinetobacter baumannii*: Evolution of a global pathogen. *Pathogens and Disease*, 71(3), 292–301
13. **Anwar,F., Abbas, A., Mehamood, T., Gilani, A. H., & Rehmane, N. U. (2019).** *Mentha*: A genus rich in vital nutra-pharmaceuticals—A review. *Phytotherapy Research*, 33(10), 2548-2570.
14. **Arabi A., Djibaoui R., Malihac C., Sisbane I., Lattab A., Bechelaghem. Dahah H., Reziga C., Ettalhi M., Taleb F., Ouar Korichi M., Dahloun L(2017),** Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from leaves and twigs of *Pistacia lentiscus* growing in Mostaganem Province (Algeria), *International Journal of Biosciences*, 10 (5), P 146-158, 2017.
15. **Aruoma, O.I. (1998).** Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of American Oil Chemist Society* 75.
16. **Atik Bekkara, F. Ghembaza, N., Benhassaini, H ; Piras, A., Falconieri, D., & Rosa, A (2018)** *Fatty acid composition and antioxidant activity of Pistacia lentiscus L. fruit fatty oil from Algeria.* **Journal of Food Measurement and Characterization**
17. **Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., & Atmani, D. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, **112**(2), 303–309
18. **Aurousseau, B. (2002).** Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRA. *Product of Animal*. 15.

## B

19. **Bacis.(1999)**. Boalens Aroma Chemical Information Service - the complete Database of Essential Oils. Leffingwell and Associates publisher, Georgia, USA.137 p.
20. **Balasundram N., Sundram K. et Samman S.(2006)**. Composés phénoliques dans les plantes et les sous- produits industriels agricoles : activité antioxydante, présence et utilisations potentielles. Dans F. Chemistry (Éd.), (pp. 191-203).
21. **Bardeau F.(1976)**. **La medecine par les fleurs (p.45–52)**. Paris, France : Robert Laffont.
22. **Bartosz, G. (2003)**. Generation of reactive oxygen species in biological systems. Comments on Toxicol, 9, 5-21.
23. **Baudoux D.(2001)** . Aromatherapie : Se soigner par les huiles essentielles (2<sup>e</sup> Ed., pp. 45-60). Biarritz, France : Atlantica.
24. **Béatrice, D. R. (2009)**. Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires (4e ed.). Lavoisier
25. **Beckman, K. B., Ames, B. N. (1998)**. The free radical theory of aging matures. Physiol. Rev. (78): 574- 581.
26. **Beghlal D., El Bairi K., Marmouzi I., Haddar L., Boukili M.(2006)** **Phytochemical, organoleptic and ferric reducing properties of essential oil and ethanolic extract from *Pistacia lentiscus* L., Asian Pac J Trop Dis6 (4), P 305-310, 2016.**
27. **Beldi, M., Merzougui, H., & Lazli, A. (2021)**. Etude ethnobotanique du Pistachier lentisque *Pistacia lentiscus* L. Dans la wilaya d’El Tarf (Nord-est algérien)-. Ethnobotany Research & Applications, 21(09).1-17.
28. **Belfadel,F, Z , (2009)**. Huile de Fruits de Caractéristiques Physicochimiques et Effets Biologiques (Effet Cicatrisant Chez Le Rat). Magister en Chimie, Université Mentouri, Faculté des Sciences Exactes, Constantine .139 p.
29. **Bendjabeur, S. (2019 )**.Étude phytochimique et activités biologiques des huiles essentielles et des extraits éthanoliques de *Teucrium polium subsp. capitatum*, *Thymus algeriensis* et *Ammoides verticillata*. Thèse de doctorat, École Nationale Supérieure Agronomique (ENSA), El Harrach, Alger, Algérie, 225 p.

- 30. Benhassaini, H., Belabbas, R., Yabrir, B., (2012)..** Rendement et composition chimique des huiles essentielles des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. de la région de Ramka (Relizane, Algérie). *Afrique Science*, 8(2), 77–85.
- 31. Benhammou, N., Atik , B.F., Panovska, T.K. (2008).** Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus and Pistacia atlantica* Desf . *Advances in food sciences* ,29 , 155-161.
- 32. Benhammou, N., Bekkara, F. A., Panovska, T. K. (2008).** Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(2), 022-028.
- 33. Benhammou, N., et al. (2019).** Comparative study of antioxidant power of natural extracts and synthetic antioxidants (BHT, BHA) using DPPH method. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 4152-41
- 34. Benkherara, S., Bordjiba, O., & Ali Boutlelis, D. (2011).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale : *Salvia officinalis* L. sur quelques entérobactéries pathogènes. *Revue Synthèse*, N°23, Université Badji Mokhtar - Annaba (Algérie), p. 72
- 35. Benmehdi I. (2012).** Contribution à une étude phyto-écologique des groupements à *Pistacia lentiscus* du littoral de Honaine (Tlemcen, Algérie occidentale). Mémoire de Magister. Université ABOU BAKR BELKAID-TLEMCEM.
- 36. Benjilali B., Tantaoui-Elarki A., et Ismaili-Alaoui M., (1986).**« Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé ». *Plant. Méd. Phytothér.* 20, pp: 155-167.
- 37. Bensakhria, A. (2018).** Toxicologie générale-Stress oxydatif. Université atholique Saint Antonio de Murcia.
- 38. Benyoucef F., 2020** -Extraction et caractérisation des huiles essentielles de six plantes provenant de l'ouest Algérien (*Salvia argentea, Ammoides verticillata, Satureja candidissima Thymus fontanesii, Artemisia herba alba et Rosmarinus officinalis*): Effet de synergisme ou d'antagonisme sur l'activité antioxydante et antimicrobienne. Thèse de doctorat, Université Abou-Bekr Belkaid -Tlemcen - .158pp.

- 39. Besombes, C. (2008).** Thèse de Doctorat : Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermomécanique d'herbes aromatiques, Applications généralisées. Université de La Rochelle. France.
- 40. Blois, M. S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*. 181, 1199-1200.
- 41. Bonnier, G., et Douin, A. (2023).** Le lentisque : une plante aux multiples utilisations. *Industrie et Technologie*, 125(5), 34-37.
- 42. Boudieb, K., Ait Slimane-Ait Kaki, S., & Amellal-Chibane, H. (2019).** Traditional uses, phytochemical study and morphological characterization of *Pistacia lentiscus* L. fruits from three areas of northern Algeria. *Journal of Applied Biosciences*, 135, 13788–13797.
- 42. Bouras, M. (2018).** Thèse de Doctorat : Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de certaines plantes de l'est algérien sur des souches résistantes aux antibiotiques. Université Badji Mokhtar-Annaba.(Algérie).p150.
- 43. Boutemine, I. M., Amri, M., Amir, Z. C., Fitting, C., Mecherara-Idjeri, S., Layaida, K., Sennoun, N., Berkane, S., Cavaillon, J. M., & Touil-Boukoffa, C. (2018).** Gastro-protective, therapeutic and anti-inflammatory activities of *Pistacia lentiscus* L. fatty oil against ethanol-induced gastric ulcers in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 224
- 44. Boyd, B., Ford, C., Koepke Michael, C., Gary, K., Horn, E., McAnalley, S., McAnalley, B. (2003).** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience et Nutrition*, 4(6), 7.
- 45. Boughrara, M.I. (2015).** Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait de *Pistacia lentiscus* L. et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques. Thèse de doctorat en Biochimie (3<sup>e</sup> cycle LMD), Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie, 136 p.

- 
46. **Bruneton J. (1999)** .Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. Tec et doc et EM inter 1120, Paris
47. **Bruneton, J. (1993)**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Technique et documentation. Lavoisier Ed., Paris, 418-419
48. **Bruneton, J.(2016)**. Pharmacognosie,Phytochimie et plantes médicinales.; 5ème édition.; Technique et documentation.
49. **Budavaris ,S.;Oneil, M. J.; Smith,A;Heckeliman,P.E.;Kinneary,J.F.(1996)**. The Merk Index-Twelfth edition, Whitehouse Station: Merk and Co, INC, 1996, 2350.
50. **Burt S. (2004)**, Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in foods -a review. International Journal of Food Microbiology, 94(3), 223-
51. **Burt, S., (2004)**. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. Int. J. Food Microbio, 94, 223-253.
52. **Burt, S. A., & Reinders, R. D. (2003)**. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. Letters in Applied Microbiology 36(3), 162- 167.

## C

53. **Carson,CF.,Mee, BG., et al. (2002)**, Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy, Antimicrob, Agents Ch. 46(6), 1914-1920.
54. **Cavalli J. F. (2002)** Caracterisation par CPG/IK, CPG/SMet RMNdu carbone-13 d'huiles essentielles, madagascar : Université de Corse Pascal Paoli.
55. **Charef, M., Yousfi, M., Saidi, M. and Stocker, P. (2008)**. Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria. J Am Oil Chem Soc. 85:921–924
56. **Chemat F., Fabiano-Tixier A.S., Hellal A., Boutakjiret C. Fernandez X., (2012)** Eco-extraction des huiles essentielles : intensification et innovation. La chimie des huiles enssetielles tradition et innovation, Vuibert, Paris

- 57. CHenni.M (2016)** : Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielles des feuilles du basilic « *Ocimum basilicum* L » extraite par hydrodistillation et par micro-ondes, thèse de doctorat, université d'Oran, p : 22-39.
- 58. Chen I, Chang H, Yang H & Chen G. (2004).** Evaluation of total activity of several popular vegetables and Chinese herbs: a fast approach with ABTS/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/HRP system in micro plates, *Journal of food and drug analysis*; 29-33.
- 59. Cheriti, A. (2000).** Les plantes médicinales et aromatiques d'Algérie : Richesse et potentiel thérapeutique. *Journal de Pharmacognosie*, 12(1), 45-52.
- 60. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2025.** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 35e édition
- 61. Cristiani M., D'arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M.G., Micieli D(2007),** Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(15), 6300-6308p

## D

- 62. Daaboul, M. (2004).** Le rôle prépondérant du végétal dans l'évolution des sociétés humaines. Éditions Sciences et Vie, Paris, pp. 88-94.
- 63. Dacosta, Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Ed. Yves Dacosta, Paris, p. 317.
- 64. Davidson P.M, Parish M.E (1989),** Methods for testing the efficacy of food antimicrobial. *Food Technology*, 43(1), 148-155p
- 65. Davidson PM., (1997),** Methods for testing the efficacy of food antimicrobial, *Food Technology*, p:148 155.

- 66. Derwich, E., Benziane, Z., Chabir, R., Taouil, R., & Senhaji, O. (2010).** In vitro antibacterial activity and phytochemical screening of *Pistacia lentiscus* extracts. *Nature and Science*, 8(12), 181–185.
- 67. Deschepper, R. (2017).** Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie (Doctoral dissertation). faculté de Pharmacie de Marseille .p149.
- 68. Djeddi S.(2012).** Les mystérieux des huiles essentielles, Ed. Presses Academiques Francophones, Allemagne.
- 69. Djenane, D., Yangüela, J., Montañés, L., Djerbal, M., & Roncalés, P. (2011).** Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* L. extracts. *Food Control*, 22, 1031-1036.
- 70. Dogan, Y., Baslar, S., Aydin, H., & Mert, H. H. (2003).** A study of the soil-plant interactions of *Pistacia lentiscus* L. distributed in the western Anatolian part of Turkey. *Acta Botanica Croatica*, 62(2), 73–88.
- 71. Dorvault, F, (1928).**L'officine ou Répertoire Général de Pharmacie Pratique.17ème Edition .VigotFrères Ed .Paris. 2012 p.

## E

- 72. Echchaoui .M (2018):** Le pouvoir antibactérien des huiles essentielles, thèse de doctorat, université BARAT, p : 60-70.
- 73. El Bouzidi, L., Aoutar, M., Fadil, M., (2013).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Taounate (Morocco). *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(32), 2411–2418.
- 74. Elhaib.A .(2011) :** valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques, thèse de doctorat, Université Toulouse III, p: 6, 7.
- 75. Ernest ,J. P. (2008):**The chemistry of essential oils and artificial perfumes ,4th edition, revised and enlarged of monographs on essential oils( volume 2), Scott, greenwood and son 8 Broadway, ludgate, London, p: 1- 81, 304- 308.

---

# F

76. **Fatnassi, T. (2019)**. Caractérisation Phytochimique et Physicochimique d'un Extrait de *Pistacia lentiscus* Issue de Deux Régions (Nord –Est Et Est) Algériennes. Mémoire de Magister Biochimie Appliquée, Université Mohamed Khider de Biskra.40p.
77. **Fekih N(2014)**: propriétés chimiques et biologiques des huiles Essentielles de trois espèces du genre *pinus* Poussant en Algérie, thèse de doctorat, Université Tlemcen, faculté des sciences, p : 6-57.
78. **Ferhat, M. (2016)**. les procédés d'extractions des huiles essentielles. (p. 47). France: Universitaire Européennes.
79. **Finar I.L., (1994)**. «Organic chemistry»: Stereochemistry and the chemistry of natural products. Vol. 2, p. 354.

# G

80. **Gachkar, L., Yadegarinia, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, S.A., & Rasooli, I. (2006)**. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*, 67(12), 1249-1255
81. **Ganzler, K., Salgo, A., et Valko, K. (1986)**. Microwave Extraction: a novel sample preparation method for chromatography. 371, pp. 229-306. *Journal of Chromatography A*.
82. **Georgetti, S.R., Casagrande, R., Di Mambro, V.M., Azzolini Ana, ECS., et Fonseca Maria,J.V. (2003)**. Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. *American Association of Pharmaceutical Scientists*. 2: 5p
83. **Ghaoui, A.,Hadjailia, R.,Nouaouria H.(2023)**.Évaluation de l'activité antioxydante de deux plantes médicinales (*Calendula suffruticosa* et *Drimia anthericoides*).Mémoire de Master.8 Mai Guelma(Algérie).p70

**84. Gilles, J. (1976).** Traité de phytothérapie moderne : Propriétés et principes actifs des plantes médicinales. Maloine Éditeur, Paris.

**85. Guba, R, (2001)** Toxicity myths-essential oils and their carcinogenic potentiel. International Journal of Aromatherapy. 11, 76-83.

## H

**86. Harrat, M., Benaliab, M., Gourine, N., Yousfi, M. (2018) .** Variability of chemical composition of fatty acids, tocopherols and the antioxidant activity of the lipids from the leaves of Pistacia lentiscus L. from Algeria . Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism , 10 , 2-16

**87. Hart T. et Shears p., (1999).**Atlas de poche de microbiologie, Médecine-Sciences Flammarion, Paris, 3

## I

**88. Iserin, P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, préparations, soins. Larousse, Paris.

## J

**89. Jalayer-Naderi N. (2016).** Iranian Journal of Microbiology, 8(6), 372-376

**90. Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2021).** The Enterobacterales. In J. Versalovic et al. (Eds.), Manual of Clinical Microbiology (12th ed.). ASM Press.

**91. Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2021).** The Enterobacterales (3rd ed.). Washington, DC: ASM Press.

92. **Jha, P., Flather, M., Lonn, E., Farkouh, M., et Yusuf, S. (1995).** The antioxidant vitamins and cardiovascular disease: a critical review of epidemiologic and clinical trial data. *Annals of Internal Medicine*, 123(11), 860-872.

93. **Kalemba, D., Kunicka, A. (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* 10 : 813-829.

## K

94. **Kheyar, N., Meridja, D., & Belhamel, K. (2014).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. *Algerian Journal of Natural Products*, 2(1), pp. 18-

95. **Kıvçak B., Akay S., Demirci B., Baser K.H.C,(2004)** Chemical Composition of Essential Oils from Leaves and Twigs of *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. chia, and *Pistacia terebinthus* from Turkey, *Pharmaceutical Biology*, 42, P 360-366,2004.

96. **Kozioł N. (2015):**Huiles essentielles d'Eucalyptus globulus, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbiacitriodora* : qualité, efficacité et toxicité, thèse de doctorat, université de lorraine, p:16.

97. **Koutsoudaki, C., Krsek, M., & Rodger, A. (2005).**Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus* var. chia.*Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(20), 7681–7685.

98. **Kusuma, H. S., & Mahfud, M. (2017).** The sustainability of essential oils production on the international market. *Chemical Engineering Journal*, 310, 224-232.

# L

99. **Ladd P.G., Crosti R., Pignatti S., (2005).** Vegetative and seedling regeneration after fire in planted Sardinian pinewood compared with that in other areas of Mediterranean type climate. *Journal of Biogeography*. 32, 85-98.
100. **Laguerre M., López-Giraldo L. J., Lecomte J., Pina M., Villeneuve P. (2007)** Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante, *journal OCL* vol. 14 N° 5 : 278-292
101. **Lavilla, I., & Bendicho, C. (2017).** Fundamentals of ultrasound-assisted extraction. In H. Domínguez González & M. J. González Muñoz (Eds.), *Water Extraction of Bioactive Compounds: From Plants to Drug Development* (pp. 291–316). Elsevier.
102. **Lemaistre J. (1959).** Le Pistachier (Etude Bibliographique). *Fruits* 14, 57 – 77.
103. **Lévy-Dutel, L., Scotto, E. (2011).** *Vivre heureux et centenaire* (ed) Eyrolles.
104. **Lisabalchin, M. (2002).** Lavender: the genus *Lavandula*. Taylor and Francis, London. p: 37, 40, 50, 155-200.

# M

105. **M. Bozorgi, Z. Memariani, M. Mobli, M.H.S. Surmaghi, M.R. ShamsArdekani, R. Rahimi. (2013).** Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): a review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology *Sci World J*, 219815 pp. 1-33

- 106. Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. 192 p
- 107. Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2021).** Brock Biology of Microorganisms (16th ed.). New York: Pearson Education.
- 108. Mehani, M. (2015).** Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Eucalyptus camendulensis dans la région Ouargla (Doctoral dissertation).
- 109. Merabet G. (2018).** Thèse de doctorat : Huiles essentielles de trois espèces d'Eucalyptus d'Algérie composition et activité acaricide (*Varroa destructor*).
- 110. Messaoudi, S., Lahouazi, N. (2015).** Activité antioxydante des extraits et des huiles de l'inule visqueuse..Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur en génie chimique nationale polytechnique d'Alger (Algérie).p62.
- 111. Mezni, F., Aouadhi, C., Khouja, M. L., Khaldi, A., & Maaroufi, A. (2012).** Antibacterial activity of *Pistacia lentiscus* extracts. Journal of Medicinal Plants Research, 6(4), 526-530.
- 112. Miller, N.J., Castelluccio, C., Tijburg, L., Rice-Evans, C., (1996).** The antioxidant properties of theaflavins and their gallate esters-radical scavengers or metal chelators. FEBS Letters, 392: 40-44.
- 113. Molyneux P, 2004.** Use of DPPH to estimate antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol. Vol. 26 № 2. 212p.
- 114. Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity ; Songklanakarin J. Sci. Technol., 26 (2) : 211-219.

**115. Moradali, M. F., Ghods, S., & Rehm, B. H. A. (2017).** *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: A paradigm for adaptation, survival, and persistence. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7, 39.

**116. More D , White J.(2005).** Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde.1e édition , Flammarion ,832.

## N

**117. Nikaido H. (2003).** Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 593-656.

## O

**118. Ozenda, P. (1977).** Flore du Sahara. 2ème édition, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Paris, pp. 120-135.

## P

**119. Paczosa, M. K., & Mecsas, J. (2016).** *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3), 629–661

**120. Peleg A.Y., Seifert H., Paterson D.L. (2008).** *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(3), 538-582.

**121. Pharmacopée française, (2016).** Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) - 11ème édition.

- 122. Pibiri M.C.(2005).** « Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles ». Thèse de doctorat ès sciences, école polytechnique fédérale de Lausanne. pp : 19-55.
- 123. Piras, A., Rosa, A., Falconieri, D., (2017)..** Chemical composition, yield and seasonal variation of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Sardinia (Italy). *Natural Product Research*, 31(18), 2134–2141.
- 124. Ponce A.G., Fritz R., del Valle C. and Roura, S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology*, 36, p: 679–684
- 125. Poole K. (2004).** Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. *Clinical Microbiology and Infection*, 10(1), 12-26.
- 126. Pourmortazavi S.M., Hajimirsadeghi S.S, (2007).** Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *J. Chromatogr A*, 1163(1-2), 2-24p
- 127. Prior R.L., Wu X., Schaich K.,(2005)** Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 : 4290-4302.

## Q

- 128. Quézel, P., & Santa, S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I. Paris : Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS)

---

# R

129. **Rahman, A.U., Nasim, S., Baig, I., Jalil, S., Orhan, I., Sener, B. et Choudhary, M.I. (2003).** Antiinflammatory isoflavonoids from rhizomes of *Iris germanica*. *Journal of Ethnopharmacology*, 86, 2-3: 177-180.
130. **Raho G.B. (2017).** Evaluation of antibacterial activity of essential oil from Algerian *Pistacia lentiscus* resin. *Journal of Medicinal Botany*, 1(1), 8-14.
131. **Remilaa, S., Atmani, K.D., Delemasurec, S., Connat, J.L., Aziba, L., Richardd, T., Atmania, D. (2015).** Antioxydant, cytoprotective, anti-inflammatoire et anticancer activités de *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts *European Journal of Integrative Medicine*, 7(3), 274-28.
132. **Rivera-Nuñez, A., et Obón De Castro, R. (2022).** Le mastic : une plante aromatique et ses utilisations traditionnelles. *Journal of Ethnopharmacology*, 282, 114466.
133. **Rogosic, J., Estell, R.E., Ivankovic, S., Kezic, J., Razov, J. (2008).** Potential mechanisms to increase shrub intake and performance of mall ruminants in Mediterranean shrubby ecosystems. *Small Ruminant Research*, 74: 1–15
134. **Rolland, Y. (2004).** Antioxydants naturels végétaux, Oléagineux, Corps Gras, Lipides, 11(6) : 419-424.
135. **Rozman, T.,Jersek,B. (2009).** Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) against different species of *Listeria*. *Acta agriculturae Slovenica* 93(1), 51.

# S

136. **Saadoun S.N., (2002).** Types stomatiques du genre *Pistacia* : *Pistaciaatlantica* L.Desf.ssp. *Atlantica* et *Pistacialentiscus* L. *Natural ResourcesLaboratory*, Cité des

300Logements, Bt. F2, No. 183, Boukhalfa, Tizi-Ouzou, Algérie. Options Méditerranéennes, Série A, N°63. P 371.

**137. Samate A. D. (2002):**Compositions chimiques d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso: valorisation, thèse de doctorat, université d'Ouagadougou, p : 4-59.

**138. Satrani B., Fougrach H., Bourkhiss B., Bousta D., et Talbi M.(2007).** « Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus* ». Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 146, pp : 85-96.

**139. Schwartz. R, R. Davis, T.J,( 1992).** Hilton. Effect of temporary cements on the bond strength of resin cement

**140. Servais, S. (2004).** Altération mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : effets de l'age et d'une supplémentation en OMEGA-3. Thèse de doctorat. Dans C.-L. Université de (Éd.), (pp. 19-22). Claude Bernard.

**141. Shahin, S. A., Naresh, K., Abhinav, L.(2008).** Indian medicinal herbs as sources of antioxydants. Dans ScienceDirect (Éd.). 41, pp. 1-15. Elsevier.

**142. Shaaban H.A.E; El- GhorabA.H,Shibamotoand T;(2012).**Bioactivity of essential oils and their volatile aroma components :Review .J.Ess. Oil Res ;24(2),203-212.

**143. Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., SharifiRad,J.(2020).** Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: back and forth in the pathophysiology of chronic diseases.Frontiers in physiology, 11, 694.

**144. Smadja, J. (2009).** Essential Oils: Chemical Composition and Localization in Essential Oils and Aromas, Green Extractions and Applications. Farid Chemat editor. Har Krishan Bhalla&Son, India

**145. Snoussi, M., Ben Hadj Ali, I., & Boukhris, M. (2003).** Patrimoine phytogénétique et biodiversité en Afrique du Nord : Importance écologique et répartition spatiale. Revue d'Écologie Méditerranéenne, 29(2), 201-215.

146. Souza E.L., Guerr N.B., Stamford T.L.M., Lima E.O (2006), Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. Rev. Bras. Farm, 87(1), 22-25p

## T

147. Tison, D.F., Jean-Marc, B.,( 2014). Flora Gallica : Flore de France. Mèze, France: Biotope Éditions

148. Tong, S. Y. C., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G. (2015). *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clinical Microbiology Reviews, 28(3), 603–661.

149. Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential oils: Extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. Journal of Food Science, 79(7), R1231-

## U

150. Ultee A., Bennik M.H.J., Moezelaar R, 2002, The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen Bacillus cereus. Appl Environ Microbiol, 68(4), 1561-1568p

## V

151. Valnet J. (1984). Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes. Maloine S.A. éditeur. Paris p 544, ce point varie de 160°C à 240°C.

152. Venkatachalam U., Muthukrishnan S.,(2012). Activité de piégeage des radicaux libres de l'extrait éthanolique de *Desmodium gangeticum*. Journal of Acute Medicine, 2(2), p 36-42.

153. Verdu, M .,Garcia-Fayos, P , (1998).Female Biased Sex Ratios in *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae). Kluwer Academic Publishers. Printed In Belgium.135: 95–101 p.

## W

154. Wang L., Yen J., Liang H. et Wul M.(2003). Effet antioxydant des extraits méthanoliques de plumule et de fleur de lotus (*Nelumbo nucifera Gertn*). Dans J.o. Analysis, 11, pp. 60-66.

## Y

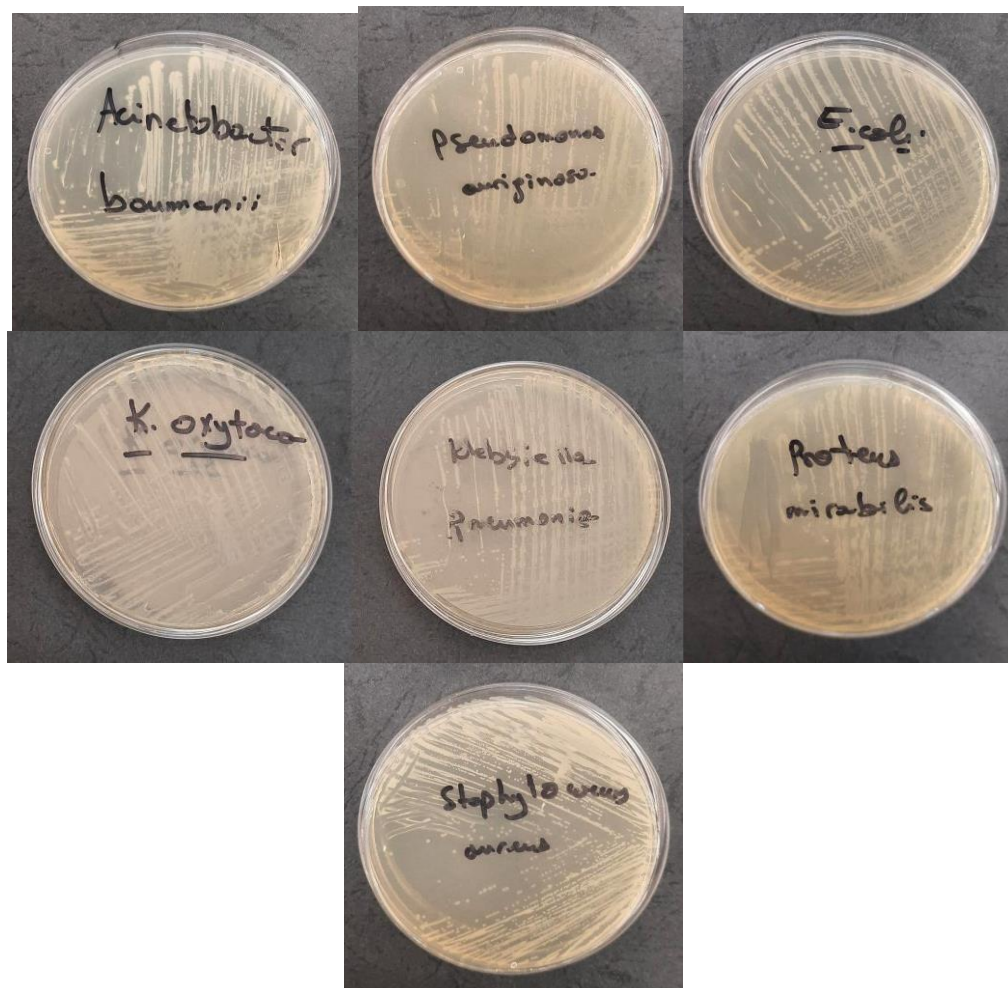
155. Yanishlieva, N. V., Marinova, E. M., Gordon, M. H., et Raneva, V. G. (1999). Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. Food Chemistry, 64(1), 59-66.

## Z

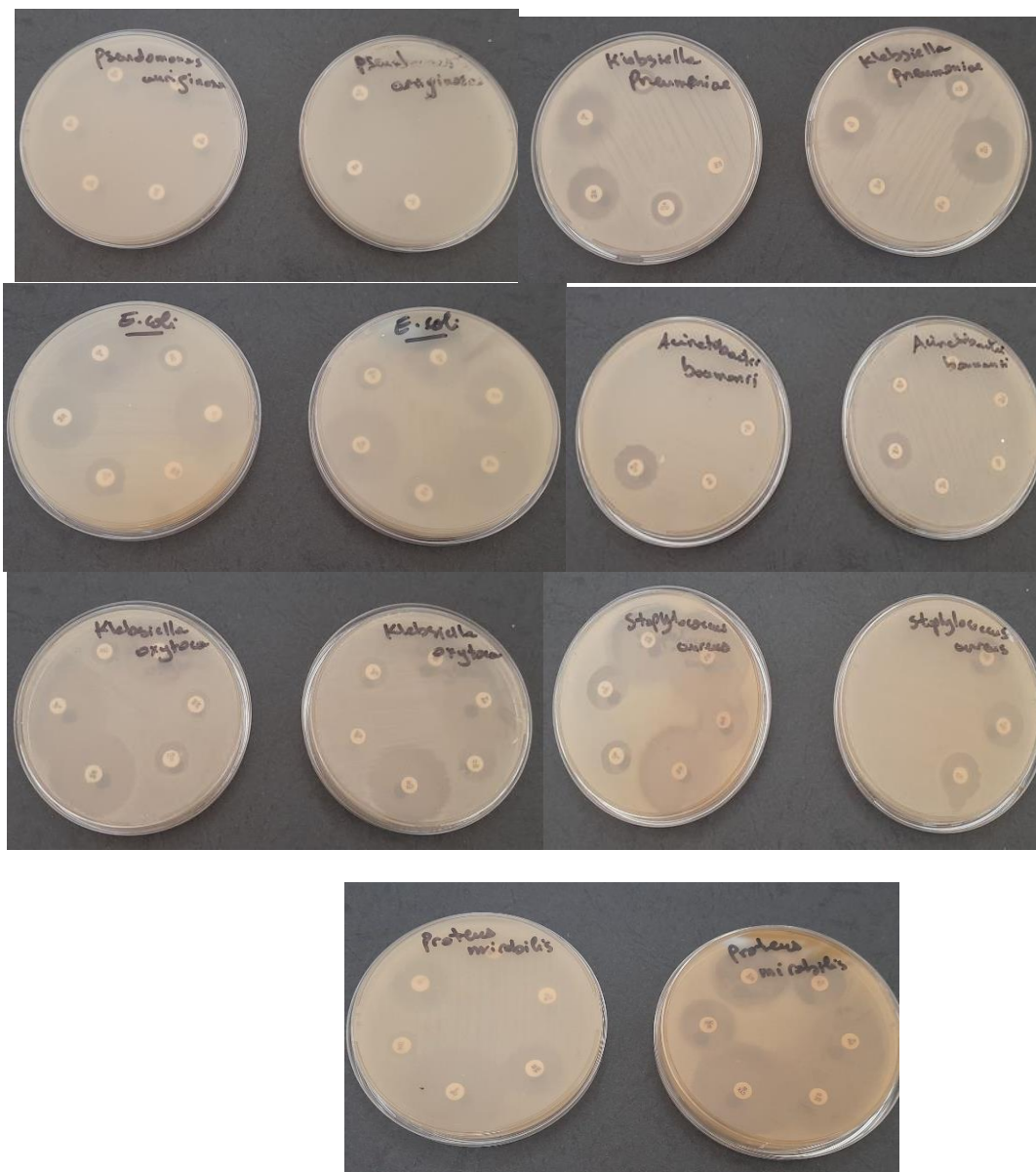
156. Zlotorzynski, A. (1995). Microwaves assisted extraction of essentials oils from vegetal material. (pp. 43- 76). Anal.Chem.

# **Annexes**

**Annexe 01** : Repiquage des souches bactériennes (Aspect macroscopique)



**Annexe 02** : Résultats des antibiogrammes des souches testées



## Annexe 03

**Table de lecture 3<sup>\*</sup> : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*.**

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)				CMI critiques (µg/ml)				Commentaires
		R	I	S	R	I	S			
Ticarcilline + ac. Clavulanique	75/10µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128/2	32/2 - 64/2	≤ 16/2	Les breakpoints des céphalosporines ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises. Pipéracilline : 4 g toutes les 6h, Pipéracilline + tazobactam : 4,5 g toutes les 6h, Ticarcilline + ac. Clavulanique : 3 g toutes les 6h, céftazidime et aztréonam : 1 g toutes les 6h ou 2g toutes les 8h.  Détecter une BLSE en plaçant le disque de TCC entre le disque de CAZ et le disque d'ATM.		
Pipéracilline	100 µg	≤ 17	18 - 21	≥ 22	≥ 64	32	≤ 16			
Pipéracilline + tazobactam	100 µg/10 µg	≤ 17	18 - 21	≥ 22	≥ 64/4	32/4	≤ 16/4			
Céftazidime	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8			
Aztréonam	30 µg	≤ 15	16 - 21	≥ 22	≥ 32	16	≤ 8	En cas de diamètre R ou I, faire une détection de carbapénémases Valeurs critiques basées sur une posologie de 1g toutes les 8 h ou 500mg toutes les 6 h.		
Imipénème	10 µg	≤ 15	16 - 18	≥ 19	≥ 8	4	≤ 2			
Meropénème	10 µg	≤ 15	16 - 18	≥ 19	≥ 8	4	≤ 2			
Ceftolozane + tazobactam	30/10µg	≤ 16	17 - 20	≥ 21	≥ 16/4	8/4	≤ 4/4			
Céftazidime+ avibactam	30/20µg	≤ 20	---	≥ 21	≥ 16/4	---	≤ 8/4	La détermination de la CMI par microdilution en milieu liquide, CBDE (technique d'éluion des disques) et CAT (Dilution en milieu gélosé) sont acceptables (voir tests complémentaire), le disque et E-test ne doivent pas être utilisés.		
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16			
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 - 18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1			
Ciprofloxacine	5µg	≤ 18	19 - 24	≥ 25	≥ 2	1	≤ 0,5			
Lévofloxacine	5µg	≤ 14	15 - 21	≥ 22	≥ 4	2	≤ 1	La détermination de la CMI par microdilution en milieu liquide, CBDE (technique d'éluion des disques) et CAT (Dilution en milieu gélosé) sont acceptables (voir tests complémentaire), le disque et E-test ne doivent pas être utilisés.		
Colistine**	CMI	---	----	---	>4	---	≤4			

\*Tableau extrait du Document CLSI M100 - 35th ed. 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing..

\*\* Extraits des recommandations de l'EUCAST 2025 Abréviations : BLSE : β-Lactamase à Spectre Étendu. TCC : ticarcilline + acide clavulanique. CAZ : céftazidime. ATM: aztréonam. CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

**Table de lecture 4<sup>1</sup>: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Acinetobacter* spp.**

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarcilline + ac.clavulanique	75/10µg	≤ 14	15 - 19	≥ 20	≥ 128/2	32/2-64/2	≤ 16/2	Le disque de TCC doit être placé à côté du disque de CAZ. Une synergie entre les 2 disques indique la présence d'une BLSE. Les critères d'interprétation pour l'imipénème sont basés sur la posologie de 500mg toutes les 6h.
Pipéracilline	100 µg	≤ 17	18 - 20	≥ 21	≥ 128	32-64	≤ 16	
Pipéracilline + tazobactam	100 µg/10 µg	≤ 17	18 - 20	≥ 21	≥ 128/4	32/4-64/4	≤ 16/4	
Ceftazidime	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Impénème	10 µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22	≥ 8	4	≤ 2	
Méropénème	10 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 8	4	≤ 2	
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 - 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Doxycycline**	30µg	≤ 9	10 - 12	≥ 13	≥ 16	8	≤ 4	
Minocycline	30µg	≤ 17	18 - 21	≥ 22	≥ 4	2	≤ 1	
Triméthoprime+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 - 15	≥ 16	≥ 4/76	---	≤ 238	
Tigecycline	(CMI)	---	---	---	---	---	---	
Colistine***	CMI	---	---	---	≥ 2	---	≤ 2	

\*\*Tableau extrait du Document CLSI M100 . 35th ed . 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing , \*\*Tableau extrait du Document CLSI M100 . 34th ed . 2024. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.\*\*\* Extraits des recommandations de l'EUCAST 2025

Abbréviations : BLSE : β-Lactamase à Spectre Étendu, TCC : ticarcilline + acide clavulanique, CAZ : ceftazidime, CMI : concentration Minimale Inhibitrice.

Recommandations Nationales pour la Réalisation des tests de sensibilité aux antibiotiques

9<sup>ème</sup> édition 2025Table de lecture 1\*. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Enterobacteriales (Salmonella/Shigella exclus)*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8	La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline. Les breakpoints des céphalosporines et de l'aztréonam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises : céfazoline (2g toutes les 8h), céfotaxime (2g toutes les 6h), céfotaxime (1g toutes les 8h). Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R, I ou S se fait en se référant aux CMI mesurées. A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière.
Amoxicilline +Ac. clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4	
Piperacilline+ Tazobactam	100/10µg	≤ 20	21 – 24	≥ 25	≥ 32/4	16/4	≤ 8/4	
Céfazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	
Céfoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	
Ceftriaxone	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	
Ceftazidime*	30/20 µg	≤ 20	---	≥ 21	≥ 16/4	---	≤ 8/4	
Avibactam	30/10µg	≤ 18	19 – 21	≥ 22	≥ 8/4	4/4	≤ 2/4	
Tazobactam	30µg	≤ 14	---	≥ 15	≥ 32	---	≤ 16	
Céfazoline (infections non compliquées du tractus urinaire)	30µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4	
Aztréonam	10µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	
Imipénème	10µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	
Méropénème	10µg	≤ 18	19 – 21	≥ 22	≥ 2	1	≤ 0,5	
Ertapénème	10µg	≤ 16	17 – 19	≥ 20	≥ 16	8	≤ 4	
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 8	4	≤ 2	
Gentamicine	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 19	≥ 32	---	≤ 16	
Acide nalidixique	5µg	≤ 21	22 – 25	≥ 26	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
Ciprofloxacine	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Chloramphénicol	CMI	---	---	---	> 2	---	≤ 2	
Colistine**	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32	
Furanes	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64	
Fostomycine	1,25/23,75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	---	≤ 2/36	

\*Tableau extrait du Document CLSI M100, 35th ed. 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. \*\* Extraits des recommandations de l'EUCAST 2025. Abréviations : PK-PD :

Pharmacocinétique – pharmacodynamique. BLSE : β-Lactamase à Spectre Étendu. CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

[http://www.pasteur.dz/aam\\_aam@pasteur.dz](http://www.pasteur.dz/aam_aam@pasteur.dz)

**Table de lecture 6\* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus* spp.**

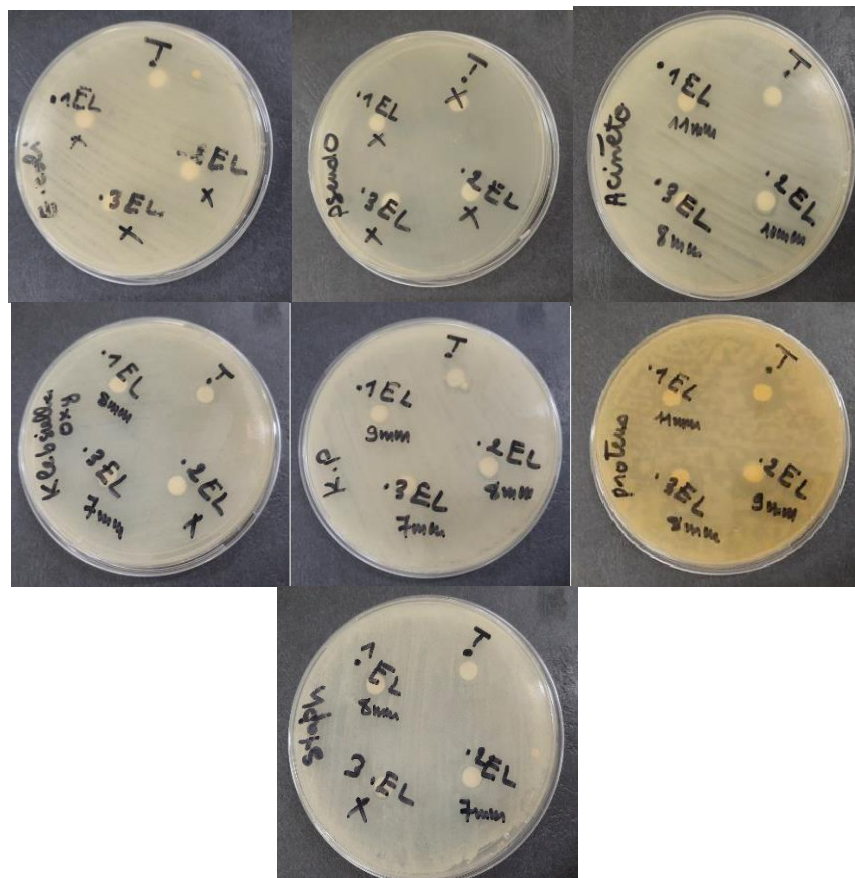
Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline	10 UI	≤ 28	---	≥ 28	≥ 0,25	----	≤ 0,12	Le test de la D-lacéchase confirme les cas douteux. Interprétation valable pour toutes les pénicillines inactivées par les D-lacéchases (ampicilline, ticarcilline, ticarcilline....)
Oxacilline ( <i>S. aureus</i> et <i>S. lugdunensis</i> )	CMI	----	----	----	≥ 4	----	≤ 2	
Cefoxitine ( <i>S. aureus</i> et <i>S. lugdunensis</i> )	30 µg	≤ 21	---	≥ 22	≥ 8	----	≤ 4	
Oxacilline ( <i>Staphylococcus</i> spp. sauf <i>S. aureus</i> et <i>S. lugdunensis</i> )	CMI	----	---	----	≥ 1	----	≤ 0,5	Le disque d'oxacilline n'est pas fiable. Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méthicilline de <i>S. aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative.
Cefoxitine ( <i>Staphylococcus</i> spp. sauf <i>S. aureus</i> , <i>S. lugdunensis</i> , <i>S. pseudintermedius</i> , <i>S. echinus</i> et <i>S. capitis</i> )	30 µg	≤ 24	---	≥ 25	---	----	---	
Ceftaroline	30 µg	≤ 19	20-24 SDD	≥ 25	≥ 8	2-4 SDD	≤ 1	SDD : Souches sensibles dose dépendantes, la sensibilité dépend de la posologie.
Genamidine	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosides sauf à la streptomycine. **
Erythromycine	15 µg	≤ 13	14-22	≥ 23	≥ 8	1-4	≤ 0,5	Détecter la résistance inducible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque de clindamycine. En présence d'une image d'antagonisme, répondre « Résistance à l'érythromycine et à la clindamycine ».
Clindamycine	2 µg	≤ 14	15-20	≥ 21	≥ 4	1-2	≤ 0,5	
Vancomycine ( <i>S. aureus</i> )	CMI	---	---	----	≥ 16	4-8	≤ 2	Le disque de vancomycine ne permet pas de différencier les souches vancomycine « S » et « I » de <i>Staphylococcus aureus</i> . ni de différencier les souches vancomycine « S », « I » et « R » de <i>S. S. N.</i> , car les diamètres d'inhibition sont similaires. La détermination de la CMI de la vancomycine est obligatoire. Se référer au chapitre recherches complémentaires
Vancomycine (SOSA)	CMI	---	---	----	≥ 32	8-16	≤ 4	
Téicoplanine	CMI	---	---	----	≥ 32	16	≤ 8	
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5 µg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1	
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 4/76	---	≤ 2/88	
Rifampicine	5 µg	≤ 16	17-19	≥ 20	≥ 4	2	≤ 1	
Tétracycline	30 µg	≤ 14	15-18	≥ 19	≥ 16	8	≤ 4	Les souches sensibles à la tétracycline, sont sensibles à la doxycycline et à la minocycline.
Chloramphénicol	30 µg	≤ 12	13-17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Résultat non reporté en routine pour les souches isolées du tractus urinaire.
Quinupristine-dallopristine	15 µg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1	A reporter pour les souches de <i>S. aureus</i> métilicino-sensibles. Les souches résistantes à la quinupristine-dallopristine sont reportées à la pristinamycine.
Linezolid	30 µg	≤ 22	23-25	≥ 26	≥ 8	---	≤ 4	
Acide fusidique**	10 µg	≤ 24	---	≥ 24	≥ 1	---	≤ 1	
Fosfomycine IV**	200 µg	≤ 23	---	≥ 23	≥ 32	---	≤ 32	La méthode de référence pour la détermination de la CMI est la dilution en milieu gélosé en présence de glucose-6-phosphate (25 mg/l)

\*Tableau extrait du Document CLSI M100, 35th ed., 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.

\*\* Extraits des recommandations de l'EUCAST 2025. Abréviations : CMI : Concentration Minimale Inhibitrice IV ; intra veineuse, SOSA : *Staphylococcus Other than S. aureus*

**Annexe 04** : Résultat de l'aromatogramme

\*Effet des extraits du *pistacia lentiscus* L. (HE extraite au laboratoire)



\*Effet des extraits du *pistacia lentiscus* L. (HE commerciale)

