## الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية République Algérienne Démocratique et Populaire وزارة التعليم والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

NºRef:....



#### Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf -Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

#### Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Appliquée et Environnement

Option : Biotechnologie Végétale et Amélioration des Plants

Thème:

## Evaluation de l'activité antibactérienne des fruits et feuilles de cinq variétés d'olivier (Olea europaea .L)

Présenté par : Abboud Nawel Fennour Nassiba

Devant le jury composé de :

- Président : M<sup>elle</sup> Bouassaba Karima
 - Examinateur : M<sup>me</sup> Talhi Fahima
 - Promoteur : M<sup>me</sup> Himour Sara
 - Grade : Maitre-assistant A
 - Grade : Maitre-assistant A

Année Universitaire: 2015/2016



## Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce travail.

Au terme de ce travail, nous avons le plaisir de remercier sincèrement toutes les personnes qui ont participé à la réalisation de ce travail.

En premier lieu, nous voudrions remercier notre promotrice Mme Himour Sara. D'avoir acceptée d'encadrer notre travail, ainsi pour tous ses: orientations scientifiques, sa patience, ses précieux conseils et notamment son bon cœur.

Nous remercions aussi les membres du jury pour leur obligeance en examinant ce travail:

Bouassaba Karima : La présidente du jury

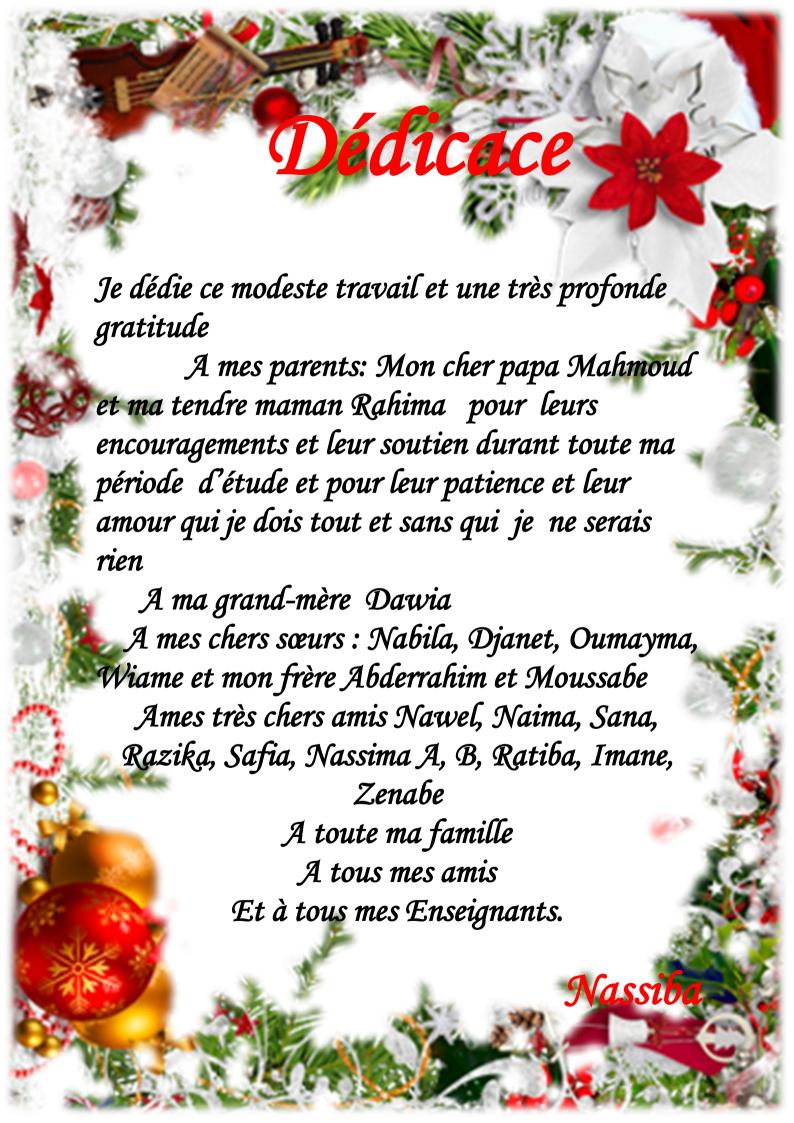
Talhi Fahima : L'examinatrice

Nous remercions également tous nos enseignants, nos collègues et les administrateurs du département des Sciences de la Nature et de la Vie.

Nous ajoutons des remerciements groupés à tous les techniciens des laboratoires de centre universitaire de Mila.

Nos remerciements vont également à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

Nawel et Nassiba





# Sommaire

#### SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

#### Première partie : Synthèse bibliographique

#### Chapitre I : Généralités sur l'olivier

1. Historique	03
2. Origine géographique et génétique	03
3. Définition et classification	03
4. Description botanique	04
5. Cycle végétatif et de développement	8
6. Répartition géographique	09
7. Les exigences pédoclimatiques	10
8. Les variétés d'olivier mondial	12
9. Principales variétés d'olivier en Algérie	12
10. La production de l'olivier	14
11. Les ravageurs et les maladies de l'olivier	15
12. La valeur nutritive	17
13. Les intérêts de l'olivier	17
Chapitre II : Les métabolismes secondaires	
1. Généralités	19
2. Définition	19
3. Classification des métabolismes secondaires	19
3.1. Les polyphénoles	19
3.1.1 Les composés phénoliques simple	20
3.1.2. Les flavonoïdes	22
3.1.3. Les tanins .	24
3.1.4. Les quinones	25

3.1.5. Les anthocyanes	26
3.2. Les alcaloïdes	26
3 .3. Les terpènes et stéroïdes	27
3 .4. Les saponosides	28
3.5. Les composés réducteurs (Les glycosides)	28
4. Rôle biologique des composés phénoliques	28
Chapitre III : Activité antibactérienne	
1. Définition de l'activité antibactérienne	30
2. Morphologie et structure des bactéries.	30
3. Les principales substances antimicrobiennes	31
3.1. A. Les antibiotiques	31
3.1. B. Résistance des microorganismes aux antibiotiques	31
3.1. C. Classification des antibiotiques	32
3.2 .Les composés phénoliques	32
3.3. Les huiles essentielles	32
4. Description des bactéries étudiées	33
Deuxième partie : Etude expérimentale	
Chapitre I : Matériel et méthodes	
1. Matériel	34
1.1. Matériel végétal	34
1.2. Matériel de laboratoire	36
1.3. Souches bactériennes	36
1.4. Les antibiotiques	36
2. Méthodes.	36
2 .1.L'étude phytochimique	36
2.1.1. Préparation des échantillons (fruits et feuilles de l'olivier)	36
2.1.2. L'extraction des polyphénols	
2 .1.3 .Screening phytochimique	
2 .1.4 . L'activité antibactérienne	
2.1.4.1. Préparation du milieu de culture	
2.1. 4. 2. Préparation des disques d'aromatogramme	
2.1.4.3 .Stérilisation du matériel	

2. 1. 4.4. La dilution d'extraits	41
2. 1.4. 5. Préparation des suspensions bactériennes	41
2. 1.4. 6. Ensemencement bactérien	42
2. 1.4. 7. Dépôts des disques et l'injection des extraits	42
2. 1.4. 8. Préparation des témoins (Positif et négatif)	43
2. 1.4. 9. Incubation et lecture	44
Chapitre II : Résultats et discussion	
II. Résultats et Discussion	46
1 .Résultats	46
1.1. La teneur en polyphénols	46
1.2. Les testes phytochimique	47
1.3. Activité antibactérienne	55
1.3. 1.L'activité antibactérienne des fruits	55
1.3. 2. L'activité antibactérienne des feuilles	60
2 .Discussion	64
2.1. La teneur en polyphénols	64
2.2 .Screening phytochimique	66
2 .3. Evaluation de l'activité antibactérienne	68
Conclusion	71
Références bibliographiques	

Annexes

Résumé

### Liste des abréviations

1/4 : Dilution de 25%

1/2 : Dilution de 50%

%: Pourcentage.

ATCC: American Type Culture Collection.

**BN**: Bouillon Nutritif

°C: Celsius.

C: Carbone.

Cm: Centimètre.

**COI** : Conseil Oléicole International.

**Dath**: Dathier.

**DMSO**: Diméthyl sulfoxyde.

**DO**: Densité optique

E. coli: Escherichia coli.

Ed: Edition.

ème: Deuxième.

E.Mét: Extrait méthanolique

ère: Premier.

**FeCl3**: Chlorure ferrique

**Fl:** Feuille

Fr: Fruit.

**FAO:** Food and Agriculture Organization.

g: Gramme.

**Gn**: Gentamicine

**h**: Heure.

ha: Hectare

**HCl**: Acide chlorhydrique

**H2SO4**: Acide sulfurique

Kg: Kilo gramme

KI: Iodure de potassium

L: Linné

L: Litre

m: Mètre.

**Max**: Maximaux.

**MeOH**: Méthanol

**mg**: Milli gramme.

MH: Mueller Hinton.

Min: Minimaux.

min: Minute

ml: Millilitre.

mm: Millimètre.

**NaOH:** Hydroxyde de sodium

**NH4OH**: Hydroxyde d'ammonium

nm: Nanomètre.

O: Olea.

PP: Polyphénols

PH: Potentiel d'hydrogène

Quant: Quantité

R: Rapport

Ré: Réaction

Rgt: Rougette

**SARM**: Staphylococcus Aureus Résistante à la Méthicilline

**Sév**: Sévillane

Sig: Sigoise

 $T^{\circ}$ : Température.

**T0**: Dilution 100%.

V: Volume.

**UV:** Ultra-Violet.

μl: Microlitre

### Liste des figures

Figure	Titre	Page	
N°			
01	Feuilles de l'espèce Olea europaea	05	
02	Fleure de l'espèce Olea europaea	05	
03	Schéma d'une fleur d'olivier	05	
04	Fruits de l'éspèce Olea europea	06	
05	Coupe schématique d'un fruit	06	
06	Tronc de l'espéce Olea europaea	07	
07	Zones de répartition géographique de la culture de l'olivier dans le monde	10	
08	Taux de production d'olivier par les pays compagne (2009/2010)	14	
09	Principaux acides hydroxycinnamiques	20	
10	Principaux acides hydroxybenzoïques	21	
11	Principaux types de coumarines	21	
12	Structure de base des flavonoïdes	22	
13	Structures des différentes classes de flavonoïdes	23	
14	Structure des tanins hydrolysables et leur monomère	24	
15	Structure des tanins condensés et leur monomère	25	
16	Les différentes classes de l'athocyanes	26	
17	Exemples des dérivés d'alcaloïdes	27	
18	Structure de l'isoprène	27	
19	Structure d'une bactérie avec ses différents	30	
	éléments: obligatoires et facultatifs.		
20	Protocole d'extraction des polyphénols	37	
21	Préparation de milieu MH.	40	
22	Préparation de l'eau physiologique.	40	
23	Les étapes de réactivation des bactéries	42	

24	Etapes d'ensemencement (écouvillonnage)	42
25	Dépôts des disques et l'injection des extraits	43
26	Dépôt de disque d'antibiotique et DMSO sur Muller-Hinton	44
27	la lecture par le pied coulisse	44
28	Histogramme représente la teneur en polyphénols dans les fruits	46
29	Histogramme représente la teneur en polyphénols dans les feuilles.	47
30	Résultats de test des saponines	49
31	Résultats de test des composés phénolique	50
32	Résultats de test des glycosides	50
33	Résultats de test des tanins	51
34	Résultats de test des alcaloïdes	51
35	Résultats du test des triterpènes et stéroïdes	52
36	Résultats de test des flavonoïdes	53
37	Résultats de test des anthraquinones	54
38	Résultats de test des anthocyanes	55
39	Résultats de test des quinones libres	56
40	Action inhibitrice des extraits méthanolique de cinq variétés des fruits d'olivier et le témoin avec la souche <i>S. aureus</i> .	57
41	Action inhibitrice des extraits méthanolique de cinq variétés des fruits d'olivier et le témoin avec la souche <i>E. coli</i> .	58
42	Action inhibitrice des extraits méthanolique des fruits de cinq variétés d'olivier et le témoin avec la souche de <i>S</i> . <i>typhi</i>	59
43	Action inhibitrice des extraits méthanolique de cinq variétés d'olivier et le témoin avec la souche <i>K. pneumoniae</i> .	60
44	Le pouvoir antibactérienne des extraits de cinq	62

	variétés des feuilles d'olivier et le témoin avec	
	S.aureus	
45	Le pouvoir antibactérienne des extraits de cinq variétés de feuils d'olivier et le témoin avec E.coli	63
46	Le pouvoir antibactériennne des extraits de cinq variétés de feuils d'olivier et le témoin avec S.typhi	63
47	Le pouvoir antibactérienne des extraits méthanolique des feuilles de cinq variétés d'olivier et le témoin avec <i>K. pneumoniae</i> .	64

### Liste des tableaux

Tableau	Titre	page
N°		
I	Tableau représente le cycle végétatif de l'olivier	08
II	Orientations variétales de l'olivier en Algérie	12
III	les principaux ravageurs et maladies de l'olivier	15
IV	Composition de l'huile d'olive	17
V	L'activité biologiques des quelques composés	28
	phénoliques	
VI	Caractéristique morphologique de cinq variétés	35
	d'olivier (Sigoise, Dathier, Rougette, Chemlal et	
	Sévillane).	
VII	Résultat de teneur en polyphénols	46
VIII	Résultats des tests phytochimiques sur les extraits des	48
	fruits et feuilles d'Olea europaea .L des cinq variétés	
	(Sigoise, Chemlal, Sévillane, Dathier et Rougette).	
IX	Les diamètres des zones d'inhibition des fruits sur les	56
	cinq variétés d'olivier (Dathier, Sigoise, Chemlal,	
	Rougette, Sévillane).	
X	Les diamètres des zones d'inhibitions des feuilles sur	61
	les cinq variétés d'olivier (Dathier, Sigoise, Chemlal,	
	Rougette, Sévillane).	
ĺ		

## INTRODUCTION

#### Introduction

L'olivier est l'une des plus anciennes cultures ligneuses et est particulièrement répandue dans toutes les régions méditerranéenne et joue un rôle important dans l'économie rurale, le patrimoine local et la protection de l'environnement (**Elbir**, **2012**).

L'olivier *Olea europaea*. L a été cultivé depuis les temps anciens dans la région méditerranéenne pour produire des olives de table, huile d'olive et des extraits de feuilles d'olivier. Les produits d'olive ont été utilisés pendant des siècles comme la nourriture, des conservateurs naturels et dans la médecine populaire. En outre, au cours du 19<sup>ème</sup> siècle, des extraits de feuilles bouillies ont été utilisés comme un remède chez les patients atteints de paludisme. De nos jours, l'utilisation des feuilles d'olivier en phytothérapie est plus importante. Elle est utilisée contre les maladies cutanées parasitaires, les maladies cardiovasculaires, le diabète, le cancer, ralentit la perte de mémoire et permet aussi d'améliorer la minéralisation osseuse (Laval J et Bergot ,1980), aussi la présence des composés antimicrobiens dans les fruits d'olive a été suspectée depuis le début de la fermentation des olives de table (Vaughn et al., 1943).

L'olivier est considéré comme étant une plante aromatique et médicinale, réservoir des composés naturels aux effets bénéfiques. Certains composés identifiés dans les extraits de feuilles et fruits, tels que les métabolites secondaires qui sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction, ils sont différents dans les différentes espèces (Buchanan, 2007).

Les recherches réalisées *in vitro* par plusieurs auteurs ont démontré que les polyphénols sont les principaux composés antimicrobiens des plantes, ayant des modes d'action divers et des activités inhibitrices et létales vis-à-vis de nombreux microorganismes.

Le présent travail a été entrepris dans le but d'une évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de la partie des feuilles et des fruits de L'olivier *Olea europaea* L. A cet effet, notre travail est subdivisé en deux parties:

- ❖ La première partie concerne la synthèse bibliographique, elle contient trois chapitres :
  - Généralité sur l'olivier.
  - Généralité sur les métabolites secondaires.

- L'activité antibactérienne.
- ❖ La deuxième partie concerne l'étude expérimentale, contient deux chapitres :
  - Matériel et méthodes : on a réalisé l'extraction des polyphénols, les testes phytochimique et l'évaluation de l'activité antibactérienne.
  - Résultats et discussion
- \* Enfin on terminera par une conclusion.

## premierc panie. Ende bibliographique

9

## CHAPITRE I: GÉNÉRALITÉS SUR L'OLIVIER



#### 1 .Historique

L'olivier (*Olea europaea* .L) est un arbre emblématique, a une origine très ancienne, sa culture remonte à la plus haute antiquité (**Gaussorgues** *et al.*, **2009** ). En Grèce et plus spécifiquement en ile de Crète a apparue que vers 3.500 avant jésus christ .Elle apparait dans l'histoire et les mythes comme symbole de force, de longévité, de paix, foi et fertilité (**Lallas et** *al.*, **2011** ).

Dans la culture arabo-musulmane, l'olivier est un arbre cité dans le coran où il est dit « Dieu est la lumière des cieux et de la terre. Sa lumière est comparable à une niche ou se trouve une lampe. La lampe est dans un verre ; le verre est semblable à une étoile brillante. Cette lampe est allumée à un arbre béni : l'olivier qui ne provient ni de l'orient ni de l'occident et dont l'huile est prés d'éclairer sans que le feu la touche » (Sourate la lumière 35).

#### 2. Origine géographique et génétique

Selon Monique (2008) l'origine de cet arbre est l'Asie mineure. Mais il est ensuite étendu à tout le bassin méditerranéen rapidement grâce aux Grecs et aux Romains lors de leur colonisation du bassin méditerranéen, Puis les européens qui sont partis à la découverte du nouveau monde, ont permis l'implantation de l'olivier aux Etats-Unis, en Amérique du Sud. Actuellement on le retrouve même au Japon.

L'olivier appartient à la famille des *Oléacées*, genre *Olea*, le nombre chromosomique est de 2n= 46 chromosomes. L'origine génétique de l'olivier est jusqu'à présent mal connue, l'oléastre a toujours été considéré comme l'ancêtre de l'olivier cultivé.

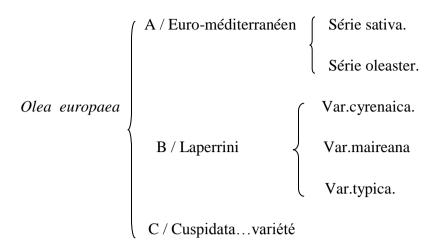
L'étude de la diversité moléculaire de cultivars et d'oléastres, révélée que les cultivars s'apparentent aux oléastres (Breton et al., 2006a; Breton et al., 2006b; Besnard et al., 2001; Bronzini de Garaffa et al., 2002).

#### 3 - Définition et classification

L'olivier est un arbre cultivé pour son fruit, l'olive, qui donne une huile recherchée « L'huile d'olive », aussi les olives de table, sont des éléments Importants de la zone méditerranéenne et sont consommées en grande quantité dans le monde entier.

L'olivier est comporte 30 espèces différentes reparties à la surface du globe, l'espèce cultivée dans le monde méditerranéen est l'*Olea europaea*.

Selon **Loussert et Brousse** (1978), l'espèce *Olea europaea* se subdiviserait en trois grandes sous espèces :



Selon la classification de **Pagnol** (1975) ,l'olivier présente la classification suivante :

• Règne : Plantae

• Sous-règne : Tracheobionta

• Embranchement : Spermaphytes (Phanérogames)

• Sous Embranchement : Angiospermes

• Classe : Dicotylédones (ouThérébinthales)

• Sous-classe : Astéridées (ou Gomopétales)

• Ordre : Gentianales (ou Lingustrales)

• Famille : Oleacées

• Genre : Olea

• Espéce : Olea europaea .L

#### 4. Description botanique

#### 4.1. Les organes aériens

#### 4.1.1. Les feuilles

Les feuilles sont opposées, ovales allongées, portées par un court pétiole, coriaces, entiers, enroulées sur les bords, d'un vert foncé luisant sur la face supérieure, et d'un vert clair argenté avec une nervure médiane saillante sur la face inférieure. Le feuillage est persistant, les feuilles adultes vivent en moyenne trois ans puis jaunissent et tombent principalement en été (Becker et al., 1983).



Figure 01 : Feuilles de l'espèce Olea europaea (Roland et al., 1998)

#### 4.1.2.Les fleurs

Les fleurs sont blanches avec une corolle, deux étamines, un calice à quatre pétales ovales et un ovaire arrondie qui porte un style assez épais et terminé par stigmate. Cet ovaire contient deux ovules .Les fleurs sont regroupées en petites grappes de dix à vingt.

La plus part des oliviers sont auto fertiles, c'est-à-dire que leur propre pollen peut féconder leurs propre ovaires, la fécondation se fait principalement par l'action de vent et la période de fertilité ne dure qu'une semaine par année (**Becker et al., 1983**).



Figure 02 : Fleures de l'espèce *Olea*europaea (Monique, 2008)

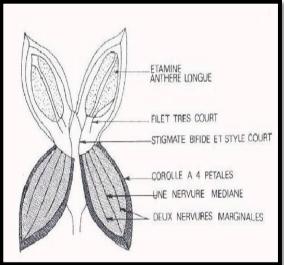


Figure03 : Schéma d'une fleure d'olivier (Loussert et Brousse, 1978)

#### 4.1.3.Les fruits

Le fruit d'olive c'est une drupe dont la peau (épicarpe) est recouverte d'une matière cireuse imperméable à l'eau, avec une pulpe (mésocarpe) charnue riche en matière grasse stockée durant la lipogenèse, de la fin Août jusqu'à la véraison. D'abord il devient noir à maturité complète. Le noyau très dur, osseux, est formé d'une enveloppe (endocarpe) qui se sclérifié a l'été à partie de la fin de juillet et contient une amande avec deux ovaires, dont l'un est généralement stérile et non fonctionnel, cet grain produit un embryon qui donnera un olivier si les conditions sont favorables (**Bringer et al., 1999**).



péricarpe

mésocarpe (pulpe)

endocarpe sciérifié

tègument de la graine
albumen
cotylédons
axe hypocotylé
et radicule

Figure 04 : Fruits de l'éspèce *Olea*europaea (Monique, 2008)

**Figure05** : Coupe schématique d'un fruit drupe (**Loussert et Brousse**, 1978)

#### 4.1.4. Le tronc

Sur les jeunes arbres, le tronc est droit et circulaire. Et à mesure de leur vieillissement, il se déforme en donnant naissance à des « cordes ».

Dans les zones des cultures humides, bien que le bois soit très dur ; des altérations peuvent attaquer le tronc, ces altérations sont dénommées « carie ». Selon les zones des cultures et les pays, le tronc est plus ou moins développé en hauteur en Kabylie, la variété Chemlal était traditionnellement conduite sur un tronc élevé à 20u 3m du sol. En Espagne les veilles plantations sont constituées d'oliviers conduits à trois troncs (**Loussert et Brousse**, 1978).



Figure06 : Tronc de l'espéce Olea europaea (Roland et al., 1998)

#### 4.1.5.Les charpentières

Les charpentières maitresse où branche mère prennent naissance sur le tronc. C'est au moment des premières tailles de formation qu'elles commencent leur développement donnant la forme de l'arbre et le développement de la frondaison les sous charpentières ou branches sous mères se développent sur les charpentières. C'est à partir de nombreuses ramifications que la couronne de l'arbre se développera. Le sou mère porte des rameaux feuillus (Loussert et Brousse, 1978).

#### 4.2 .Le système racinaire

Le développement du système racinaire de l'arbre est surtout fonction des caractéristiques physico-chimique du sol. En effet l'olivier adaptera son système racinaire à la profondeur du sol, suivant sa texture et sa structure. Le système racinaire de la jeune plante sera à tendance. Si les conditions de sol ne permettent deux ou trois grosses racines se développeront d'abord en profondeur puis apparaitra un réseau de racines secondaires plus ou moins dense très fourni en chevelu à tendance traçante. Lors de la mise en place de l'arbre un grand nombre de racines latérales se développent sur les racines secondaires (Loussert et Brousse, 1978).

#### 5-Cycle végétatif et de développement

#### > Cycle végétatif

L'olivier se développe dans le climat méditerranéen. Le déroulement annuel de son cycle résumé dans le (**Tableau I**), est en étroite relation avec son aire d'adaptation (**Loussert et Brousse, 1978**).

Tableau I: Tableau représente le cycle végétatif de l'olivier (Marie-Claire et al., 2000).

Phases	Période	durée	Manifestations
Végétatives			
Repos végétatif	Novembre- février	1 – 4 mois	Activité germinative arrêtée ou ralentie. Floraison et fructification ne se produisent pas à -1,3 et -2°C.
Réveil végétatif	Février – mars	20 - 25 jours	Apparition de nouvelles pousses terminales et éclosion des bourgeons axillaires.
L'inflorescence Apparition de boutons floraux	Mars – avril	18 – 23 jours	Différenciation des bourgeons, donnant soit de jeunes pousses, soit des fleurs. Inflorescences se développent et prennent une couleur vert – blanchâtre à maturité.
Floraison	Mai – 10 juin	7 jours	Fleurs ouvertes et bien apparentes. Pollinisation et fécondation.
Fructification	Fin mai – juin		Chute des pétales, hécatombe précoce des fleures et des fruits.

Développement de	Juillet – Août	3 – 5	Sclérification de l'endocarpe.
fruit		semaines	Fin de la formation des fruits.
	Août - septembre	1,5 – 2	Augmentation considérable
Croissance des fruits		mois	de la taille du fruit et
			apparition des lenticelles.
	Mai – septembre-		Récolte des variétés à olive
Début de maturation	décembre		de table de couleur vert au
			rouge violacé.
Maturation	Fin octobre -		Fruits avec coloration
complète	février		uniforme, violette à noire
			pour les variétés à l'huile

#### > Cycle de développement

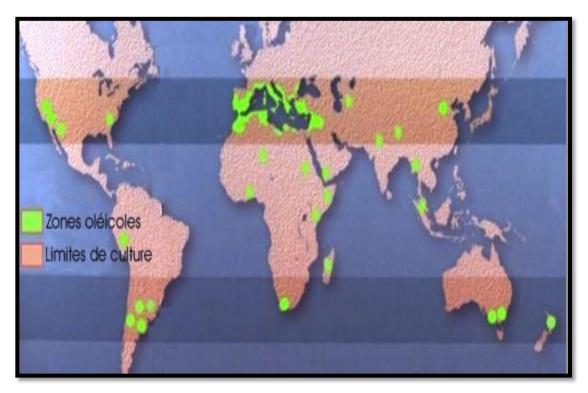
Au cours de la vie d'un arbre, on peut distinguer 4 grandes périodes. Selon **Maillard** (1976) l'olivier présent les périodes suivantes :

- ✓ La période de jeunesse : de 1 à 7 ans : installation improductives.
- ✓ La période d'entrée en production : de 7 à 35 ans, croissance avec augmentation progressive de la production.
- ✓ La période adulte : de 35 à 150 ans : maturation et plaine production.
- ✓ La période de sénescence : plus de 150 ans : sénescence, rendement, décroissants et inconstants, alternance marquée des récoltes et réduction progressive de la charpente.

#### 6. Répartition géographique

#### > Dans le monde

L'olivier est aujourd'hui cultivé dans toutes les régions du globe se situant entre les latitudes 30° et 45° des deux hémisphères, des Amériques (Californie, Mexique, Brésil, Argentine, Chili), en Australie et jusqu'en Chine, en passant par le Japon et l'Afrique du Sud. On compte actuellement plus de 900 millions d'olivier cultivés à travers le monde, mais le bassin méditerranéen est resté sa terre de prédilection, avec près de 95% des oliveraies mondiales (**Benhayoun et Lazzari, 2007**).



**Figure07** : Zones de répartition géographique de la culture de l'olivier dans le monde (**COI**, **2013**)

#### > Répartition de l'olivier dans l'Algérie

L'olivier est considéré comme un élément majeur de l'économie agricole dans certains pays surtout dans notre pays. L'oléiculture est la première richesse arboricole de l'Algérie, elle constitue une source de subsistance pour plusieurs familles. Le nombre d'olivier y est estimé à environ 20 millions et occupent une superficie de l'ordre de 239 350 hectares. Il se reparti principalement dans trois régions : le Centre (Ain Defla, Blida, Boumerdes, TiziOuzou, Bouira et Bejaia), l'Est (Jijel, Skikda, Mila et Guelma) et l'Ouest (Tlemcen, Ain Timouchent, Mascar, Sidi Belabes et Relizan), avec respectivement 54,3%, 28,3% et 17% de la surface totale (**COI, 2004**).

#### 7. Les exigences pédoclimatique de l'olivier

Les conditions de développement de l'olivier font intervenir des facteurs climatiques et pédologue suivants :

#### 7.1. Les exigences climatiques

#### a. La température

La résistance de l'olivier au froid varie selon son stade végétatif. En hiver si le refroidissement est progressif, il peut supporter des températures de l'ordre de (-8°C). Au

printemps les gelées à (0°C) ou (-10°C) peuvent provoquer la destruction des bourgeons et compromettre la floraison; toutefois, l'olivier a besoin d'une période de froid hivernal inférieure à (+7°C) pour assurer une bonne induction florale. La durée de cette période peut varier solen les variétés, de 500 à plus de 1000 heures. L'arbre n'est pas sensible aux températures élevées (+40°C) lorsque son alimentation hydrique est assurée, néanmoins, au-delà de (+30°C), son activité est considérablement réduite (**Anonyme, 2006**).

#### b. La lumière

L'olivier ne nécessite pas un photopériodisme important mais la lumière reste un facteur de production de qualité (**Boulouha et al., 2006**) car un manque d'éclaircissement et d'ensoleillement affecte la formation des fruits et augmente la probabilité d'infection des oliviers par des parasites tel que la fumagine et les cochenilles (**Walali et al., 2003**).

#### c. La pluviométrie

Pour une fructification normale, propice et régulière l'olivier exige une alimentation en eau suffisante pour un bon accomplissement de son cycle. Ainsi la pluviométrie constitue l'une des facteurs permettant une production propice cependant on distingue :

- Avec 600 mm de pluie bien répartie, l'olivier végète et produit normalement.
- Entre 450 et 600 mm, la production est possible à condition que les capacités de rétention en eau du sol soient suffisantes (sol profond argilo limoneux).
- Avec une pluviométrie inférieure à 200 mm, l'oléiculture est économiquement non rentable (Walali et al., 2003).

#### d.Vent

Les vents chauds au cours de la floraison, les brouillards et les fortes hygrométries, la grêle et les gelées printanières sont autant de facteurs défavorables à la floraison et à la fructification (Walali et al., 2003).

#### 7.2. Exigences pédologiques

L'olivier ne présente pas d'exigences particulière sur la qualité des sols, il a la réputation de se contenter de sols pauvres, qu'ils soient argileux ou au contraire légers ou pierreux, mais ils doivent être assez profonds pour permettre aux racines de nourrir l'arbre en explorant un volume suffisant de terre, l'olivier redoute les terrains trop humides. Le sol doit avoir une teneur en azote élevée (**Hannachi et al., 2007**).

#### 8. Les variétés d'olivier mondial

L'olivier (*Olea europaea* L), espèce caractéristique du paysage méditerranéen, compte de nombreuses variétés ayant une diversité phénotypique importante (**Grati Kamoun, 2007**).

Divers travaux ont suggéré que l'inter-fertilité entre les formes cultivées et /ou les formes sauvages soit à l'origine de la diversification de l'olivier cultivé. Actuellement, on recense des centaines des variétés dans chacun des principaux pays oléicoles méditerranéens où sont encore cultivées de très anciennes variétés (Loussert et Brousse, 1978 : Barranco et Rallo, 2005 : Idrissi et Ouazzani, 2006).

Solen GratiKamou, (2007), les variétés d'olivier se divisent en trois catégories :

- ✓ Les variétés à huile sont principalement destinées à l'extraction de l'huile et sont caractérisées par un rendement variable mais normalement non inférieur à16-18%, comme :Arbequine (Argentine), Picual (Espagne), Aglandau (France), Koroneik (Grèce), Frontoio (Italie), Al –zeiti (Syrie), Chemlali (Tunisie), Cakir (Turquie).
- ✓ Les variétés de table sont les variétés dont les fruits sont destinés à la consommation directe, comme : Manzanilla (Etats –Unis), Tanche (France), Conservolia (Grèce) ; BeliceAscolana (Italie), Meski (Tunisie), Gemlike et Dornat (Turquie).
- ✓ Les variétés à double aptitude sont celles qui peuvent être utilisées tant pour l'extraction de l'huile que pour la production d'olives de table, comme : Arauco (Argentine), Hojiblanca (Espagne), Noccellara (Italie), Soury (Liban), Picholine marocaine (Maroc), Galega (Portugal), Al–doebly (Syrie), Oblica (Ancienne Yougoslavie), Sigoise(Algérie).

#### 9. Principales variétés de l'olivier en Algérie

Les principales variétés de l'olivier cultivées en Algérie sont présentées dans le Tableau II.

Tableau II : Orientations variétales de l'olivier en Algérie (Loussert et Brousse ,1998).

Variétés	Aire de	Importance	Destination	Observations
	culture			
Sigoise	Ouest	25%	Table + Huile	Très estimée pour la
	Algérien			conservation et l'huilerie,
	(Oranie,			rendement élevé en huile,

	Tlemcen)			variété autofertile.
Cornicabra	Ouest	5%	Table + Huile	Très bon pollinisateur de
	Algérien			Sigoise
	(Oranie,			Originaire d'Espagne
	Tlemcen)			
Sévillane	Ouest	3%	Table	Cette variété est
	Algérien			représentée avec un effectif
	(Plaine			de 2000 arbres.
	d'Oran)			Très intéressante par le gros
				calibre des fruits
Chemlal	Centre	10%	Huile	appréciée. Résiste en culture
	Algérien		Huile très	sèche. Inconvénients:
	Kabylie			autostérile, floraison tardive.
Azeradj	Centre	15%	Table +Huile	Très bon pollinisateur de
	Algérien			Chemlal
Limli	Est	8%	Huile	Variété conseillée dans la
	Algérien			région de jijel à Sidi-Aich
Rougette	Est	12%	Huile	Cette variété est appréciée
	Algérien			pour sa rusticité et sa
				précocité, elle est
				représentée par1000 arbres
Nebdjmel	Sud Est	5%	Table + Huile	Variété des régions
	Algérien			présaharienne
Longue de	Centre et	5%	Table +Huile	Très localisée dans la région
Miliana	Ouest			de Miliana
Ascolana	Ouest	-	Table	excellente et régulière.
			Fertilité	Bonne rusticité,résiste au
				froid,pourrait avoir un grand
				avenir en Algérie

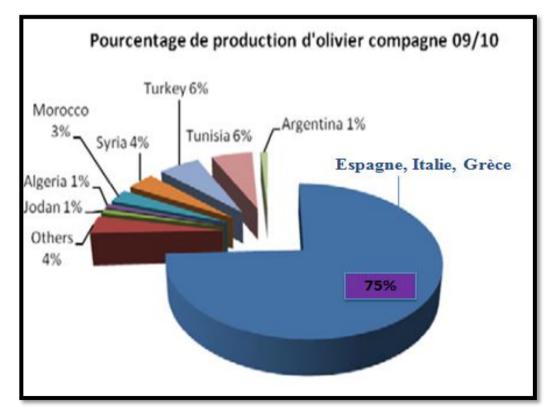
Bouricha	Est	5 à 6 %	Huile	Cultivée dans les régions à
	Algérien			forte pluviométrie
	(Collo-			
	Oued El			
	Kebir)			

#### 10. La production de l'olivier:

L'oléiculture occupe toutefois une part très importante dans l'économie agricole de certains pays méditerranéens et la tendance de la consommation mondiale est à la hausse.

Les quatre premiers pays producteurs (Espagne, Italie, Grèce et Turquie) assurent 80% de la production mondiale d'olives et les dix premiers (le Maroc et la Tunisie sont les plus grands producteurs après l'Espagne, l'Italie la Grèce et la Turquie), tous situés dans la zone méditerranéenne, 95%. (FAO 2012).

La (**Figure 08**) montre les statistiques moyennes annuelles sur 2009/2010 pour la production d'olivier dans les payes compagne.



**Figure 08**: Taux de production d'olivier par les pays compagne (2009/2010). (**Argenson ,2010**)

#### 11. Les ravageurs et les maladies de l'olivier :

Les problèmes phytosanitaires de l'olivier constituent les facteurs principaux de la productivité de cette culture. Les maladies et les ravageurs animaux s'attaquent à tous les organes de l'arbre (feuilles, rameaux, racines, fleures et fruits) .les principaux maladies et déprédateurs de l'olivier sont classées dans le (**Tableau III**).

TableauIII: Les principaux ravageurs et maladies de l'olivier (villa, 2003; Ammar, 1986; Argenson et al., 1999; Bottalico et al., 1995; Tawil, 1991; Assawh et Ayat, 1985).

Les ravageurs	Les symptoms et dégâts
Cochenille noire de l'olivier	-La cochenille s'attaque à l'olivier
(Saissetia Oleae)	directement, en suçant la sève et en faisant dépérir la plante.  - Le manière indirecte: l'insecte produit en effet du miellat, une substance douceâtre et collante sur les feuilles et sur les branches, qui est un excellent support de développement pour une série de champignons
Mouche de l'olive (Dacus Oleae)	- chute des olives  -L'huile extraite des olives est plus acide et son degré d'oxydation plus élevé car la présence des larves dans les olives altèrent leur biochimie.
Teigne de l'olivier (Prays Oleae)	-Les dégâts les plus importants sont dus à la génération carpophage, qui provoque la chute des drupes au moment de la pénétration des larves dans les olives en juin-juillet, et à la sortir des larves matures, en août-septembre.

Les maladies	Les symptoms et dégâts
Fumagine ou (Noir de l'olivier)	-L'ensemble de végétales recouvert d'une sorte de poussières noire -La fonction chlorophyllienne des feuilles peut être stoppée.
Verticilliose, (Verticillium dahlia)	-les feuilles deviennent sèches et cassantes -Le dépérissement aigu ou apoplexie : la mort rapide des rameaux principaux et secondairesLe dépérissement lentLes inflorescences sur les branches attaquées sont nécrosées leurs fleurs sont momifiées
Cycloconium, ou (œil de paon)	-Les feuilles malades, tombent plus vite, provoquant des déséquilibres chez la plante et un dessèchement de ses branches -Provoque la chute des fruits
Bactériose (Pseudomonas Savastanoi)	-Tumeurs - Nodules sur les bois - Eclatement de l'écorce -Baisse de vigueur de production

#### 12. La valeur nutritive

L'olive de table mure, contient 50 % de son poids d'eau, 22% à 25% d'huile, 1.51% de sels minéraux, 19% de carbohydrates, 1.65% de protéines, et 5.84 % de celluloses.

Cent grammes d'olives procure 400 à 500 U.I de vitamines A et de 144 à 200 calories en plus la vitamine B et E, 40 à 50 grammes d'olives couvrent les besoins du corps en sels minéraux.

L'huile d'olive reste l'huile la plus digestible parmi toutes les huiles et graisse végétales, le plus riche en vitamines, sel minéraux et acides gras non saturées (Salm, 1993).

Tableau IV: Composition de l'huile d'olive (Salm, 1993).

L'élément	La concentration
Vitamine E	150 mg/kg
Provitamine A (Carotène)	de 3 à 30 mg
Acides gras saturés	8 à 24%
Acides gras insaturés	75.5 à 90.5 %
Acide oléique	56 à 83 %
Acide linoléique	3.5 à 20 %

#### 13. Les intérêts de l'olivier

#### **❖** Intérêt économique

D'après **Dutuit et** *al.* (1991) l'olivier tient une part très importante dans l'économie des pays circumméditerranéens. On commercialise dans le monde quelques millions de tonnes de l'huile d'olive. Dans certains pays, l'extension de la culture de l'olivier fait partie du programme de développement économique, tandis que dans d'autres pays, comme l'Espagne, la saturation du marché interne a fait ralentir le programme de la culture. Son intérêt réside essentiellement dans la production de l'huile d'olive se situant au 6ème rang mondial des productions des huiles végétales alimentaires. Plus de 92% des olives produites dans le monde sont destinées à la production d'huile qui est très appréciée pour ses qualités gustatives et sa richesse en acides oléiques qui lui confère un haut degré de digestibilité. Elle aussi riche en vitamines **A** et **E**. Les olives de table vertes ou noires sont consommées après des traitements spécifiques en relation avec leurs degrés de maturité.

#### **❖** Intérêt écologique

Solen **Dutuit et** *al.* (1991) l'olivier joue un rôle important dans l'équilibre des écosystèmes semi aride et semi désertique. Le verger, par sa longue durée de vie, est un élément de fixation de la population et permet d'abriter des cultures vivrières nécessaires à la consommation à court terme. Par rapport à d'autres espèces, il utilise de façon très efficace l'eau du sol et du sous sol. Par son système racinaire très développé, il participe à la stabilisation et à la conservation du sol. Cet arbre est planté, au vue de sa grande capacité d'adaptation, sur des terrains de mauvaise qualité, inaptes à toutes autres cultures (sols pauvres, forte pente, etc.).

#### **Utilisation en phytothérapie**

Selon Weissman et al. (1995) l'huile d'olive soit souvent associée aux traitements des affections respiratoires, cardiovasculaires et cutanées, ces bien faits sont sous estimées ou ignorées.

- Sa composition chimique est très proche de la graisse du lait maternel, elle stimule la sécrétion des sucs digestifs, protège les muqueuses gastriques et intestinales.
- Anti-cholestérols, elle préviendrait les maladies cardiaques, les tuberculoses et préviendrait contre la radioactivité.
- Elle ralenti le vieillissement et soigne les colites et gastro-entérites.
- Très utilisées dans l'alimentation des bébés.
- Elle entre dans la préparation des médicaments d'oto-rhino-laryngologie.
- L'olive de table stimule les sécrétions biliaires, aide au fonctionnement du foie et des reins. Les feuilles de l'olivier possèdent aussi de très grandes vertus sanitaires.

### CHAPITRE II: LES MÉTABOLISMES SECONDAIRES



### 1. Généralités

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue ainsi deux groupes de métabolites: les métabolites primaires et les métabolites secondaires. (Hartmann, 2007).

### 2 .Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (Lutge et al., 2002; Abderrazak et Joël, 2007). Ce sont des molécules nécessaires à la défense de la plante contre les prédateurs et les pathogènes comme les agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (Juddet al., 2002).

### 3 .Classification

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, il existe plus de 200000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes, les alcaloïdes, les composés acétyléniques, les cires, et les composés phénoliques (Cuendet, 1999; Vermerris, 2006).

### 3.1. Les polyphénols

Les polyphénols sont produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que: éther, ester, hétéroside...etc. (**Bruneton, 1999; Lugasi et al., 2003**). En effet les composés phénoliques constituent le groupe le plus nombreux et le plus distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus (**Lugasi et al., 2003**).

Les principales classes des composants phénoliques sont: les acides phénoliques, (acide hydroxycinnamique, acide hydroxybanzoique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (**King et Young, 1999; Tapieroet** *al.*, 2002). Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits (**Boizot et Charpentier, 2006**).

### 3.1.1. Les acides phénoliques simples

### A. Acides hydroxycinnamiques

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base (C6 – C3) dérive de celle de l'acide cinnamique grâce à des substitutions au niveau du cycle aromatique (**Richeter**, 1993; **Psotova** *et al.*, 2003).

Les molécules de base de la série hydroxycinnamiques l'acide p-coumarique (et ses isomères, les acides o- et m-coumariques), l'acide caféique, l'acide férulique et son dérivé 5-hydroxyle et enfin l'acide sinapique (Macheix et al., 2005). (Figure 09).

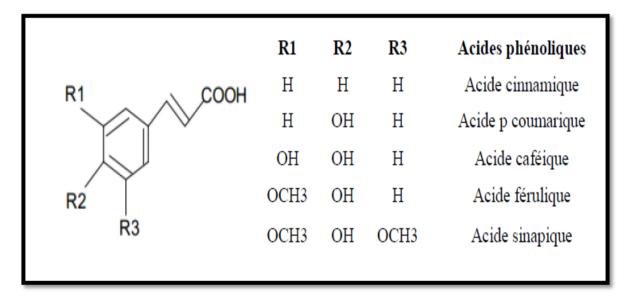


Figure 09: Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado et Chevnier, 2006).

### B. Acides hydroxybenzoïques

Ce sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C6 - C1. Ils sont particulièrement représentés chez les gymnospermes et les angiospermes (Andreasen *et al.*, 2000), les acides hydroxybenzoïques existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides (Bruneton, 1993). Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont répertoriés dans la (Figure 10).

	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	Н	Н	Н	Н	Acide benzoïque
				Acide p hydroxy	
	Н	Н	OH	Н	benzoïque
R2 R1	Н	ОН	н он	Н	Acide
	п	OII OII	OH	п	protocatechique
R3/ \COOH	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
CCCIT	H	OH	OH	OH	Acide gallique
/	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
R4	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

Figure 10 : Principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

### **C.** Coumarines

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone, dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Ils ont été isolés pour la première fois par Vogel en 1820 dans le *Coumarounaodorata*. Du point de vue structural, ils sont classés en coumarines simples avec des substituants sur le cycle du benzène, les furanocoumarines, les pyranocoumarines, les coumarines substitués en position 3 et/ou 4. Le dernier groupe serait celui des dimères (**Sakagami, 2005**).

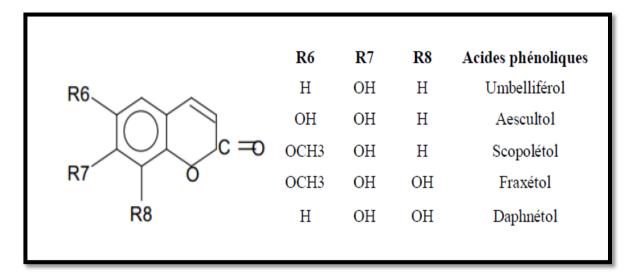


Figure 11: Principaux types de coumarines (Macheix et al., 2005).

### 3.1.2. Les flavonoïdes

### 3.1.2.1. Généralité sur les flavonoïdes

Le terme flavonoïde provenant du latin "flavus", signifiant "jaune", désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ce groupe comprend comme son nom l'indique des composés jaunes mais aussi d'autres couleurs ou incolores. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules. En effet plus de 6500 structures ont été identifiées (Bruneton, 1999; Harborne et Williams, 2000).

### 3.1.2.2. Structure et classification

### A-Structure chimique

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phénylchromone (**Milane**, **2004**) à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), constitué de deux noyaux aromatiques, que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, que désigne la lettre C (**Dacosta**, **2003**), portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. On signale que le noyau flavone est lui même un dérivé du noyau flavane de base (**Milane**, **2004**).

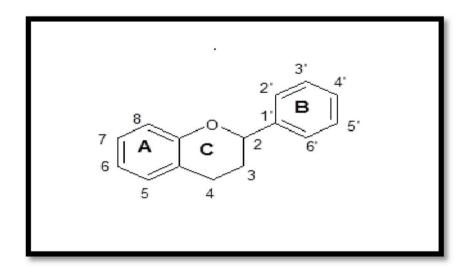


Figure 12 : Structure de base des flavonoïdes (Dacosta, 2003)

### **B-Classification**

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même élément structural de base. Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, le noyau B relié à l'hétérocycle C dans les positions 2, 3 (**Figure 13**).

- ✓ Dans la position 2: le flavonoïde est appelé Flavane.
- ✓ Si la position 4 de la flavane Porte un groupement carbonyl la flavane est appelé Flavanone.
- ✓ Si la liaison C2-C3 dans le squelette de la flavanone est insaturée le composé est nommé Flavone.
- ✓ Si le squelette est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle il est désigné par le nom de Flavonol.
- ✓ Dans la position 3: le flavonoïde est désigné par le terme Isoflavane (Bouakaz, 2006).

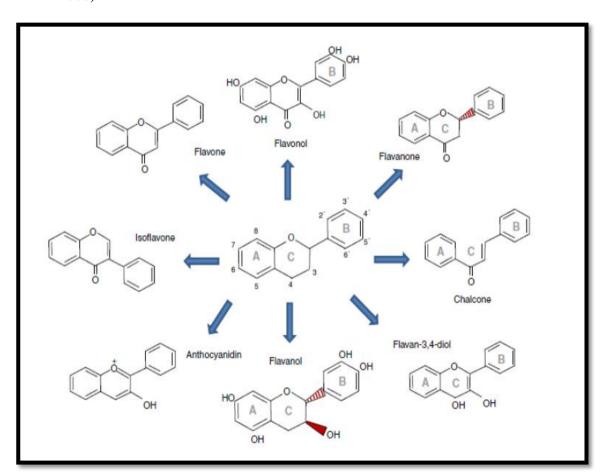


Figure 13 : Structures des différentes classes de flavonoïdes (Fraga et Oteiza, 2011)

### **3.1.3.** Tanins

### 3.1.3.1. Généralité sur les tanins

Les tanins sont des métabolites secondaires polyphénoliques (**Khanbabaee et Ree, 2001**), hydrosolubles de masse molaire entre 500-2000D. Leur structure chimique leur confère une capacité très développée de se fixer sur des molécules telles que les alcaloïdes, la gélatine, les polysaccharides, et essentiellement les protéines (**Zimmer et Cordesse, 1996**; **Bruneton, 1999**). Parmi les caractéristiques des tanins le goût astringence qui est une sensation tactile due à la précipitation des protéines salivaires et qui crée une sensation d'assèchement dans la bouche (**Peronny, 2005**).

### 3.1.3.2. Structure chimique et classification

A la base de leur caractéristique structurale, il est possible de diviser les tanins en 2 groupes :

### > Tanins hydrolysable

Ce sont des polyesters de glucose (ou de molécules apparentées) et d'un nombre variable d'acide phénolique qui est : soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxydiphenique (HHDP) et ses dérives d'oxydation dans le cas des tanins éllagiques (Bruneton, 1999 ; Ghestem et *al.*, 2001).

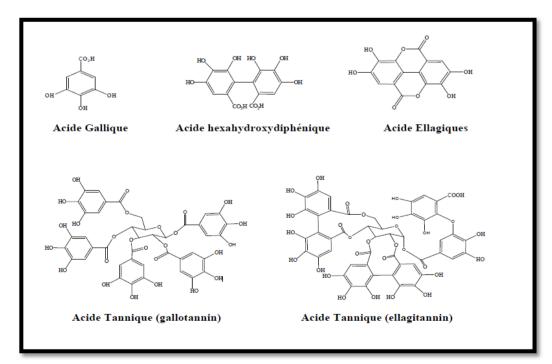


Figure 14 : Structure des tanins hydrolysables et leur monomère (Bruneton, 1999).

### > Tanins condensés (proanthocyanidines)

Ce sont des dérives non hétérosidique, n'ayant pas tous des propriétés tannantes, résultant de la polymérisation d'un nombre variable d'unités flavane (flavan-3-ols), le plus souvent épicatéchine et catéchine, avec un degré de polymérisation entre deux et plus de cinquante unités (**Ghestem et al., 2001 ; Khanbabaee et Ree, 2001**). Ces unités liées entre elles par une seule liaison carbone-carbone  $4\rightarrow 8$  ou  $4\rightarrow 6$  dans les proanthocyanidines de type B, ou par une liaison inter flavanique double (C- $4\rightarrow$ C-8 ou C- $4\rightarrow$ C-6) et (C- $2\rightarrow$ O $\rightarrow$ C-7) dans les proanthocyanidines de type A (**Bruneton, 1999 ; Vivas et al., 2006**).

Figure 15: Structure des tanins condensés et leur monomère (Bruneton, 1999).

### **3.1.4. Quinones:**

Les quinones sont des composés intéressants qui ont des caractéristiques uniques et plusieurs rôles importants. Ils sont largement distribués dans la nature, y compris dans les tissus végétale. Ils ont un rôle important dans la chaîne de transport d'électrons pour maintenir les fonctions biologiques des plantes. En plus de ces rôles biologiques, les quinones ont été utilisées dans une grande variété de pratique clinique. Par exemple, la doxorubicine (DXR) est une anthraquinone(AQ) antibiotique qui a été utilisé cliniquement dans le traitement des tumeurs malignes (Naoya et Naotaka, 2014).

Les quinones sont attachées aux composés phénoliques simples. Certaines quinones plus complexes, où la partie aromatique est liée à une chaîne latérale isoprénique, assurent souvent des fonctions biologiques essentielles chez les êtres vivants, en particulier, le transfert des électrons dans les mitochondries et les chloroplastes (Macheix et al., 2005).

### 3.1.5. Anthocyanes

Ce sont des pigments rouges en milieu acide, virant au bleu en milieu alcalin ; ils sont très répandus dans les fleurs et les fruits.

Les anthocyanes sont des dérivés du cation 2-phényl-1-benzopyrylium (flavylium) porteur de 3 cycles aromatiques conjugués d'où l'absorption de lumière visible. Dans la nature, ces pigments n'existent pas sous forme aglycone, mais sous formed'hétérosides.

Les sucres sont liés au chromophore en position 3, mais aussi en position 5 et plus rarement en position7. (**Brouillard**, 1986). Une caractéristique importante de ces composés réside dans leur aptitude antioxydant, et de nombreuses études sur leurs activités biologiques peuvent en témoigner (**Castaneda-Ovando** et al., 200).

Figure 16 : Les différentes classes de l'anthocyane (Brouillard, 1986)

### 3.2. Les Alcaloïdes

Le nom alcaloïde a été présent par un pharmacien allemand Carl Meissner en 1819. La racine de ce mot vient de la langue arabe « al-qali » qui signifie une plante marine d'ou la soude. Les alcaloïdes sont définis comme des produits d'origine végétale, basiques, pharmacologiquement actifs (**Kutchan et Lewis, 2000**). Ils ont comme caractéristique commune de renfermer l'azote, le plus souvent intracyclique (**Muniz, 2006**).

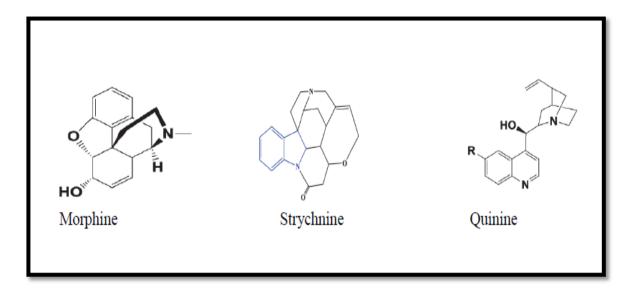


Figure 17: Exemples des dérivés d'alcaloïdes (Badiaga, 2011).

### 3. 3. Terpènes et stéroïdes

Les terpènes constituent une famille de composés largement répondus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C5H8) (Lamarti et al., 1994) (Figure 18).

La classification des terpénoïdes est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base l'isoprène, on distingue: hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpène (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes (Loomis et Lroteau, 1980). Les stéroïdes constituent une importante famille de lipides contenant de nombreuses molécules terpéniques, ils sont caractérisés par la présence d'un motif structural commun, trois noyaux à six atomes de carbones et un noyau à cinq atomes de carbones accolées (Reginald et al., 2000).

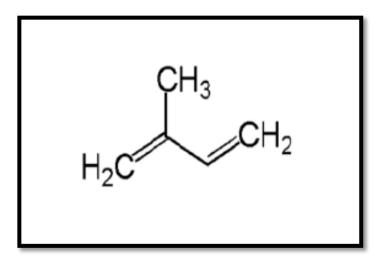


Figure 18 : Structure de l'isoprène (Hininger, 2011).

### 3.4. Les saponosides

Les saponosides ou saponines sont des hétérosides (substances comportant dans leur structure un ou plusieurs molécules de sucre), ils tirent leur nom du latin *sapo*signifiant savon en raison de leur propriété à former des solutions moussantes en présence d'eau. En fonction de la nature de leur génine les saponines pouvant être de type stéroïdique ou triterpénique (**Bruneton**, 1999).

### 3.5. Les composés réducteurs (Les glycosides)

Selon Charles (2006), le terme glycoside désigne le nom général d'un aglycone (partie non sucre) lié de manière covalente à un hydrate de carbone par un lien Oglycosidique, C-glycosidique ou N-glycosidique selon le type d'atome impliqué dans la liaison II est généralement accepté que les glycosides présentent une plus grande hydro solubilité que leurs aglycones respectifs (Kren et al., 2001). C'est pourquoi, dans la plante, les glycosides jouent un rôle essentiel dans les phénomènes d'accumulation, d'entreposage et de transport des substances hydrophobiques. En effet, l'attachement d'une section saccharidique à une molécule donnée augmente sensiblement son hydrophilicité (De Roode et al., 2003).

### 4. Rôle biologique des composés phénoliques

Les composés phénoliques, d'un grand intérêt pour les chercheurs, sont les substances les plus recherchées par l'industrie. Les principales raisons de cette popularité sont leur propriété antioxydant, leur abondance dans les aliments et leur rôle probable dans la prévention de plusieurs maladies associées au stress oxydatif, telles que le cancer et les maladies cardiovasculaires et dégénératives (**Middleton et al., 2000**).

Tableau V: L'activité biologiques des quelques composés phénoliques.

Composés	Activité biologiques	Références			
Acides Phénoliques	Antibactérienne, antifongique, antioxydant	(Bruneton ,1999; Hennebelle, 2006).			
Flavonoïdes	Antimicrobienne, anti-inflammatoire, antivirale, détoxyfiant, antioxydant, antitumoral, anti-thrombotique	(Ohemeng, 1993) (Martin et Andrian tsitohaina, 2002 ;			

	anticarcinogène, antiallergique,	(Bruneton, 1999;
	antiulcéreuse, hypotenseur diurétique.	Hennebelle, 2006).
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux, anti	(François, 2010).
	oxydant	
	Anti-diarrhéique, cicatrisante,	(Paolini et <i>al.</i> , 2003)
	vasoconstricteur	
Tanins	Antimicrobienne, antivirale	(Hong et al., 2000)
	Anti-inflammatoire et antimutagène	(Kaur et al., 2000)
	Antioxydant	(Merghem, 2009)
	Antitussifs	(McCalley, 2002)
Alcaloïdes	Anti-arythmiques	(Silvestrini et al., 2002)
	Antipaludiques	(Stöckigt et al., 2002)
	Anticoagulant, antioxydant, protectrice	(Bruneton 1999;
Coumarines	vasculaire et antioedémateuse	Hennebelle, 2006).
	Antitumoreux, antimicrobiens,	
Saponosides	antiappétants, anti-inflammatoires,	(Bruneton, 1999).
	hémolytique	

### CHAPITRE III: ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE

### 1- Définition de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne correspond à l'activité d'une molécule ou composé présente au sein d'un végétal qui a très faible concentration, inhibe le développement d'une bactérie ou tue. La sensibilité d'une bactérie peut être très différente selon la souche d'appartenance (**Nicola et Daniel, 1998**).

### 2. Morphologie et structure des bactéries

Une bactérie est un microbe formé d'une seule cellule, visible au microscope, appartenant à une zone de transition entre le règne animal et le règne végétal. Comme toute cellule, les bactéries sont constituées d'un noyau, isolé ou diffus, un protoplasme contenant des granulations et des vacuoles, et une paroi parfois d'une capsule.

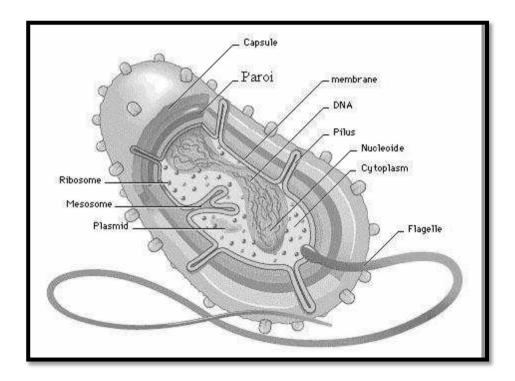


Figure 19 : Structure d'une bactérie (Nauciel, 2000).

La cellule est enveloppée par une paroi rigide, qui lui donne sa forme et sa résistance. Epaisse chez les bactéries à gram positif et plus mince chez les bactéries à gram négatif; la paroi entoure une membrane cytoplasmique, plus fine et plus délicate. Les bactéries à gram négatif possèdent une seconde membrane, qui est la membrane externe pour la distinguer de la membrane cytoplasmique, dite interne. Le cytoplasme sous-jacent contient essentiellement des granulations d'acide ribonucléique, les ribosomes ainsi que des substances de réserve comme le glycogène. L'appareil nucléaire se distingue par son aspect

fibrillaire, finement réticulé, et qui occupe une grande partie de l'espace cellulaire, et il n'est pas entouré d'une membrane. Il existe des structures membranaires intracytoplasmiques appelées mésosomes qui sont le plus souvent étroitement associés à l'appareil nucléaire (rôle de fixation). D'autres composants peuvent être présents (éléments facultatifs), comme le glycocalyxe (polymère de surface polysaccharidique), la capsule, les flagelles (mobilité), les fimbriae (fixation sur d'autres cellules), les pili sexuels (interviennent au cours des processus de conjugaison). Enfin, certaines bactéries peuvent contenir des éléments d'ADN circulaires extra chromosomique ou ADN mobile, qui sont les plasmides et qui portent des informations génétiques spécifiques « exemple résistance à certains antibiotiques » (Leclerc et al., 1995).

### 3. Les principales substances antimicrobiennes

### 3.1. A. Les antibiotiques

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

La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a entraîné la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et surtout vers les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration de nouveaux médicaments (Billing et Sherman, 1998).

### 3.1. B. Résistance des micro-organismes aux antibiotiques

L'existence des bactéries multirésistantes aux antibiotiques constitue un problème considérable. Le SARM présente ce caractère très résistant à la plupart des antibiotiques.

Plus des 90% du *Staphylococcus aureus* présentent une résistance à la pénicilline, nafcillin, oxacilline et méthicilline (**Novick, 2001**). Les bases moléculaires de la résistance aux antibiotiques sont déterminées par le gène *mecA* (**Novick, 2001**). Ce gène est responsable de la production d'une protéine, la *Penicillin binding protein* (PBP). Or, dans le cas du SARM, ce gène a été modifié pour produire une protéine (PBP-2A) ayant une faible affinité pour la liaison avec les antibiotiques beta-Lactames (**Kuroda et al., 2001**).

### 3.1. C. Classification des antibiotiques

Il existe plusieurs classifications des antibiotiques, elles sont basées sur le spectre d'action, la cible, ou la famille chimique. Cette dernière celle-ci est la plus fréquemment rencontrée.

Les principales familles chimiques des antibiotiques sont: β-lactamines: Pénicilline et Céphalosporines; Aminosides: Streptomycine, Gentamicine; Chloramphénicol et Thiamphénicol; Cyclines: Tétracyclines, Doxycycline et Macrolides leur apparentés: Erythromycine, Oléandomycine. (Cohen et Jacquot, 2001).

### 3.2. Les composés phénoliques

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

### 3.3. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont définies comme étant des extraits volatils et odorants, que l'on extrait de certain végétaux par distilatation à la vapeur d'eau, pressage ou incision des végétaux qu'ils les contiennent. Elles se forment dans un grand nombre des plantes comme sous produits du métabolisme secondaire (**Bruneton**, 1999).

La considération donnée aux huiles essentielles revient en fait à leurs propriétés aromatiques et pharmacologiques. Certaines d'entre elles possèdent des effets antiseptiques (antibactériens et antifongiques) assez puissants. Elles agissent par lésions membranaires, par inhibition de la croissance cellulaire, de la sporulation et de la toxinogenèse (Gabrielet al., 2013).

### 4. Données générales sur les bactéries testées

### a- Staphylococcus aureus

Ce sont des cocci Gram positif avec un diamètre de 0,5 à 1,5 µm, de forme non sporulée, qui tendent à se grouper en paires, petites chaines, elles sont habituellement non capsulée, ou possédant des capsules limitées, elles sont anaérobies facultatives. *Staphylococcus aureus* représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aigue, intoxication alimentaire (**Dworkin et Falkow**, **2006**).

### b- Escherichia coli

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal, de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6  $\mu$ m, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5  $\mu$ m, E. coli représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aigues d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées et les intoxications alimentaires (**Percival**, 2004).

### c-Salmonella typhimurium

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

### d-Klebsiella pneumoniae

Les bactéries appartenant à l'espèce *Klebsiella pneumoniae* sont des bacilles à Gram négatif, immobiles, non sporulés, anaérobies facultatifs et appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* (El Fertas-Aissani et al., 2012; Srinivasan et al., 2012). *Klebsiella pneumoniae* est une espèce pathogène opportuniste, elle est fréquemment rencontrée dans la nature : eaux de surface, du sol, du bois et des végétaux (El Fertas-Aissani et al., 2012). Elle est présente dans le tube digestif de l'homme et des animaux, et elle est commensale des voies respiratoires (Joly et Reynaud, 2002).

# Deuxiche Palife. Etude experimentale

### 9

## CHAPITRE I: MATÉRIEL ET MÉTHODES



### 1. Matériel

### 1.1. Matériel végétal

Notre étude à été réalisé dans laboratoires de centre universitaire de Mila sur cinq variétés de l'espèce *Olea Europaea* .L (Sigoise, Dathier, Chemlal, Rougette, Sévillane) Planté au niveau de oliveraie Maazouzi Lakhdar commune d'oued endja wilaya de Mila. La récolte des fruits et feuilles de l'olivier à été réalisées à la fin d'octobre 2015.

### 1.1.1.Description des variétés d'olivier

Les caractères de chaque variété d'olivier sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau VI: Caractéristique morphologique de cinq variétés d'olivier (Sigoise, Dathier, Rougette, Chemlal et Sévillane). (Argeson, 1999; Mendil et sebai, 2001; Loussert et Brousse, 1978).

Les varieties	Localisation	Caractéristiques
Chemlal	Centre Algérien Kabylie	C'est la variété la plus dominante en Algérie -Diffusion : occupe 40% du verger oléicole nationalUtilisation : huile d'olive -Enracinement faible Son fruit est moyen, il pèse entre 2 g et 2,5 g, alors que ce poids est d'environ 2 g dans les zones d'origine - Sa feuille est de 3,5 à 7 cm de long et de 1 à 2 cm de large.
Sigoise	Ouest Algérien (Oranie, Tlemcen)	-C'est une variété autofertile, elle représente 20% du verger oléicole national.  - Il existe dans le domaine 1500 arbres de variété Sigoise.  -Variétés rustique, le fruit est de poids moyen et de forme ovoïde, produit une olive à deux fins est très recherchée pour la conserverie et donne un bon

		rendement en huile de 18 à 22%.			
		-Son fruit pèse entre 3 et 3,5 g, ce poids			
		est presque le même dans les zones			
		d'origine.			
		- Son feuille allongée modérément à			
		droite			
Dathier (Olive de Volos)	Grèce	-Gros fruit ovoïde. Noyau assez gros,			
		régulier, en forme de datte.			
		Chaire abondante, ferme et blanche se			
		détachant du noyau. Calibre courant :			
		14/18 fruits aux 100g.			
A SHARE		- son feuille allongé modérément à			
SERVICE THE RESIDENCE OF THE PARTY OF THE PA		droite et incurvé.			
Rougette	Est	-Cette variété est appréciée pour sa			
	Algérien	rusticité et sa précocité, elle est			
		représentée par 1000 arbres.			
		-Son fruit pèse environ 5 g avec un			
		couleur rouge violet.			
		-Les dimensions de la feuille sont de 4 à			
		7 cm de long et de 1 à 2 cm de large.			
		Rendement: son huile douce (18 à 20%)			
		avec des olives de table rouge.			
Sévillane	l'Ouest	- Cette variété est représentée avec un			
	Algérien	effectif de 2000 arbres.			
		- Elle se caractérise par son fruit qui est			
A Part Co		gros mais sa chair est médiocre.			
		-Le fruit pèse entre 11 et 12 g, alors que			
		son poids est entre 10 à 11 grammes			
		dans les zones d'origine.			
		-Les dimensions de la feuille sont de 4,5			
		à 7 cm de long et de 1 à 2 cm de large.			
		-Variétés de table			

### 1.2. Matériel de laboratoire

Tout le matériel utilisé dans notre étude est résumé dans (Annexe I)

### 1.3. Souches microbiennes

Les souches bactériennes utilisées dans l'essai sont des lots de l'ATCC (American Type Culture Collection), ont été choisies pour leur haute pathogénicité et leur multi résistance trois souches à gram négatif sont : *Salmonella typhimurium* ATCC14028, *Escherichia coli* ATCC25922 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 et une souche à gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, (ramenées du laboratoire de recherche de microbiologie de l'université de Sétif).

### 1.4. Les antibiotiques

L'antibiotique utilisé dans ce travail est : Gentamicine (CN10).

### 2. Méthodes

### 2.1.L'étude phytochimique

### 2.1.1 .Préparation des échantillons (Les fruits et feuilles de l'olivier)

Pour faciliter l'extraction des composés phénoliques à partir des fruits et feuilles d'olivier deux opération de prétraitement de ce matériel ont été effectuées : séchage et broyage.

- ➤ **Séchage :** Le séchage des feuilles d'olivier est effectué à l'aire libre à température ambiante puis dans une étuve portée une température voisine de 45°C pendant trois jours.
- ➤ **Broyage:** Les fruits et feuilles séchées sont ensuite broyées à l'aide d'un mixeur jusqu'à devenir une poudre. Ce dernier a été conservé dans un sachet propre qui sert ultérieurement à l'extraction des polyphénols.

### 2.1.2. L'extraction des polyphénols

La macération consiste à laisser tremper une plante sèche dans un solvant approprié pendant plusieurs heures, jours, voire semaines. L'intérêt de la macération est généralement la conservation des principes actifs durant le procédé (**Sophie et Eherhart, 2003**).

les polyphénols sont extraites par la méthode de macération prolongée (5 jeurs) à température ambiante par le méthanol solen la méthode décrit par **Abaza et al., (2007)** l'extraction est représente indique dans le schéma suivants :

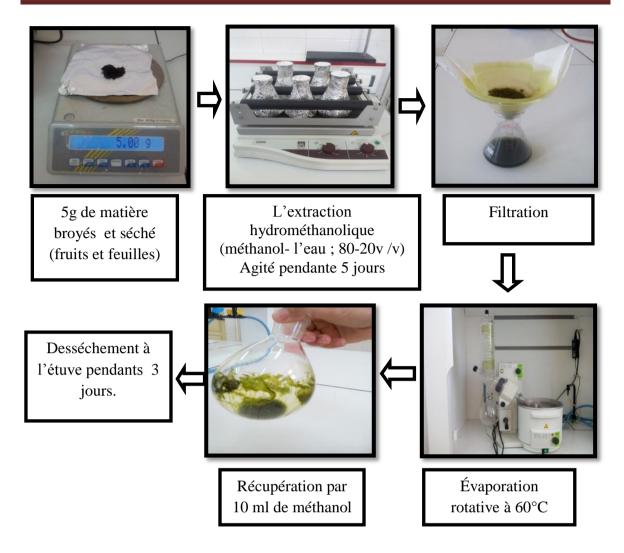


Figure 20 : Protocole d'extraction des polyphénols.

### 2.1.3. Screening phytochimique

Le screening phytochimique met en évidence la présence des familles de molécules actives, c'est une étude qualitative utilisée pour connaître la composition chimique globale des extraits. Elle est basées sur des réactions de coloration et/ou de précipitation, des observations sous lampe UV peuvent être aussi utiles.

Les résultats ont été évalués comme suit : +++ : Fortement positif / ++ : Moyennement positif / + : Faiblement positif / - : Négatif / ND : non déterminé.

### > Recherche des substances polyphénoliques

La caractérisation des polyphénols est basée sur une réaction au chlorure ferrique (FeCl3), à 2 ml de l'extrait, une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% est ajoutée. L'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence des polyphénols (**Békro et** *al.*, **2007**).

### > Recherche des saponines : test de mousse

Dans un tube à essai, introduire 2ml de l'extrait à analyser, ajouter 2ml d'eau distillée chaude, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur supérieure à 1 cm d'un mousse indique la présence des saponines (Harborne, 1998).

### > Recherche des tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, 1 ml de l'extrait méthanolique, 1ml d'eau distillée et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl3 diluée. L'apparition d'une coloration vert foncée ou bleu-vert indique la présence des tanins (**Trease et Evans**, 1987).

### > Recherche des flavonoïdes

On trempe 10 g de la plante dans 150 ml d'acide chlorhydrique à 1 % pendant 24 heures, on filtre et on procède aux tests suivants:

On ajoute à 10 ml du filtrat, du NH4OH jusqu'au pH basique. L'apparition d'une couleur jaune prouve la présence des flavonoïdes (**Benwqhi**, 2001 ; **Chaouch**, 2001).

### > Recherche des anthocyanes

La présence des anthocyanes dans un décocté ou un infusé est indiquée par une coloration rouge qui s'accentue par l'addition de HCl dilué et vire au bleu-violacéverdâtre par l'ajout d'ammoniaque (Wagner, 1984).

### > Recherche des triterpènes et stéroïdes

On agite le filtrat obtenu par macération de 5 g de la poudre dans 20 ml de chloroforme pendant quelques minutes. On ajoute 1 ml d'acide sulfurique sur les parois du ballon. L'apparition d'une couleur verte qui se transforme au fur et à mesure au rouge sur les points de contact de l'acide sulfurique avec la solution prouve la présence des stérols et triterpènes (Kalla, 2012).

### > Recherche des alcaloïdes

On prend 1 ml de l'extrait à analyser dans un tube à essai et ajouter 5 gouttes de réactif de Wagner, l'apparition d'un précipité orange révèle la présence des alcaloïdes (Trease et Evans, 1989; Harborne, 1998).

### Recherche des composés réducteurs (les glycosides)

Pour détecter ces molécules, un mélange constitué de 1 ml d'extrait, 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de liqueur de Fehling est chauffé à 90°C dans un bain marie, un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (**Trease et Evans, 1987**).

### > Recherche des coumarines

Le résidu de chaque extrait est dissout dans 2 ml d'eau distillée chaude. Le mélange est partagé dans deux tubes. On ajoute à un des tubes 0.5 ml de NH4OH 25 %, ensuite, une goutte de chaque tube est prélevée puis déposée sur un papier filtre qui sera observé sous U.V. à 366 nm (**Bruneton, 1999**). Une fluorescence intense est observée pour le tube contenant le NH4OH.

### > Recherche des quinones libres

Sur un volume de chacun de nos extraits, on ajoute quelques gouttes de NaOH 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (**Oloyde**, **2005**).

### > Recherche des anthraquinones

Pour la détection des anthraquinones, à 10 ml d'extrait sont ajoutés 5 ml de NH4OH à (10%). Après agitation, l'apparition d'un anneau rouge indique la présence d'anthraquinones (**Oloyede**, **2005**).

### 2.1.4. L'activité antibactérienne

Les tests d'évaluation de l'activité antimicrobienne nécessitent un travail dans des conditions d'asepsie rigoureuses afin d'éviter les problèmes de contamination. En outre, le matériel, les solutions et les milieux de cultures doivent être stérilisés par autoclavage. L'inhibition de la croissance bactérienne *in vitro* a été étudiée par la méthode de diffusion par disque (l'aromatogramme) sur gélose telle que décrite par (**Bauer et** *al.*, **1966**).

Le test a porté sur tous les extraits d'*olea europaea* préparés précédemment et s'est déroulé selon les étapes suivantes :

### 2.1.4.1. Préparation des milieux :

Selon **Baur et** *al.*, (1966). La préparation des milieux effectués par les méthodes suivantes :

### ✓ Préparation de milieu MH (Mueller Hinton)

Pour la préparation de la gélose Mueller Hinton on introduit 38g de MH dans un erlenmeyer auquel est ajoutée 1L d'eau distillé, le mélange obtenu semis sous agitation continue à une température élevé sur une plaque chauffante jusqu'à le bouillage, le milieu sera divisée dans des flacons en verre.

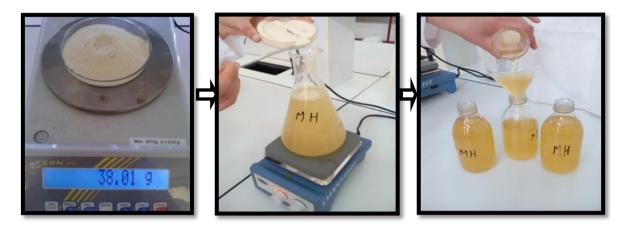


Figure 21 : Préparation de milieu MH.

### ✓ Préparation de milieu BN (Bouillon nutritif)

Le bouillon nutritif à été préparé pour le but de la réactivation et l'entretien des souches bactériennes par l'ajoute de 20 g de BN à 1L d'eau distillé sous agitation pendant quelques minutes, la solution sera divisée dans des tubes en verre à vesse.

### ✓ Préparation de l'eau physiologique

L'eau physiologique est préparée par solubilisation de 0.9g de Nacl dans 100ml d'eau distillée avec agitation pendant quelques minutes et divisée dans des tubes en verre à vesse.



Figure 22 : Préparation de l'eau physiologique.

### 2.1.4. 2. Préparation des disques d'aromatogramme

Une feuille de papier Wattman N  $\circ 3$  est coupée en disques de 6 mm de diamètre. Ces disques sont ensuite mis dans un tube à essai.

### 2.1.4.3 .Stérilisation du matériel

Le milieu de culture MH, l'eau physiologie, BN, les tubes à essai, les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre), les emboles, les pinces enrobées dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

### 2.1.4.4. La dilution d'extraits

L'extrait méthanolique des feuilles et fruits de 5 variétés (Chemlal, Sigoise, Dathier, Rougette et Sévillane) est solubilisé dans le diméthyl sulfoxyde (DMSO) selon la méthode suivante :

- ❖ T0: 0.2g d'extrait avec 1ml de DMSO (100%).
- ❖ T½: 0,5ml d'extrait de T0 avec 0.5ml de DMSO (50%).
- ❖ T<sup>1</sup>/<sub>4</sub>: 0.5ml d'extrait de T<sup>1</sup>/<sub>2</sub> avec 0.5ml de DMSO (25%).

### 2.1.4.5. Préparation des suspensions bactériennes:

- Après la stérilisation de zone de travail avec l'eau de javel. Les souches bactériennes conservées sur gélose incliné sont tout d'abord ensemencées sur gélose nutritive et incubées dans 5ml de BN à 37°C pendant 24 heures.
- Les souches bactériennes ont été repiquées sur gélose nutritive en boite de pétri et incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. A l'aide d'une anse de platine stérile pour optimiser leur croissance, quelques colonies bien isolées et identiques de chaque souche bactérienne à tester sont alors raclées, déchargées dans un tube contenant 5ml de l'eau physiologique puis homogénéisées à l'aide d'un vortex.
- Nous avons fait la lecture de la suspension bactérienne à une densité optique de 0.08 à 0.10, lue à la longueur d'onde 625 nm. Pour l'inoculum de S. *aureus*, un ajustement a été effectué (DO de 0,15 à 0,25) afin d'obtenir des colonies confluentes suffisamment denses (Younsi *et al.*, 2010).

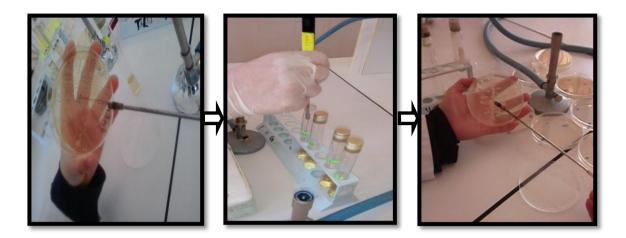


Figure 23 : Les étapes de réactivation des bactéries.

### 2.1.4.6. Ensemencement bactérienne

Après la préparation et l'identification des boites de pétri nous avons fait l'ensemencement des bactéries :

L'ensemencement a été réalisé par écouvillonnage sur les boites de Pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées.

L'opération a été répétée deux fois en tournant la boite de 60° à chaque fois. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée. L'écouvillon a été rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boites de Pétri avec la même souche.

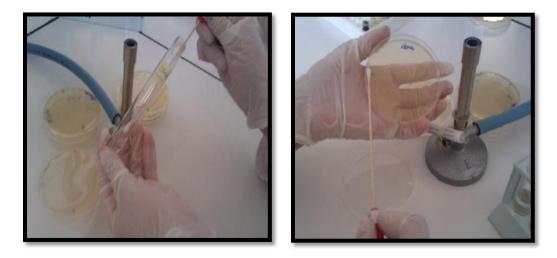


Figure 24: Etapes d'ensemencement (écouvillonnage).

### 2.1.4.7 .Dépôts des disques et l'injection des extraits

- Les disques on été déposés délicatement sur la surface de la gélose MH inoculée à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen.
- À l'aide d'une micro pipette on a ajouté 5μl de chaque dilution des extrais (T0 / T½ / T¼) sur les disques.

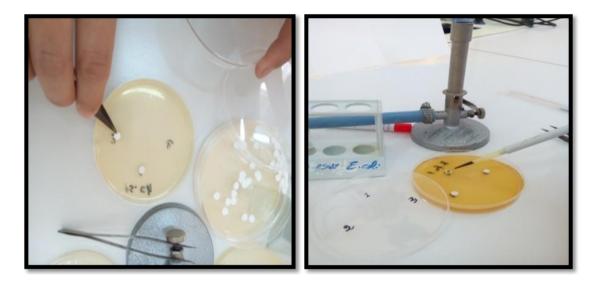
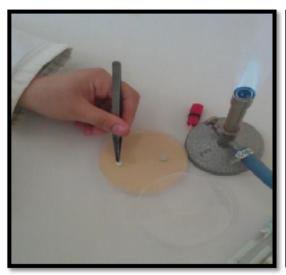


Figure25 : Dépôts des disques et l'injection des extraits

### 2.1.4.8. Préparation des témoins (Positif et négatif)

Ce test a été réalisé pour étudier l'effet des antibiotiques et de DMSO sur les déférentes souches utilisés et le comparer avec l'effet de nos extraits, comme des témoins positif (T+) et (T-) respectivement. Les disques d'antibiotiques et de DMSO sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture de la souche à étudier.

La sensibilité des bactéries à un antibiotique et DMSO est appréciée selon le même protocole qu'avec les disques de papiers imprégnés d'extrait. On a utilisé une seule antibiotique (Gentamicine).



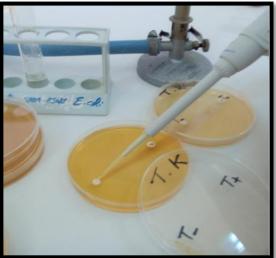


Figure 26 : Dépôt de disque d'antibiotique et DMSO sur Muller-Hinton.

### 2.1.4.9. Incubation et lecture

Après dépôt des extraits, les boites sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 h.

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des polyphénols (**Hamidi**, 2013).

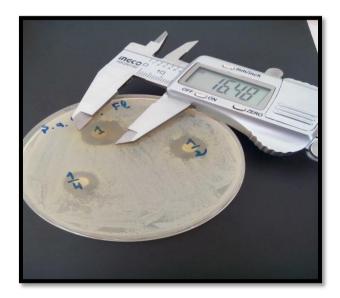


Figure 27 : la lecture par le pied coulisse.

Après l'incubation, l'effet des extraits et de l'antibiotique se traduit par l'apparition d'une zone transparente autour de disque correspondant à l'absence de la croissance

bactérienne. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (Choi et al., 2006).

Si le diamètre est égal à 6 mm: la bactérie est résistante. Si le diamètre plus de 6,2 mm: la bactérie est sensible.



## CHAPITREII: RÉSULTATS ET DISCUSSION



### 1.Résultats

### 1.1. La teneur en polyphénols :

Les résultats de teneur en polyphénols illustré dans le **Tableaux VII** des cinq variétés d'olivier nous a permis de remarquer une différence de la teneur en polyphénols entre les cinq variétés des feuilles et des fruits.

Tableau VII : Résultats de la teneur en polyphénols.

	Les Variétés	Sigoise	Chemlal	Dathier	Rougette	Sévillane
La quantité des polyphénols	fruits	2940	3080	2560	3080	3080
(mg /100g)	feuilles	3520	3440	3300	3160	3100

Pour les fruits : les variétés Chemlal, Rougette, Sévillane, possèdent un teneur maximal et identique en polyphénols (3080 mg/100g) et ensuite la variété de Sigoise avec une valeur de (2940 mg/100mg), et un teneur faible pour la variété Dathier (2560mg/100mg). (**Figure 28**).

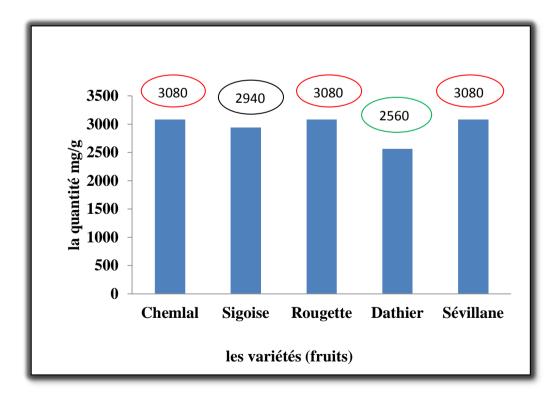


Figure 28 : Histogramme représente la teneur en polyphénols dans les fruits.

Concernant les feuilles : la teneur maximal est remarque chez le Sigoise (3520mg/100g) suivie par Chemlal (3440mg/g), Dathier (3300mg/100g), Rougette (3160mg/100g) et la teneur minimal est remarqué chez la variété Sévillane (3100mg/100g) (**Figure 29**).

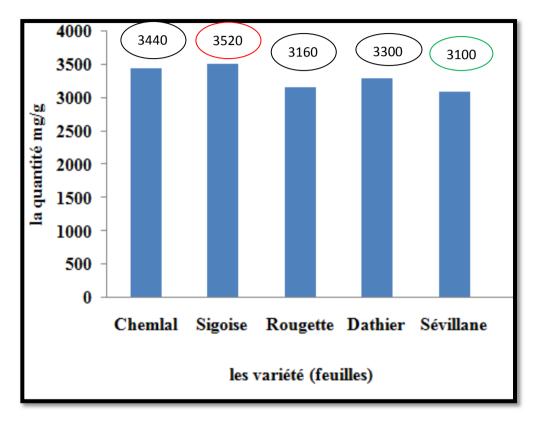


Figure 29 : Histogramme représente la teneur en polyphénols

dans les feuilles.

L'analyse de la variance à un critère a montré un effet très hautement significatif pour la teneur en polyphénols des feuilles et des fruits (**Annexe III**).

### 1.2. Les testes phytochimiques :

La réalisation de ces tests a pour but de révéler les différentes familles de substances existantes dans les feuilles et fruits de la plante étudiée en se servant des réactions qualitatives de caractérisation. Ces dernières reposent sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque catégorie de composés.

Les résultats des tests phytochimique effectués sur les feuilles et les fruits d'*Olea europaea* .L épuisées par l'eau et le méthanol sont regroupés dans le **Tableau VIII.** 

**Tableau VIII**: Résultats des tests phytochimique sur les extraits des fruits et des feuilles d'*Olea europae*a. L des cinq variétés (Sigoise, Chemlal, Sévillane, Dathier et Rougette).

Les	Sig	oise	Che	mlal	Dat	hier	Rou	gette	Sévi	llane
Variétés les tests	Fr	Fl	Fr	Fl	Fr	Fl	Fr	Fl	Fr	Fl
Saponosides	+++	++	+	+++	-	++	-	+	-	+++
Composé phénolique	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
Alcaloïdes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoïdes	+++	++	++	++	+++	+++	++	++	++	++
glycosides	+++	++	+	++	+++	++	+++	+++	++	++
Coumarines	+++	++	+++	+++	+	+++	+	++	+++	++
Triterpènes et Stéroïdes	++	++	+++	+	++	+++	+++	++	++	+++
Tanins	++	+++	+	+++	++	+++	+++	+++	+	+++
Anthraquinon es	+++	++	++	++	+++	+	++	++	++	+++
Anthocyanes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Quinones libre	++	+	+	+	++	+	+++	+	+	+

(+++): Fortement présent ; (++): Moyennement présent ; (+): Faiblement présent ; (-): test négatif

### 1.2.1. Les saponines :

Les résultats de la composition physicochimique ont montré que les saponosides dans les fruits sont très abondant chez les deux variétés Sigoise suivie par Chemlal. Une teneur moyen dans la variété Dathier et Sévillane et une teneur plus faible dans la variété Rougette.

Dans les feuilles on remarque que les deux variétés Sévillane et Chemlal présente une teneur relativement élevé en saponines, et une valeur moyenne dans les deux variétés Sigoise et Dathier, par contre la variété Rougette présente une teneur faible.

Si on compare les feuilles et les fruits on remarque que les feuilles sont très riche saponines par apport aux fruits sauf la variété Sigoise qui possède un teneur très élevé pour les deux organes (feuilles et fruits). Les résultats sont présentés dans la figure suivante (figure 30).

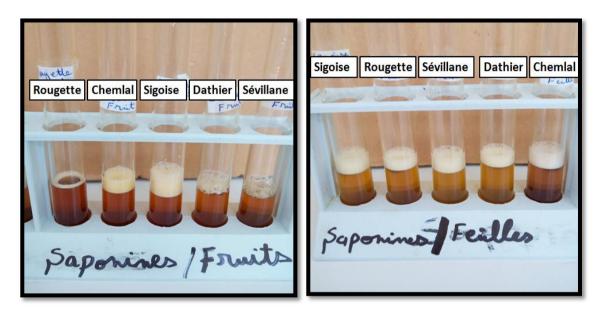


Figure 30 : Résultats de test des saponines.

### 1.2.2. Les Composés phénolique

Nous avons remarqué la présence de la couleur verte foncé qui indique la présence des composés phénolique dans l'extrait des cinq variétés d'olivier.

Les résultats de test des composés phénolique dans les fruits on remarque que ces composés très élevé dans les trois variétés Dathier, Rougette et Sigoise, moyen dans les deux variétés Chemlal et Sévillane.

Dans les feuilles nous avons noté que les cinq variétés possèdent une teneur élevé et identique.

Mais concernent la comparaison entre les fruits et les feuilles, la teneur des composés phénoliques est plus élevé dans les feuilles que les fruits. Les résultats de test des composés phénolique sont représentés dans la (figure 31).

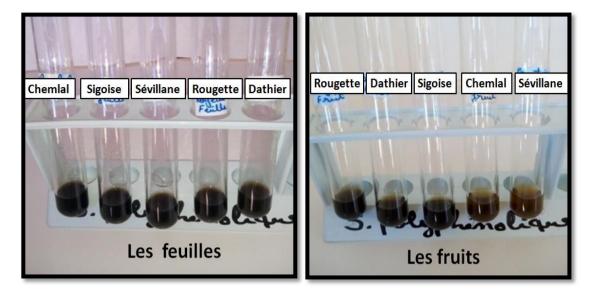


Figure 31 : Résultats de test des Composés phénolique.

# 1.2.3. Les glycosides :

Nous avons noté que les fruits des cinq variétés sont très riches en glycosides par apport aux feuilles qui possèdent une faible teneur en celci.

Dans les fruits on remarque que la variété Sigoise possède une teneur élevé en glycosides, et une valeur moyenne dans les trois variétés Rougette, Dathier et Sévillane, par contre la variété Chemlal présente une teneur en glycosides faible.

Dans les feuilles nous remarquons que ce composé possède une teneur élevé dans les deux variétés Rougette et Dathier, moyen dans la variété Chemlal, Sigoise et Sévillane. Les résultats de test glycosides sont représentés dans la (**Figure32**).

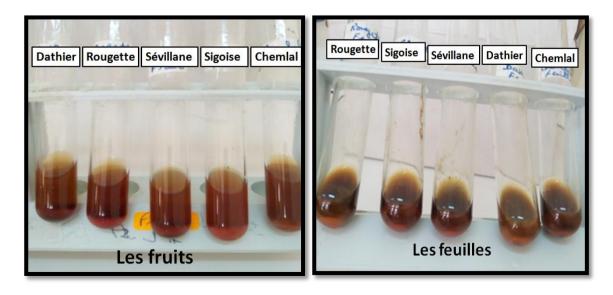


Figure 32 : Résultats de test des glycosides.

#### 1.2.4. Les tanins

L'apparition d'une couleur verte foncée dans les cinq variétés fruits et feuilles prouve la présence des tanins, mais à une teneur plus élevé dans les feuilles que les fruits.

Une valeur élevé chez la variété Rougette et moyennement dans les variétés de Sigoise et Dathier, mais avec une valeur faible dans les deux variétés Chemlal et Sévillane.

Concernant les feuilles on remarque que les cinq variétés ont à une teneur identique. (**Figure 33**).

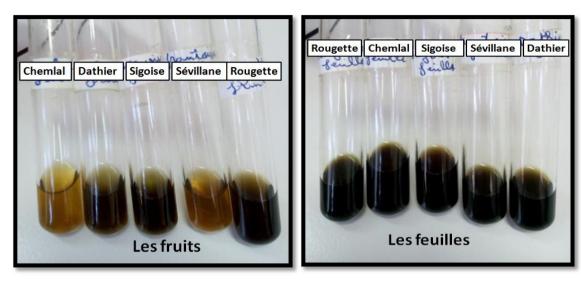


Figure33 : Résultats de test des tanins.

#### 1.2.5. Les alcaloïdes.

Nous avons remarqué l'absence des alcaloïdes dans les cinq variétés d'Olea earopaea .L (fruits et feuilles) (**Figure34**).

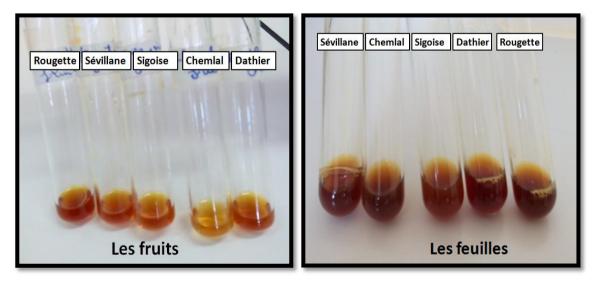


Figure 34 : Résultats de test des alcaloïdes.

### 1.2.6. Les triterpènes et stéroïdes

Pour les résultats de test des triterpènes et des stéroïdes, nous remarquons l'apparition d'une couleur verte qui se transforme au fur et à mesure au rouge dans les extrais des feuilles et fruits des cinq variétés d'olivier.

Dans les feuilles les triterpènes et les stéroïdes sont très abondant dans les deux variétés Dathier, Sévillane et moyennement important dans les variétés Sigoise et Rougette et faiblement important dans la variété Chemlal.

Dans les fruits les triterpènes et les stéroïdes sont très abondant dans les deux variétés Chemlal et Rougette, et une teneur moyen dans les variétés Sévillane, Sigoise et Dathier.

Nous avons remarqué aussi que les fruits contient une teneur élevé de triterpènes et stéroïdes par apport aux feuilles. ( **Figure 35**).

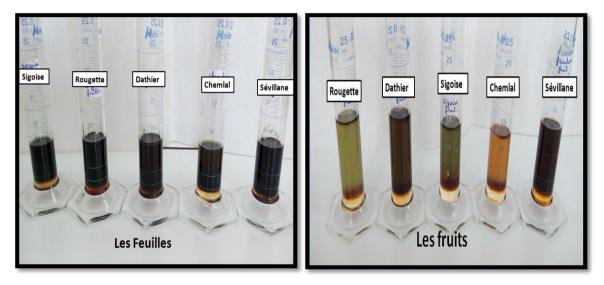


Figure 35 : Résultats du test des triterpènes et stéroïdes.

#### 1.2.7. Les flavonoïdes

Pour les résultats de test des flavonoïdes nous remarquons que :

Dans les fruits l'apparition teneur des flavonoïdes et plus élevé chez les deux variétés Sigoise et Dathier et un teneur moyen dans les variétés Rougette, Chemlal et Sévillane.

Pour les feuilles la variété Dathier est la dominante suivie par les quatre variétés Sigoise, Sévillane, Chemlal, et Rougette qui montre une teneur moyen.

Généralement la teneur des flavonoïdes dans les feuilles des cinq variétés est plus élevée que les fruits. Les résultats de test flavonoïde sont représentés dans la (**figure36**).

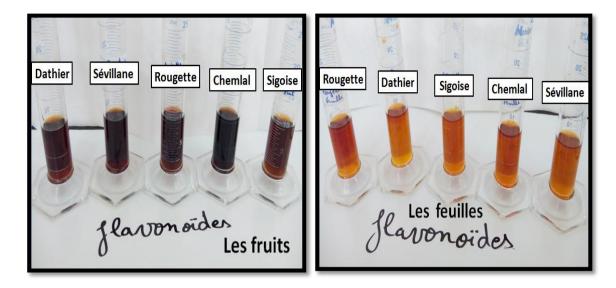


Figure 36 : Résultats de test des flavonoïdes.

#### 1.2.8. Les coumarines :

On a remarqué la présence des fluorescences dans tous les variétés (feuilles et fruits) ce révélé que le teste de coumarines est positif.

Dans les fruits les trois variétés Chemlal, Sévillane et Sigoise possèdent une teneur élevée de coumarines, et faible pour les variétés Rougette et Dathier.

Dans les feuilles la teneur des coumarines est élevé dans les variétés Chemlal et Dathier et moyenne que les variétés Sévillane, Sigoise et Rougette.

# 1.2.9. Les anthraquinones :

Nous avons remarqué la présence de l'anneau rouge dans tous les variétés des fruits et des feuilles ce que indique ces dernier sont riche en anthraquinones.

Pour les fruits l'anneau rouge est très important dans les variétés Sigoise et Dathier, et moins important que les variétés Sévillane, Chemlal et Rougette.

Pour les feuilles le Sévillane possède l'anneau rouge le plus élevé et moyennement dans les variétés Chemlal, Rougette et Sigoise et faiblement que la variété Dathier. (**Figure 37**).

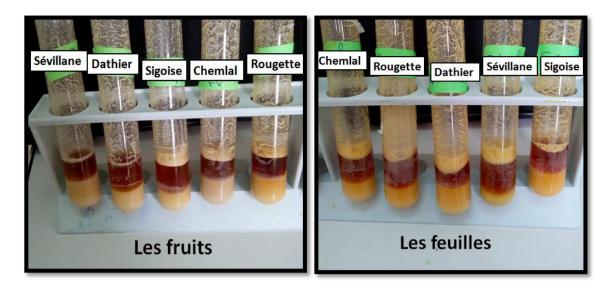


Figure 37 : Résultats de test des anthraquinones.

# 1.2.10. Les anthocyanes :

On remarque l'absence des anthocyanes dans tous les variétés d'olivier (feuilles et fruits). Les résultats sont présentés dans la figure suivante (**Figure 38**).

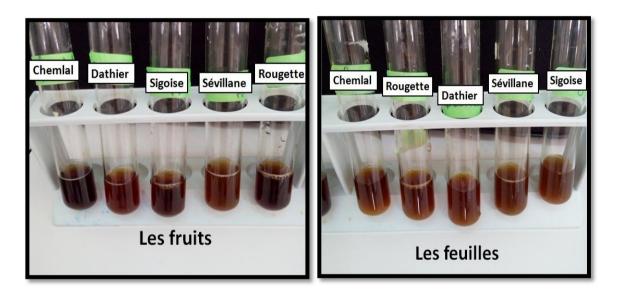


Figure 38 : Résultats de test des anthocyanes.

# 1.2.11. Les quinones libres

On remarque la présence des quinones libres dans toutes les variétés d'olivier (feuilles et fruits). Concernent les fruits nous avons noté la présence d'une teneur élevé de quinones libre dans la variété Rougette et moyen par rapport les deux variétés Sigoise et Dathier et une teneur faible pour les variétés Sévillane et Chemlal.

Dans les feuilles nous avons remarqué que les cinq variétés possédant la même valeur de quinones libre. Les fruits possèdent une teneur plus élevé que les feuilles (Figure39).

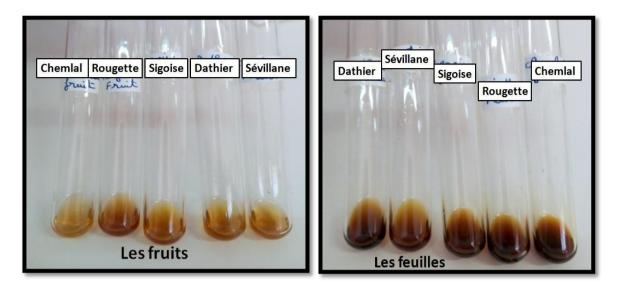


Figure 39 : Résultats de test des quinones libres.

#### 1.3. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits des fruits et feuilles d'olivier vis-à-vis les quatre souches pathogènes est évaluée par la méthode de diffusion sur gélose avec l'utilisation de l'antibiotique Gentamicine comme témoin positif et le DMSO comme témoin négatif.

Selon les résultats représentés dans les **Tableau XI et X**, les polyphénols des feuilles d'olivier ont présenté une forte activité antibactérienne avec la souche *S. aureus* et sont comparables à ceux obtenus pour les fruits qui possède une activité antibactérienne avec les trois souches ; *S. typhi, E. coli* et *K.pneumoniae* plus que les feuilles.

#### 1.3.1. L'activité antibactérienne des fruits

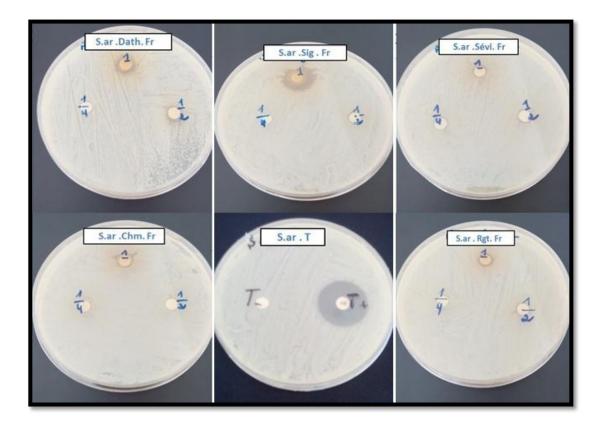
Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits des fruits des cinq variétés d'olivier, (Dathier, Sigoise Rougette, Chemlal et Sévillane). vis-à-vis des quatre souches pathogènes *S. aureus*, *S. typhi*, *E. coli* et *K.pneumoniae* est résumé dans le **Tableau XI**.

**Tableaux XI**: Les diamètres des zones d'inhibition des extraits méthanolique des fruits des cinq variétés d'olivier (Dathier, Sigoise, Chemlal, Rougette, Sévillane).

Les		Zo	Témoins					
Souches	D	Chem	Rgt	Sig	Dath	Sévi	-	+
S.	То	8.35	7.73	14.50	13.28	9.33	DMSO -	<b>Gn</b> 21.28
aureus	1/2	7.08	6.72	6.77	10.07	7.09		
	1/4	6.31	-	6.04	-	9.45		
S .typhi	To	-	-	10.28	6.36	6.93	DMSO -	
	1/2	-	-	7.40	-	-		<b>Gn</b> 20.60
	1/4	-	-	6.31	7.87	-		20.00
E. coli	To	6.72	6.53	6.36	6.87	6.54		
	1/2	6.46	6.18	6.12	6.38	6.20	DMSO	Gn
	1/4	6.27	6.02	-	6.20	6.23	-	16.47
K. pneumo niae	То	6.34	6.55	-	•	6.91	DMSO	a
	1/2	6.64	6.07	-	-	-		<b>Gn</b> 16.30
	1/4	-	7.60	-	-	6.26	_	10.50

Les zones d'inhibition contre les quatre souches bactériennes comparées avec la zone d'inhibition de témoin positif que est l'antibiotique (Gentamicine), possédant un pouvoir inhibiteur très élevé avec 21.28 mm de diamètre contre *S. aureus* ATCC 25923, 20.60 mm contre *S. typhi* ATCC14028 et 16.47 mm contre *E.coli* ATCC 25922, et 16.30 mm contre *K. pneumoniae* ATCC 700603.

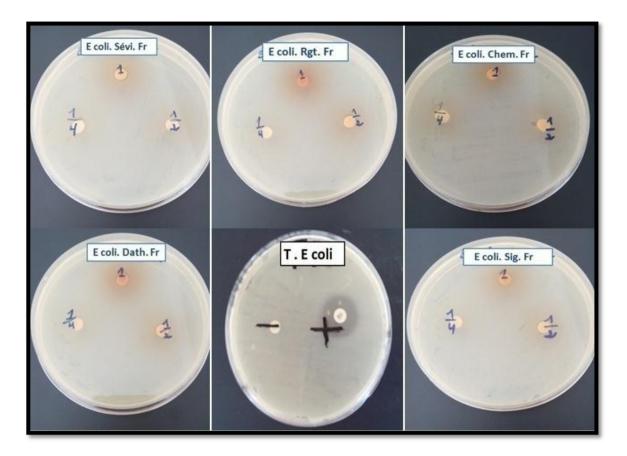
Nous avons remarqué un bon pouvoir antibactérien de la dilution  $T_0$  de l'extrait de Sigoise contre *S. aureus* avec zone d'inhibition de (14.50mm) suivie par la variété Dathier avec un diamètre d'inhibition de (13.28mm) Pour les variétés Sévillane, Chemlal, Rougette, on remarque un pouvoir moins important contre *S. aureus* avec des zones d'inhibition varient entre (9.33;8.35;7.73mm) respectivement, pour les dilutions  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{4}$  des variétés Sigoise, Sévillane, Dathier, Chemlal et Rougette, nous avons remarqué un pouvoir faible avec des zones de (6.77-6.04.mm), (10,07-9.45.mm). (7.09-6mm), (7.08-6.31mm mm), (6.72-6 mm) respectivement. Les zones sont claires dans la figure suivant (**Figure 40**).



**Figure 40** : Action inhibitrice des extraits méthanolique des cinq variétés des fruits d'olivier et le témoin sur la souche *S. aureus*.

Pour la souche *S. aureus* l'analyse de la variance a un critère a révélé un effet très hautement significatif (**Annexe III**).

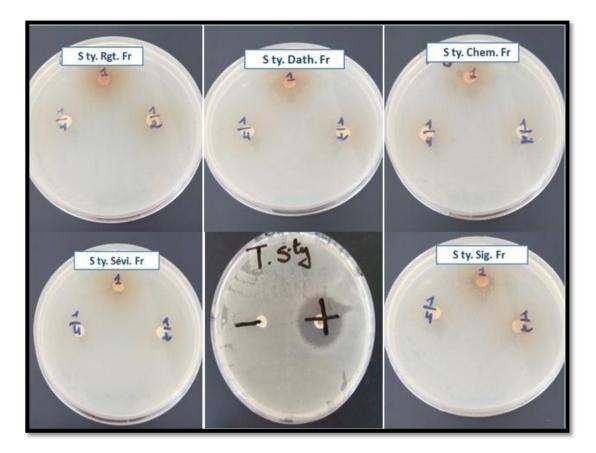
Pour Dathier on a remarqué que les trois dilutions  $T_0$ et ½, ¼ ont un pouvoir antibactérienne contre *E. coli* avec une zone d'inhibition variée entre (6.87-6.38-6.20.mm), Chemlal a montré un pouvoir antibactérien avec les trois dilutions  $T_0$  et ½, ¼ et la zone variée entre (6.72 -6.46-6.27.mm). La Rougette également a montré un pouvoir antibactérien avec la dilution $T_0$  et ½, ¼ et la zone variée entre (6.53-6.18-6.02. mm) et la dilution ½ n'a pas un pouvoir antibactérien. Pour Sigoise on remarque que les deux dilutions  $T_0$  et ½ ont un pouvoir antibactérien avec une zone d'inhibition varie entre (6.36-6.12.mm) et la dilution ¼ n'a pas un pouvoir antibactérien. Et enfin pour Sévillane on remarque que les trois dilutions  $T_0$  et ½, ¼ ont un pouvoir antibactérien avec une zone d'inhibition varie entre (6.54-6.20-6.23.mm) (**Figure41**).



**Figure 41.** Action inhibitrice des extraits méthanolique des cinq variétés des fruits d'olivier et le témoin sur la souche d'*E.coli*.

Pour la souche *E.coli*. L'analyse de la variance a un critère a révélé un effet très hautement significatif entre les extraits des fruits d'olivier (**Annexe III**).

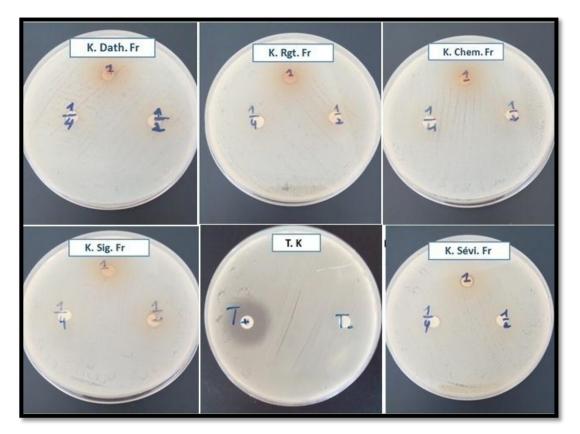
L'activité antibactérienne testée sur *S.typhi* montre un pouvoir antibactérienne important .La dilution T<sub>0</sub> de la variété Sigoise a monté un diamètre de (10,28mm) et de moyen effet antimicrobien avec une zone de (7.40mm) sur la dilution ½ et la dilution ¼ un faible diamètre (6.31mm). Alors que la dilution T<sub>0</sub> de la Sévillane présente le faible pouvoir antibactérien avec un diamètre de (6,93mm) pour la dilution T<sub>0</sub>, ¼ de la variété Dathier donné la zone la moins importante avec un diamètre de (6,36-7.87mm). Les dilutions ½, ¼ de Sévillane et ½ de Dathier et les variétés Chemlal, Rougette n'ont aucun effet antibactérien c'est-à-dire pas de zone d'inhibition avec *S.typhi*. Les différentes zones sont claires dans les figures suivant (**Figure42**).



**Figure42** : Action inhibitrice des extraits méthanolique des fruits des cinq variétés d'olivier et le témoin sur la souche de *S .typhi* 

Pour la souche *S.typhi* l'analyse de la variance a un critère a révélé un effet très hautement significatif entre les extrais de fruits d'olivier (**Annexe III**).

Pour la souche de *K.pneumoniae* les fruits de la variété Rougette ont marqué un pouvoir antibactérien avec une zone d'inhibition variée entre (7.60-6.06-6.55.mm) pour les trois dilutions  $\frac{1}{4}$  et  $\frac{1}{2}$  et  $T_0$ , pour le Sévillane on a remarqué que les dilutions  $T_0$  et  $\frac{1}{4}$  ont un pouvoir antibactérien avec une zone d'inhibition variée entre (6.91-6.26.mm) par contre la dilution  $\frac{1}{2}$  n'a pas un pouvoir antibactérien, la variété de Chemlal a montré un pouvoir antibactérien(63.4-6.64mm) pour  $T_0$  et  $\frac{1}{2}$  et la dilution  $\frac{1}{4}$  n'pas un pouvoir antibactérienne, pour Sigoise et Dathier le pouvoir antibactérien est nul avec les trois dilutions  $T_0$  et  $\frac{1}{2}$  et  $\frac{1}{4}$ . (Figure 43).



**Figure43** : Action inhibitrice des extraits méthanolique des cinq variétés d'olivier et le témoin sur la souche *K.pneumoniae*.

Pour la souche *K.pneumoniae*. L'analyse de la variance a un critère a révélé un effet très hautement significatif entre les extrais de fruits d'olivier (**Annexe III**).

# 1.3.2. L'activité antibactérienne des feuilles

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles des cinq variétés d'olivier, (Dathier, Sigoise Rougette, Chemlal et Sévillane). vis-à-vis des quatre souches pathogènes *S. aureus*, *S.typhi*, *E. coli* et *K.pneumoniae* est résumé dans le (**Tableau X**).

**Tableau X**: Diamètres des zones d'inhibition (en mm) induites par les extraits des feuilles des cinq variétés d'olivier Dathier, Sigoise Rougette, Chemlal et Sévillane), et par l'antibiotique (Gentamicine).

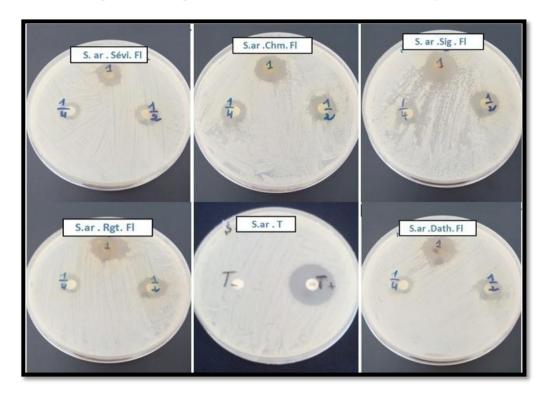
Les		Zones d	Témoins					
souches	D	Chem	Rgt	Sig	Dath	Sévi	-	+
S. aureus	To	15.66	19.59	18.65	17.49	13.28		
	1/2	13.69	12.82	14 .38	12.23	10.07	DMSO -	<b>Gn</b> 21.28
	1/4	12.68	9.49	11.96	8.93	9.45		
S .typhi	To	-	-	10.28	-	1	DMSO	<b>Gn</b> 20.60
	1/2	-	-	7.40	-	-		
	1/4	-	-	6.31	-	•	-	20.00
E. coli	To	-	-	-	-	-	DMSO	Gn
	1/2	-	-	-	-	-	-	16.47
	1/4	-	-	-	-	-		
K. pneumo niae	To	-	-	-	-	6 .46	DMSO	Gn
	1/2	-	-	-	-	6.51		16.30
	1/4	-	•	-	-	6.76	-	

(-) : Aucun effet.

Pour la souche bactérienne *S.aureus* on remarque qu'elle est très sensible aux différents extraits avec toutes les dilutions. la Rougette a le plus forte pouvoir antimicrobien avec une zone de (19.59mm)pour la dilution  $T_0$ , tandis que les dilutions  $\frac{1}{2}$  et  $\frac{1}{4}$  ont donné des zones moins importantes avec les diamètres suivants (12.82 mm, 9.49mm). Par contre la variété Sigoise a montré des zones d'inhibitions moins de ceux de Rougette mais par apport au témoin positif on peut dire que cette variété a un pouvoir très important avec les zones d'inhibitions suivantes (18.65 mm, 14.38mm, 11.96mm) respectivement pour les trois dilutions  $T_0$ ,  $\frac{1}{2}$  et  $\frac{1}{4}$ .

Dathier également a montré une activité antibactérienne importante vis-à-vis cette souche avec des zones (17.49mm, 12.23mm, 8.93mm) respectivement pour les trois dilutions  $T_0$ ,  $\frac{1}{2}$  et  $\frac{1}{4}$ .

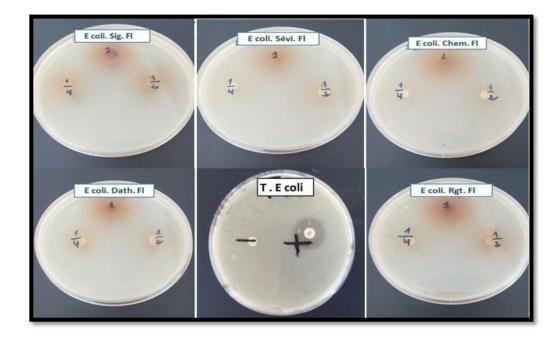
Chemlal et la Sévillane également ont montré une activité antibactérienne vis-à-vis cette souche avec des zones (15.66-13.69-12.68mm) pour Chemlal et (13.28-10.07-9.45) pour Sévillane respectivement pour les trois dilutions  $T_0$  et ½ et¼ (**Figure 44**).



**Figure 44** : Le pouvoir antibactérien des extraits des cinq variétés des feuilles d'olivier et le témoin avec *S. aureus*.

Pour la souche *S.aureus* L'analyse de la variance a un critère a révélé un effet très hautement significatif entre les extrais des feuilles d'olivier (**Annexe III**).

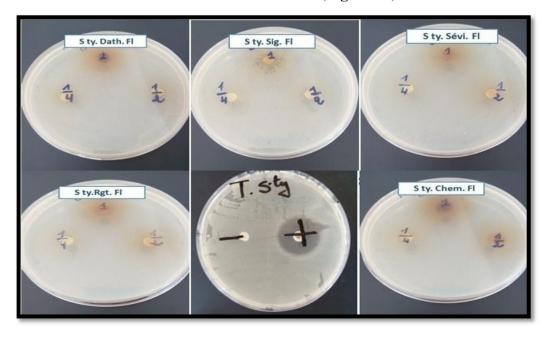
Pour la souche *E.coli* ATCC25922 sont totalement insensibles a tous les extraits méthanolique des feuilles des cinq variétés d'olivier (Chemlal, Dathier, Sévillane, Sigoise et Rougette) avec les trois dilutions T0 et ½ et ¼ (**Figure45**).



**Figure 45**: Le pouvoir antibactérien des extraits des cinq variétés des feuilles d'olivier et le témoin avec *E. coli*.

Pour la souche *E.coli* L'analyse de la variance a un critère a donnée un effet non significatif entre les extrais de feuilles d'olivier (**Annexe III**).

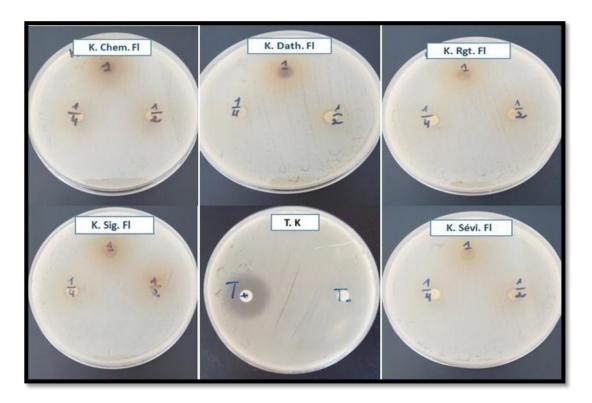
En effet, *S.typhi* emble sensible qu'aux extrais des feuilles de la variété de Sigoise avec des zones d'inhibition de 10,28 mm pour  $T_0$  et 7,40-6,31 mm pour les dilutions½ et ¼, me reste des extraits n'ont aucun effet sur la souche (**Figure 29**).



**Figure 46**: Le pouvoir antibactérien des extraits des cinq variétés des feuilles d'olivier et le témoin avec *S .typhi*.

Pour la souche *S.typhi* L'analyse de la variance a un critère a révélé un effet significatif entre les extrais de feuilles d'olivier (**Annexe III**).

Pour *K.pneumoniae*, l'extrait de la variété Sévillane de trois dilutions T0 et ½ et ¼ possèdent un pouvoir antibactérien faible avec des zones d'inhibition (6,46-6,51-6,76 mm). Tandis que l'extrait feuille des variétés Sigoise, Chemlal, Dathier et Rougette n'ont aucun effet antibactérien c'est-à-dire pas des zones d'inhibition avec *K.pneumoniae*. (**Figure 47**).



**Figure 47**: Le pouvoir antibactérien des extraits méthanolique des feuilles des cinq variétés d'olivier et le témoin avec *K.pneumoniae*.

Pour la souche *K.pneumoniae* L'analyse de la variance a un critère a révélé un effet non significatif entre les extrais des feuilles d'olivier (**Annexe III**).

#### 2. Discussion

#### 2.1. La teneur en polyphénols

Ont été préparés les extraits des fruits et feuilles de cinq variétés d'olivier par macération prolongé (cinq jours) à température ambiante par le méthanol et l'eau distillée.

Les travaux de recherche antérieurs ont signalé que le méthanol et l'eau ainsi que leur mélange à différents ratios, donc le méthanol et le solvant le plus utilisé pour une meilleure extraction des composés phénoliques (Bouzid et al., 2011; Nostro et al., 2000; Igbinosa et al., 2009; Fazal et al., 2011).

Le séchage du matériel végétal est recommandé surtout lorsqu'il est destiné à être conservé pour une certaine période avant utilisation. Ceci, en effet, prévient les dégradations enzymatiques ou par fermentation microbienne des molécules qui s'y trouvent telles que les flavonoïdes et particulièrement les glycosides (Seidel, 2005; Marston et Hostettmann, 2006; Romero, 2004).

Le rendement de l'extraction, exprimé en mg/g par rapport au poids total de la poudre d'*Olea europaea*, montre que le méthanol et l'eau distillée fournissent des proportions plus élevées en polyphénols dans les feuilles chez les variétés, Sigoise, Chemlal, Dathier, Rougette et finalement le Sévillane avec des valeurs de (3520mg/100g, 3440mg/100 g, 3300mg/100 g, 3160mg/100g, 3100mg/100 g) respectivement, par apport aux fruits, les trois variétés possèdent un grand contenu en polyphénols de (3050mg/100 g) chez Chemlal ,Rougette et Sévillane ensuite la variété de Sigoise à une valeur de (2940 mg/100 g) et enfin Dathier (2560 mg/100 g).

Solen **Bouabdallah, 2014** qui a réalisé des dosages quantitatifs des polyphénols totaux sur les extraits. Il révèle que l'extrait hydrométhanolique est plus riche par rapport aux autres extraits avec (599.12 mg/100 g), l'extrait hydoacétonique (500.18 mg/100 g), l'extrait aqueux (333.04 mg/100 g. Une autre étude effectué par (**Salem et Ashok, 2012**) a montré que les extraits éthanoliques plus riche en composés phytochimiques que l'extrait aqueuse et d'autres solvants organiques.

Plusieurs études sont intéressées à la quantification des polyphénols dans les extraits d'olive du nord -ouest (olives Sigoise) dont le contenu varie entre 431,6 et 2288 mg/100g de matière sèche (Benlarbi, 2004). Une étude similaire réalisée par (Bisset, 2011) a montré que trois variétés d'olive de l'Est Algérien (Batna) possèdent un contenu en polyphénols de (1919,29 mg/100g; 2664,88 mg/100g et 2931,86 mg/100g) des variétés Chemlali, Farhi, et Beskri respectivement. Par ailleurs, les variétés d'olive de Grèce et du Portugal sont caractérisées par des teneurs en polyphénols variant dans un intervalle de 82-171mg /100g de pulpe d'olive (Boskou et al., 2006) et de 165,76 mg/Kg de poids frais d'olive (Malheiro et al., 2011) respectivement.

**Faten** *et al.* (2013) ont réalisé des dosages quantitatifs de l'extrait méthanolique des feuilles de l'olivier de deux variétés Chemlali et Nebjmel en Tunisie, ils ont montrés que la teneur en polyphénols total des feuilles de Chemlali (de 219,85 octobre à 464,27 mg/100 g

janvier) est plus riche que la variété de Nebjmel (de 197,60 octobre à 270,53 mg/100 g janvier), que la variation de la teneur en polyphénols semble être liée à la période de prélèvement. Ces résultats sont confirmées aussi par d'autres études réalisés par **Ryan et** *al.*, 1999 ; Benlarbi, 2004).

Certains auteurs ont recherchés les teneurs en polyphénols totaux de l'olivier montrant que les feuilles d'olivier sont plus riche en composés phénoliques bioactifs en comparaison à l'huile d'olive et aux fruits (Caponio et al., 2001 ; Lalas et al, 2011).

La présence des composé phénolique est major dans les feuilles d'olivier par apport à autre organes (Benavente Garcia et al., 2000; Japon-Lujan et al., 2006; Altiok et al., 2008). Ces résultats confirment notre résultat pour les feuilles d'olivier présent un teneur en polyphénols élevé par apport aux fruits.

La teneur en composés phénoliques dans les feuilles d'olivier varie entre 2,8 mg/g de matière sèche (**Altiok et al., 2008**) et 44,3 mg/g de matière sèche (**Boudhrioua et al., 2009**). Elle peut même dépasser les 250 mg/g de matière sèche (**Mylonaki et al., 2008**).

Les polyphénols (PP) représentent 1 à 3 % du poids frais d'olive drupe à maturité (**Boskou** *et al.*, **2006**), présents en quantité variable (entre 1 et 10 g/kg d'olives) dans la pulpe d'olive.

La synthèse de ces différents résultats des teneurs en polyphénols présent une variation, cette variation inter-variétale des polyphénols d'olivier due a l'influence de divers facteurs parmi lesquels la méthode d'extraction choisie, les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée, ainsi qu'à l'origine géographique de la plante (Lee et al., 2003), la variété, les condition climatique (température, exposition au soleil, la sécheresse et la salinité...etc.), le régime d'irrigation (Larrauri et al., 1996; Patumi et al., 2002; Romani, et al., 1999), aussi que le facteur génétique (Morelló et al., 2004) l'organe de la plante utilisé (Natarajan et al., 2005). Ainsi, la variation de teneurs en polyphénols semble être liée à la zone géographique oléicole (Baccouri et al., 2007; Rotondi et al., 2004).

#### 2.2. Screening phytochimique

L'examen phytochimique réalisé sur les fruits et feuilles de cinq variétés d'olivier a montré la présence des composés suivants :les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les triterpènes et stéroïdes, les glycosides, les anthraquinones, les quinones libre et les coumarines.ces résultats et semblable à ceux obtenus par (Bouabdallah,2014; Salem et

Ashok, 2014; Nora *et al.*, 2012; Chaouch, 2001; Kaskoos, 2013; Boudjellal, 2009), ce qui confirme notre résultat pour la présence de ces composés dans nos extraits. Par contre le résultat obtenir par (Gherib, 2015). Solon (Bruneton, 2009) les saponines sont des détergents alors on trouve dans la plante, pour protéger lui-même.

Selon (Andrew, 2001) Les flavonoïdes sont des pigments jaunes ; ce sont des composés phénoliques fréquemment présents sous la forme hétérosidique, hydrosoluble. Ces principes actifs sont des composés polyphénoliques qui sont abondants dans les végétaux et les fruits (Babu et al., 2013), il peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé en raison de leur propriétés anti-oxydantes et leur rôle inhibiteur à divers stades de développement du tumeur, l'apport de flavonoïdes a été inversement associé aux maladie cardiovasculaire (Hollman et al., 1999, Kyungmi et al., 2008), et en plus ils ont un effet anti-diabétique (Babu et al., 2013).

Les tanins sont des polyphénols qui ont un effet antioxydant fondamental en plus de cet effet fondamental les tanins possèdent des propriétés anti-tumorales, antivirales et antibactériennes (**Takuo**, **2005**).

Les composés terpéniques expriment des effets contre les bactéries (Cowan, 1999) et les stérols sont connus à avoir une efficacité à baisser le cholestérol (Shaghaghi et al., 2014).

Les alcaloïdes sont absents dans tous les extraits ces résultats sont similaire a ceux déterminé par (Bouabdallah, 2014; Nora et al., 2012; Gherib, 2015; Boudjellal, 2009; Salem et Ashok, 2014). Tous Ces résultats confirment notre résultat pour l'absence des alcaloïdes dans nos extraits. Par contre l'étude effectuée par (Kaskoos, 2013), qui a déterminé la présence des alcaloïdes. Ces principes actifs sont connus par ses effets toxiques (Bruneton, 2009).

En conclusion, d'après ces résultats montrant la richesse des fruits et feuilles de l'*Olea europaea* L en certains principes bioactifs, on pourrait déduire qu'ils ont des effets bénéfique sur la santé tels que : antibactérienne, antioxydants, anti-tumoral et prévention des maladies cardiovasculaires (mcv).

#### 2.3. Evaluation de l'activité antibactérienne

Au vu de ces résultats (**Tableau XI et X**) .L'action antibactérienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour de disque. Ont remarque que le diamètre de la zone d'inhibition diffère selon la variété d'olivier feuilles ou fruits, la concentration appliquée et le type de bactérie testée.

Les effets antimicrobiens des polyphénols issus de l'olive, et les feuilles de l'olivier ont été le sujet de différentes recherches qui confirment l'effet antimicrobien des polyphénols. Il a été établi que le polyphénols contenues dans l'olive, l'huile d'olive et feuilles d'olivier, empêche ou retarde le taux de croissance d'une gamme de bactéries (Bisignano et al., 1999).

Selon **Cowan 1999**, les polyphénols sont les principaux composés antimicrobiens des plantes possédants des modes d'action divers et des activités inhibitrices et létales visà-vis un nombre important de microorganismes.

L'étude de (**Nora** *et al.*, **2012** ) sur l'activité antibactérienne des feuilles d'olivier sauvage en Algérie, ils ont réalisé deux extraits différences (brute et aqueuse) et les résultats comme suite avec l'extrait brute *E.coli* (15,3mm), *K.pneumoniae* (11,7mm), *P.aerugenosa* (13,3mm), *S.aureus* (9mm), alors que l'extrait aqueuse la zone d'inhibition est de (6,67mm) avec *E.coli*, *K.pneumoniae* (19,03mm), *P.aerugenosa* (25,01mm), *S.aureus* (9,88mm). Nos extraits ont montre une zone d'inhibition moins importante à celle de (**Nora** *et al.*, **2012** ) sauf la souche *S. aureus* cette différence est logique vue que l'oléastre est une plante très riche en polyphénols par rapport au *Olea europaea*.

Néanmoins, il est toujours possible que l'ajout de DMSO à un extrait végétal diminue l'activité intrinsèque de telle manière que dans ce cas le résultat n'a qu'une valeur relative (Balansard, 2007).

Dans autres études effectuées par (**Pereira et al., 2007;Djenane et al., 2012; Sudjana et al., 2008**) ont déterminé que les feuilles d'olivier possèdent une forte activité antibactérienne contre *S. aureus* .Toutefois ils confirment nous résultat pour les feuilles d'olivier présentent une forte activité antibactérienne contre *S. aureus* par apport aux fruits.

Dans des études faites sur les feuilles de l'*Olea europaea*. réalisé par (**Altaf et** *al.*, **2014**; **Salem et Ashok, 2012;Tassou et Nychas, 1994**) ont déterminé les deux souches bactériennes *E.coli* et *S.typhi* sont totalement résistantes dans tous extraits des feuilles et

fruits d'olivier. Ces résultats confirment que nos extrait non efficace contre les souches E.coli et *S.typhi*.

Selon (**Bennis** et **Chami, 2004**), les polyphénols, notamment les tannins et les flavonoïdes comme l'epigallocatéchine, la catéchine, la myricétine, la quercétine, et lalutéoline, sont des substances antibactériennes importantes ; les polyphénols sont en fait capables d'engendrer des dégâts irréversibles au niveau de la membrane.

Solen (**Esmail et al., 2015**) les bactérie à Gram- positif notamment *S. aureus*, a montré une sensibilité légèrement supérieure à l'extrait du *Olea europaea* avec un zone d'inhibition de (23 mm de diamètre) par rapport aux bactéries à Gram-négatif telle que *E.coli* (15mm), *K.pneumoniae* (22mm), *Acinetobacter sp* (20mm) et *P.aeruginosa* (19mm) de diamètre. Ces résultat confirment que nous extrait été efficace contre la souche *S.aureus*.

Nos résultats sont différent avec ceux de (Nora et al., 2012; Ilias et al., 2012; Salem et Ashok, 2012; Altaf et al., 2014) qui sont révélé le pouvoir antibactérienne le plus important et efficace chez les bactéries à gram-négatif.

La Raison de sa sensibilité et résistante des bactéries est la nature de la membrane externe. Les bactéries à Gram-négatif est tournée avec une membrane externe qui se compose des phospholipides, des protéines et des lipopolysaccharide (imperméabilité des solutions lipophiles) qui constituent une barrière sélective de ces solutions (Nikaido et Vaara, 1985). Les bactéries à Gram-positives devraient être plus sensibles car ils présent seulement une couche externe peptidoglycane qui ne constitue pas une barrière de perméabilité efficace (Scherrer et Gerhardt, 1971). Donc l'extrait à des propriétés hydrophiles et il peut pénétrer à l'intérieur des cellules bactériennes. Il pourrait y avoir une autre possibilité que l'extrait peut réussir à inhiber la respiration microbienne et augmenter la perméabilité de la membrane plasmatique, ce qui se traduit par la mort des cellules bactériennes après un contact massif avec l'extrait .Il Peut également se produire en raison de la nature hydrophile de paroi cellulaire des bactéries (Knobloch et al., 1986).

En ce qui concerne la sensibilité des souches vis-à-vis l'antibiotiques (Gentamicine) et le DMSO, (**Tableaux XI. X**) rapporte les valeurs en mm des zones d'inhibitions manifestées par l'antibiotique (Gentamicine) sur les différentes souches étudiées.

La souche de *S.aureus* se révèle la plus sensible pour la Gentamicine, tandis que la souche de *S.typhi* est plus sensible que les souches *E.coli* et *K.pneumoniae*.

Solen les résultats de (Khaleel Ibrahim et Mohammd Mahdi,2014) l'activité antibactérienne de la Gentamicine sur les souches *E.coli*, *P.aeruginosa*, *K. pneumoniae*,

S.aureus sont (12 mm, 14 mm, 13 mm, 16 mm) successivement, ces résultats sont inférieurs nos résultats, par contre les résultats obtenue par (**Boukouissem et Kouira**, **2015**) les zones d'inhibition de la Gentamicine sur les souches *E.coli*, *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae*, *S.aureus* (20mm, 35 mm, 23.5mm21.28 mm) successivement, ces résultats sont supérieure à nos résultats. D'après ces dernières on observe que les différentes souches des bactéries étudiées réagissent différemment à l'antibiotique testé.

# CONCLUSION

#### **Conclusion**

Actuellement, les travaux de recherche menés dans de nombreux laboratoires spécialisés sont focalisés sur l'activité biologique d'olivier. Ceci revient en fait à la richesse de ces dernières en substances naturelles douées des propriétés bioactives importantes capables de fournir une meilleure médication par une thérapie plus douce.

La propriété à laquelle nous sommes intéressées dans ce présent travail concerne le pouvoir antibactérien de l'extrait méthanolique (E/Mét) des cinq variétés d'olivier des feuilles et fruits.

La caractérisation quantitative des extraits des cinq variétés étudiées feuilles et fruits a révélé un contenu riche par les polyphénols surtouts dans les feuilles, Ces résultats indiquent que les fruits et les feuilles d'olivier sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique.

L'analyse qualitative des extraits, réalisée à l'aide de tests phytochimiques, a révélé la présence de plusieurs familles de composés naturelles à savoir les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes et les triterpènes et stéroïdes, les coumarines, les anthraquinones et l'absence des alcaloïdes et les anthocyanes. Ces substances sont généralement responsables de l'activité biologique des extraits.

L'évaluation du pouvoir antibactérien des extraits a été réalisée sur quatre souches bactériennes : *S.aureus, K.pneumoniae, S.typhi*, et *E.coli*) ont exprimé une forte activité contre *S.aureus* surtout la variété de rougette. Les autres souches, à savoir *K.pneumoniae*, *S.typhi* et *E.coli*, ont montré une certaine sensibilité, bien que faible, aux dilutions des extraits méthanolique.

L'olivier (*Olea europaea* L) présente des activités biologiques et thérapeutiques variables selon la nature des substances renfermées. Les mécanismes d'action de ces dernières restent complexes. Il serait donc important, lors des investigations, d'étudier les différentes activités de chaque variété considérée et de mettre en relief les molécules responsables. L'étude *in vitro* est une étape nécessaire mais elle doit être complétée par une autre *in vivo*, identifier les molécules bioactif responsables de cette activité et tester autre souche microbienne pour une meilleure approche concernant ce sujet.

# RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES



# Références bibliographique

- **1-Abaza L, Talorete TP, Yamada P, Kurita Y, Zarrouk M, et** *al.***, 2007.**Induction of Growth Inhibition and Differentiation of Human Leukemia HL-60 Cells by Tunisian Gerboui Olive Leaf Extract. Biosci Biotechnol Biochem 71 .P 1306-1312.
- 2- Abderrazak M et Joël R, 2007. La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. P177.
- **3- Aksamija A, 2012.** Etude chimique des matériaux résineux: oliban, dammar et mastic. Application à des prélèvements artistiques et archéologiques. Thèse de doctorat en chimie. Unv. D'Avignon (France) .P 23.
- 4- Altaf H, Qarshi I.A, Liaqat R, Akhtar S, Irum A, Ikram U et Shinwari Z .K., 2014. Antimicrobial potential of leaf and fruit extracts and oils of wild and cultivated edible olive *Pak. J. Bot.*, 46(4): P1463-1468.
- **5- Altiok E, Baycin D, Bayraktar O, Ulku S., 2008.** Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea L.*) by adsorption on silk fibroin. Sep. Purif. Technol, 62(2), p342-348.
- **6- Ammar M, 1986.** Les cochenilles de l'olivier et leur impact sur la production oleicole dans la region de Sfax. Cas particulier d'*Aspidiotus nerii* Bouche (*Homoptera, Diaspididae*). Memoire de fin d'etude du cycle de spécialisation en oléiculture, I. N. A. T. p94.
- **7- Amouretti M.C et Comet G, 1985.** Le livre de l'olivier. Ed. Edisud la calade, Provence. P173.
- **8- Anonyme, 2006.** L'oléiculture .journé technique sur l'oléiculture. Duplion de la direction des services agricoles de Jijel.
- 9-Anonyme, 2008. L'olivier. Publication du journal l'Index le quotidien. P24.
- **10-Aouidi F, 2012.** Etude et valorisation des feuilles d'olivier (*Olea europaea* L.) dans l'industrie agro alimentaire Thèse de Doctorat Université du Carthage. Ecole doctoraledes sciences de l'ingénieur.9, 11, P 3-4.
- **11-Argenson C, Regis S, Jourdain J.M, Vaysse P., 1999.** L'olivier. Edis .Centre technique interprofessionnel des fruits et légume (Ctifl), Paris, p204.
- **12-Argenson C, Regis S, Jourdain J.M, Vaysse P., 1999.** Oléagineux Corps gras Lipids, **6.** P80-83.

- **13-Argenson C, 2010.** Cinquante ans d'oléiculture bilanes et perspective, Economie N°73 .P15-22.
- **14-Assawh M.Wet Ayat M**, **1985.**On certain diseases of olives trees at Oran area. Premières journées scientifiques des sociétés Algériennes de microbiologie. Institut Pasteur Alger, Algérie, P1-9.
- **15-Astre G.A, 1990.** Symbolisme de l'olivier et humanisme méditerranéen. Revue olivae n° 30 .P 6-7.
- **16-Babu P.V.A, Liu D, Gilbert E.R., 2013.** Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 24:P1777–1789.
- 17-Baccouri B, Zarrouk W, Krichene D, Nouairi I, Ben Youssef N, Daoud D, Zarrouk M., 2007. Influence of fruit ripening and Crop yield on chemical properties of virgin olive oils from seven selected oleasters (*Olea europaea* L.). J. Agro. 6 (3); P 388-396.
- **18-Badiaga M, 2011.** Etude ethnobotanique, phytochimique et activité biologique de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale Africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat en chimie organique. Unv. Bamako (Mali): P13.
- **19-Balansard G, 2007.** Analyse critique des protocoles pharmacologiques utilisés pour la recherche d'extraits et de substances pures d'origine végétale à propriétés Antibactérienne ou antiparasitaire. *Revue ethnopharmacologie*, 42.
- **20-Barranco D et Rallo L, 2005.** Epoces de Floracido y Maduracion. Chap.5. In variedades d'olivo en Espana (Libro II). Junta de Andalucia (MAPA) 2<sup>éme</sup> Ed. Munidi-Prensa / Madrid.
- **21-Bauer A. W, Kirby W. M, Sheris J. C. an Turck M., 1966**. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method." AM. J. Clin. Pathol Vol 45.P493-496.
- 22-Becker M, Picarde J-F, Timbale G., 1983. Les arbres. Ed. Masson, Paris. P141.
- **23-Benavente-Garcia O, Castillo J, Marin F. R, Ortuno A, Del Rio J., 1997.** Uses and properties of Citrus flavonoïds. *Journal of Agricultural & Food Chemistry 45.* P 4505-4515.

- **24-Benavente-GarcíaO**, CastilloJ,Lorente J, Ortuño A, Del Rio J.A., 2000. Antioxidant activity of phenolics from *Olea europaea* L. leaves. Food Chem. 68, p 457–462.
- **25-Benlarbi F, 2004.**Caractérisation des lipides et des phénols de quelques groupes d'oliviers d'Algérie. Mémoire de magister. Laboratoire des sciences fondamentales. Université de Laghouat, p 70-86-88.
- **26-Bennis S.S et Chami F. S, 2004.** Surface alteration of *Saccharomyces cervisiae* induced by thymol and eugenol. *Letters in Applied Microbiology*, 38: p454 458
- **27-Benwqhi K, 2001.** Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante cynodon Dactylon L chiendent, mémoire de magister. Université d'Ouargla. P15 17.
- **28-Berghe V.A et Vlletinck A.J, 1991.** Screening Methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. *Method for Plant Biochemistry*, 6: P 47- 68
- **29-Bergogne-Berezin E et Dellamonica P**, **1995.** Antibiothérapie en pratique clinique. *Ed Masson*, Paris. P486.
- **30-Békro Y.A, Békroj A.M, Bouab.B, Trab F.H and Ehilé E.E., 2007.** Etude ethnobotanique et Screnning phytochimique de *Caesalpinia benthamiana*. (Bai) Herend et Zarucchi (caesalpiniaceae). *Rev. Sci. Nat*, 4 (2): P 217-225.
- **31-Billing J et Sherman P. W, 1998.** Antimicrobial function of spices. *Q Rev Biol.* 73: p3-49.
- **32-Binger H.C, Dali H, Hilaire C.,1999.** Arbre à fruits et a fleurs. Ed .Machette fascicules, Italie .P239.
- **33-Bisignano G, Tomaino A, Lo Cascio R, Crisafi G, Uccella, N, Saija A., 1999.** On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 51: p971-974.
- **34-Bisset S, 2011.** Activités antioxydant et inhibitrice vis-à-vis de l'élastase d'extrait des polyphénols d'olive (*Olea europaea* L.). Mémoire de magister, Université Ferhat Abbas Sétif. P55.
- **35-Boizot N et Charpentier J.P, 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le cahier des Techniques de l'Inra. P79-82.

- **36-Boskou D, Blekas G, Tsimidou M., 2005.** Phenolic compounds in olive oil and olives. *Current Topics in Nutraceutical Research*, **3**(2): 125–136.
- **37- Boskou D, Blekas G, Tsimidou M., 2006.**Olive oil composition.Dans D.Boskou (Ed.), Olive oil, chemistry and technology (2nd edition). *Champaign Illinois: American oil chemists society*, p: 41-72.
- **38-Bottalico A et Corda P, 1995.** *Mycosentrospora cladosporioides* form olive in Sardinia. Plantdisease.p320.
- **39-Bouabdallah A, 2014.** Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier sauvage (*Olea europaea sylvestris*). Mémoire de Master en biochimie appliquée. Université Abou Bekr Belkaïd -Tlemcen- . P48.
- **40- Bouakaz I, 2006.** Etude phytochimique de la plante Genista Microcephala. Mémoire de magister. Université de Batna. P50.
- **41-Boudhrioua N, Bahloul N, Ben Slimen I, Kechaou N., 2009.** Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. Industrial crops and products, 29, p412–419.
- **42-Boukhari R, 2014.** Contribution à l'analyse génétique et caractérisation de quelques variétés d'olivier et l'influence de l'environnement sur leurs rendements au niveau de la wilaya de Tizi-Ouzou .Mémoire de magister Université de Abou Beker Belkaid Tlemcen. p9-15.
- **43-Boukouissem. M et Kouira M, 2015.** Evaluation de l'activité biologique des fruits de quatre variétés d'olivier (*Olea europaea* L.) dans la région de Mila. Mémoire en vue d'obtention de déplome de master en Biologie Appliquée et Environnement. Centre Universitaire Abdelhafide Boussouf-Mila .P 58.
- **44-Bouzid W, Yahia M, Abdeddaim M, Aberkane M.C et Ayachi A., 2011.** Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de *L'Aubepine Monogyne*. Lebanese. *Science Journal*, 12 (1): p59 69.
- **45-Breton C, Besnard G et Bervillé A., 2006a.** Using multiple types of molecular markers to understand olive phylogeography. In: De L'olivier à L'oléastre: Origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le Bassin méditerranéen. Cahiers agricultures vol.15, n°4, juillet -août.

- **46-Breton C, Tersac A et Berville A., 2006 b.** Genetic diversity and gene flowbetween the wild olive (*Oleastre, Olea Europea* .L) and the olive. In: De l'olivier à L'oleastre: Origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le Bassin méditerranéen. Cahiers agricultures vol.15, n°4.
- **47-Bronzini C.V, Maury J, Gambotti C, Breton C, Bervillé A et Giannettini J., 2002.** Mitochondrial DNA variation and RAPD mark oleaster, olive and feral olive from Western and Eastern Mediterranean. Theor Appl Genet. P104.
- 48-Brouillard R, 1986. Bull. Liaison groupe Polyphénols, 13, p76-94.
- **49-Bruneton J, 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 2éme Edition. Lavoisier. Paris, p 274-285.
- **50-Bruneton J, 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 3éme Edition. Lavoisier, Paris, p : 199- 915-388.
- **51-Bruneton J, 2009.** Phamacognosie .phytochimie.Plantes médécinales 4<sup>ème</sup> édition lavoisier .P 810-819-940.
- **52- Caponio F, Gomes T, Pasqualone A., 2001.** Phenolic compounds in virgin olive oils: influence of the degree of olive ripeness on organoleptic characteristics and shelft-life. Eur Food Res Technol, vol 212, p329-333. In Lalas S, Athanasiadis V, Gortzi O, Bounitsi M,Giovanoudis I, Tsaknis J, Bogiatzis F,2011. Enrichment of table olives with polyphenols extracter from olive leaves. Food Chemistry, vol 127, p1521-1525.
- **53-Castaneda-Ovando** A, Pacheco-Hernandez M.d.L, Paez-HernÃ;ndez M.E, Rodriguez J. A et Galan-Vidal C. A., 2009. "Chemical studies of anthocyanins: A review." *Food Chemistry* **113**(4): P859-871.
- **54- Chaouch N, 2001.** Etude des Alcaloïdes dans la coloquinte colocynthis vulgaris (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (wilaya de Ouargla), mémoire de magister; Université de Ouargla. P 44.
- **55-Charles Gauthier, 2006.** Glycosidation de triterpénes penta cycliques de type lupane et évaluation in vitro de leur potentiel anticancéreux .P21.
- **56- Cohen Y et Jacquot C, 2001.** Pharmacologie. 5<sup>ème</sup> Ed. Masson. Paris. p350.

- **57- Conseil oléicole international, 2004.** Indicateur macroéconomique et agricole: l'oléiculture en Algérie. http://www.international oliveoli.org/web/aafrances/corp/Areas Activité/economics/Areas.
- **58- Conseil oléicole international, 2005.** Production mondiale d'olive de table et l'huile d'olive.http://www.internationaloliveoli.org/web/aafrances/corp/AreasActivité/economics/Areas.
- **59- Conseil Oléicole International, 2013.** Répartition géographique de l'olivier dans le monde.http://www.internationaloliveoli.org/web/aafrances/corp/AreasActivité/economics/Areas.
- **60-Cowan M. M, 1999.** Plant products as antimicrobial agent. *Clinical Mirobiology Reviews*, 12 (4): p564 582.
- **61- Cuendet M, (1999).** Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : « *Fagraea blumei* » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : « *Bartsia alpina* » (Scrophulariaceae), « *Loiseleuria procumbens* » (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat. Faculté des sciences de l'Université de Lausanne. p 24.
- **62-Dacosta E, 2003.** Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed).Paris, p317.
- **63- De Rood B. M, 2003.** Franssen M.C; Vander padt, A, boom, R.M. perspectives for the industrial enzymatic production of glycosides. Biotechnology. Pro. p19
- **64-Dutuit P, Pourrat Y, Dodernan V.I., 1991.** Stratégie d'implantation d'un système d'espèces adaptées aux conditions d'aridités du pourtours méditerranéen. Ed.AUPELF-UREF. John Libbey.Paris, P65-73
- **65-Dworkin M. M et Falkow S, 2006.** Proteobacteria, Gamma subclass. Ed. Springer, NewYork, NY.p 248.
- **66- Edrah S et Kumar A, 2014.** Preliminary Phytochemical and Antibacterial Studies of *Olea europaea* and *Polygonum maritimum Libyan* Plants. P 1678-1679.
- 67-Elbir M, Moubarik A, Rakib E. M, Grimi N, Amhoud A, Miguel G, Hanine H, Artaud J, Vanloot P., (2012). Mbarki M. *Maderas Ciencia y Tecnlogia*, 14, P361.
- 68-Esmail A, Chahboun N, Mennane Z, Amiyare R, Abed H, Barrahi M, Qebibo A, Ouhssine M, Berny E. H., 2015. Étude de l'activité antimicrobienne des margines issues

- de Fès Boulman vis-à-vis de souches pathogènes (Study of antimicrobial activity of olive mille waste water (OMWW) from Fez Boulman against some pathogenic strains). 6 (3): P869-876.
- **69- FAO, (2012).** www.fao.org/docrep/x1880f/x1880f03.htm.
- **70-Faten B, Beligh M, Madiha D, Mohamed H., 2013.** Variations in phenolic compounds and antiradical scavenging activity of Olea europaea leaves and fruits extracts collected in two different seasons. Industrial Crops and Products 49; P 256–264.
- **71-Fazal H, Ahmad N, Ullah I. H, Inayat L, Khan and Abbasi B.H., 2011.** Antibacterial potential in *Parthenium hysterophorus, Stevia rebaudiana* and *Ginkgo biloba. Pak. J. Bot.*, 43(2): p1307-1313.
- **72-Fraga Cesar G et Oteiza Patricia I, 2011.** Dietary flavonoids: Role of (–)-epicatechin and related procyanidins in cell signaling. Free Radical Biology & Medicine 51; p813–823.
- **73-Gabriel I, Alleman F, Dufourcq V, Perrin F et Gabarrou J.F., 2013.** Utilisation des huiles essentielles en alimentation des volailles. Hypothèses sur les modes d'action impliqués dans les effets observés. *INRA. Productions Animales*, 26 (1): p 13 24.
- **74- Ghestem A, Seguin E, Paris M, Orecchioni A.M., 2001.** Le préparateur en pharmacie .Dossier 2.Editions TEC & DOC Paris. P275.
- **75- Grati Kamoun N, 2007.** Etude de la diversité génétique de l'olivier en Tunisie Approche pomologique, chimique et moléculaire. Thèse de doctorat en sciences biologique Université de Sfax .P 68-70.
- **76-Hamidi A, 2013.** Etude phytochimique et activité biologique de la plante *Limoniastrum guyonianum*. Diplôme de Magister en chimie organique université kasdi merbah Ouargla. P 63-64.
- 77- Hannachi H, M'sallem M, Benalhadj S, El-Gazzah M., 2007. Influence du site géographique sur les potentialities agronomiques et technologiques de l'olivier (Olea europaea) en Tunisie. *C.R. Biologies* 330, P 135-142.
- **78-Hennebelle T, 2006**. Investigation chimique et chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants. Marrubium peregrinum, Ballota larendana, Ballota Pseudodictamnus (Lamiacées) et Lippia alba (Verbénacées), Thèse de Doctorat, Université des Sciences et Technologique de Lille, Lille 1. France.

- **79- Harborne J.B, 1998.** Phytochimical Methods: A guide to moderne techniques of plant analysis 3e ed: Chapman and hill. P 303.
- **80- Hartmann T, 2007.** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemisty*. P2831 2846.
- **81-Hininger-Favier I, 2011.** Biochimie, les lipides et dérivés ; Partie 4: les composées à caractère lipidique (lipoïde). Josef Fourier (France): P 23.
- **82- Hollman P. C. H et Katan M. B, 1999.** Dietary Flavonoids: Intake, Health Effects and Bioavailability. *Food and Chemical Toxicology*, 37:P937-942.
- **83-Hong X.Y, Wan M, Dong H, But P.P.H et Foo L.Ycap., 2000.** Inhibitory activity of flavonoids and tannins against HIV-1 protease. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 23(9) .P 1072 1076.
- **84- Idrissi A et Ouazani N, 2006.** Apport des descripteurs morphologiques à l'inventaire et à l'identification des variétés d'olivier (*Olea europaea* L), FAO-*Biodiversity*, 136. P 1-10.
- **85-Igbinosa O.O, Igbinosa E.O and Aiyegoro O.A., 2009**. Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). *Afr. J. Pharm. Pharmacol*, *3*(2). P 058-062.
- **86-Ilias F, Kholkhal W, Gaouar N, Bekhechi C, Bekkara F., 2011**. Antibacterial and antifungal Activities of olive (*Olea europaea* L.) from Algeria. J. Microbiol. Biotech.Res., 1(2).P 69-73.
- **87- Japon-Lujan R et Castro L**, **2006**. Superheated liquid extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. Journal of Chromatography A, 1136(2).doi:10.1016/j. croma.09; 081. P185-191.
- 88-Joly B et Reynaud A, 2002. Entérobactéries. Systématique et méthodes de diagnostic.
- **89-Judd W.S, Campbell C.S, Kellogg E.A et Stevens P., 2002.** Botanique Systématique: une perspective phylogénétique; Ed 1: DEBOECK; P 84-336.
- **90-Kalla A, 2012.** Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius, Rantherium adpressum* et *Traganum nudatum*. Thèse de doctorat en phytochimie université de Constantine .P86-87.

- **91-Kaur S.J, Grover I.S and Kumar S., 2000.** Modulatory effects of tannin fraction isolated from Terminaliaarjuna on the genotoxicity of mutagens in *Salmonella typhimurium*. *Food and Chemical Toxicology*, 38(12). P1113 -1119.
- **92-Khaleel Ibrahim R et Mohammd Mahdi N, 2014.** Antimicrobial activity of fig (*Ficus carica* L.) leaf extract as compared with latex extract against selected bacteria and fungi, Journal of Babylon University/Pure and Applied Sciences. P1624.
- **93-Khanbaba K et Ree T.R, 2001.** Tannins: Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry,* **18**:P641-649.
- **94-King A et Young G, 1999.** Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. J. of the American dietetic association, **99**: P213-218
- **95-Knobloch K.H, Weigand N, Weis H, Schwar M, Vigenschow H., 1986.** Action of Terpenoids on energy metabolism. In: *Progress in Essential oil Research: 16th International Symposium on Essential Oils*, Gruyter, D. Eds.; Germany, Berlin, pp. 429-445.
- **96- Kren V, 2001.** Martinkova, L.glycosides in medicine: "the rol of glycoside residue in biological activity". Curr-Med. chem. P 1313-1338.
- 97-Kuroda M, Baba T, Yuzawa H, Cui L, Lian 1. Q et al., 2001. Whole genome sequencing of methicilline-resistant Staphylococcus aureus. The Lancet; 357: 1225-98.
- **98-Kyungmi M et Susan E, 2008.** Flavonoïd effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels. *Food and Chemical Toxicology*, 46:96–104.
- **99-Lalas S, Athanasiadis V, Gortzi O, Bounitsi M, Giovanoudis I, Tsaknis J, Bogiatzis F., 2011.** Enrichement of table olives with polyphénoles extracted from olive leaves .Food Chemistry ,vol ,127,p1521-1525.
- **100-Lamarti A, Badoc A, Deffieux J, Carde J., 1994.** Biogenèse des monoterpènes. Journal de pharmacologie, 13: p69-118.
- **101-Larrauri J. A, Ruperez P, Saura-Calixto F., 1996.** Antioxidant activity of wine pomace. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47(4).P369–372.
- **102- Leclerc H, Gaillard J.L, Simonet M., 1995.** Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Dion Editeurs, Paris.

- **103-Lee K.W, Kim Y.J, Lee H.J et Lee C.Y., 2003.** Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine *.J.Agric. FoodChem*, 51: P 7292 7295
- **104-Livret S, 2011.** Coûtez l'origine d'huiles d'olive d'exception. *13626* aix-en-provence cedex 1. p18.
- **105-Loomis D et Croteau R, 1980.**The biochemistry of plants. Lipids: structure and function. Academic Press, San Francisco, 4: P364-410.
- **106-Loussert R et Brousse G, 1978.** L'olivier « Le technicien d'agriculture tropicale », Paris, G P Maisonneuve et Larose. P 404-435-447-462-465-480.
- **107-Lutge U, Kluge M, Bauer G., 2002.** Botanique 3<sup>ème</sup> Ed: Technique et documentation. Lavoisier .Paris. p 211.
- **108-Macheix J. J, Fleuriet A and Jay-Allemand C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, p 4-5.
- **109-Markham K.R, 1982.** Technics of flavonoïds identification. Edition Academic press (London), p113.
- **110-McCalley D.V, 2002.** Analysis of the Cinchona alkaloids by high-performance liquid chromatography and other separation techniques, Review. *Journal of Chromatography A*, **967:** P 1–19.
- 111-Medjbar M, Bouyoucef A, Benayad T et Zerrouki K., 2008. Caractérisation des salmonelles dans les tueries avicole de la wilaya de Blida. Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie, p: 158-161.
- 112-Mendil M et Sebai A, 2006. L'olivier en Algérie. ITAF, Alger, Algérie, p99.
- **113-Merghem R, 2009.** Elément de biochimie végétale à l'usage des étudiants en pharmacie, en sciences alimentaires et en sciences de la nature et de la vie. Bahaeddine Edition, Algérie, p 107-132.
- **114-Middleton E, Kandaswami C et Theoharides T.C., (2000)**. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol. Rev*, 52(4), P 673-751.

- **115-Milane H, 2004.** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou Mohammedi Z, P 2005.
- **116-Monique Artaud, 2008.** L'olivier sa contribution dans la prévention et le traitement du syndrome métabolique (livre). P 4-6 et p 6.7.
- **117-Morelló J. R, Motilva M. J, Ramo T, Romero M.P., 2003.** Effect of freeze injuries in olive fruit on virgin olive oil composition. *Food Chem.* **81**: P 547-553.
- **118-Moréllo J.R, Vuorela S, Romero M. P, Motilva M.J, Heinonen M., 2005.** Anyioxidant activity of olive pulp and olive oil phenolic compounds of the Arbequina cultivar. J. Agric. Food Chem.53:P 2002-2008.
- **119-Muniz M, 2006.** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs. Thèses de doctorat en chimie. Unv. Joseph Fourier Grenoble: P25.
- **120- Mylonaki S, Kiassos E, Makris D.P, Kefalas P., 2008.** Optimisation of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. Anal. Bioanal. Chem., 392(5), P 977-985.
- **121-Natarajan D, John Britto S, Srinivasan K, Nagamurugan N, Mohanasundari C, Perumal G., 2005.** Anti-bacterial activity of *Euphorbia fusiformis* a rare medicinal herb. *J Ethnopharmacol*, 102, p: 123 126.
- **122-Nicola M et Daniel C, 1998.** Activité technologiques en microbiologiel-Téchniques de base et méthodologie. Editeurs CRDP D'aquitaine Bordeaux, p : 152.
- **123-Nikaido H et Vaara, 1985.** Molecular basic of bacterial outer membrane permeability. *Microbiol. Reviezs*, 1, P 1-32.
- **124-Nora N. B, Hamid K, Snouci M, Boumedien M, Abdellah M., 2012.** Antibacterial Activity and Phytochemical Screening of Olea *Europaea* Leaves from Algeria', The Open Conference Proceedings Journal, 3, (Suppl 1- M11), p. 67-68.
- **125- Nostro A, Germano M.P, Angelo V.D, Marino A and Cannatelli M.A., 2000.** Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Lett. Appl. Microbiol.*, 30: P 379-384.
- **126- Novick P. R, Schevert P et Ruzin A., 2001.** *Pathogenicity and Resistance Islands of Staphylococci, Journal of Microbes and Infections*, 3, P 585-594.

- **127- Ohemeng K.A, Schwender C.F, Fu K.P et Barrett J.F., 1993.** DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones.Bioorg. *Med. Chem. Lett*, 3 (2). P225-30.
- **128- Oloyede OI, 2005.** Chemical profile of Unripe Pulp of Carica papaya. Pak J Nutr; 4. P379 381.
- **129-** Patumi M, d\_Andria R., Marsilio V, Fontanazza G, Morelli G, Lanza B., **2002.**Olive and olive oil quality after intensive monoclone olive growing (*Olea europaea L.,cv. Kalamata*) in different irrigation regimes. *Food Chemistry*, 77, P 27–34.
- **130- Percival S.L, 2004.** Microbiology of waterborne diseases. Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston, P 480.
- 131- Pereira A, Ferreira I, Marcelino F, Valentão P, Andrade P, Seabra R, Estevinho L, Bento A, Pereira J., 2007. Phenolic compound and antimicrobial activity of olive (Olea europaea L. Cv. Cobrançosa) keaves. *Molecules*, 12:P 1153-1162.
- **132- Peronny S, 2005**. La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle . Discipline Eco-Ethologie .p151.
- **133 Ryan D, Robards K, Lavee S., 1999.** Changes in phenolic content of olive during maturation. *International Journal of Food Science and Technology*, 34: p265–274.
- 134 Reginald H, Garrett C, Grisham M., 2000. Biochemie. Tec et Doc, Paris: P 238
- **135-Richeter, Psotova et Remesy C, Manach C, Demigne, Texier O, Regerat F., 1996**. Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Médecine & Nutrition* 32. P 17-27.
- **136 Rojas A, Hernandez L, Pereda-Miranda R, and Mata R., 1992**. Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 35: P 275-283.
- **137- Rojas R, Bustamante B and Bauer J., 2003.** Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. *J. Ethanopharm.*, 88: P199-204.
- 138- Roland B, Lucien B, Jean-Pierre J, 1998. L'olivier. P3-4.
- **139- Romero C, Brenes M, García P, García A, Garrido A., 2004.** Polyphenol changes during fermentation of naturally black olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (7): P 1973-1979.

- **140 Rotondi A et Magli M, 2004 .**Ripening of olives var .Correggiolo: Modification of oxidative stability of oils during fruit repining and oil storage. j. Food. Agic.Env.2:P 193-199.
- **141- Shaghaghi M. A, Harding S.V, Jones P. J. H., 2014.** Water dispersible plant sterol formulation shows improved effect on lipid profile compared to plant sterol esters. Journal of functional foods, 6: P 280 –289.
- **142- Salem E et Ashok K, 2012 .** Preliminary Phytochemical and Antibacterial studies of *olea europaea* and *Polygonum maritimum* Libyan Plants. (IJSR) 2319-7064: 3-358.
- **143- Salm J, 1993.** Traité de pathologie végétale. Les Prés Agronomiques de Gembloux. ASBL, Belgique, P 621.
- **144-Sarni-Manchado P and Cheynier V, 2006.** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec & Doc, Paris, P 2-10.
- **145- Scherrer R et Gerhardt P, 1971.** Molecular seiving by the Bacillium megaterium cell wall and protoplast. *J. Bacteriol.* 107 . P718-735.
- **146- Seidel V, 2005.** Initial and Bulk Extraction. *In*: Sarker S.D., Latif Z. and Gray A.I. Natural products isolation. *Humana Press (Totowa)*. P 27-37.
- **147- Sousa A, Ferreira I. C. F. R, Barros L, Bento A, Pereira A., 2008.** Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives "alcaparras". *Learning with Technologies*, *41*: P739–745.
- **148- Srinivasan V. B, Vaidyanathan V, Mondal A, Rajamohan G., 2012**. Role of the Two Component Signal Transduction SystemCpxAR.
- **149-Stöckigt J, Sheludko Y, Unger M, Gerasimenko I, Warzecha H et Stöckigt D.**, **2002**. High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Review Journal of Chromatography A*, 967 .P 85–113.
- 150- Sudjana A, D'Orazio C, Ryan V, Rasool N, Ng J, Islam N, Riley T, Hammer K., 2008. Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2008, *33*: P 461-463.
- **151- Takuo O, 2005.** Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. Phytochemistry, 66: P 2012–2031.

- **152- Tapiero H, Tew K.D, Nguyen B.G et Mathé G., 2002.** Polyphenol do they play a rôle in the prevention, of the human pathologies, *Biomed.pharmacother*, *56*: p200- 207. (cited in Djemai Zoueglache S., Techniques et documentations. Paris . P 227-494.
- **153-Tassou C.C et Nychas G.J.E, 1994.** Inhibition of Staphylococcus aureus by olive phenolics in broth and in food model system. J. Food Prot. Vol. 57.p: 120-124-132.
- **154-Tawil M.Z, Halak H.A et Abdin M.M., 1991.** Introduction a la lutte contre la Verticiliose de l'olivier. Olivae 39, P36-40.
- 155 Trease E et Evans W.C, 1987. Pharmacognosy Billiaire. Ed. Tindall London. 13: P 61-62.
- **156 -Trease G.E et Evans W.C, 1989.** A textbook of Pharmacognosy (13th edition) Bacilluere Tinal Ltd, London.
- **157 Uccella N, 2001**. Trends Food Sci. Technol. 11,P315–327.
- **158** -Ulanowska K, Majchrzyk A, Moskot M, Jak-bkiewicz-Banecka J. and W\_Âgrzyn G., 2007. Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*; 62: P132-135.
- **159 Vermerris W, 2006.** Phenolic compound biochemistry, Springer, *Dordrecht. ISBN*-10 1- 4020-5163-8 (HB).
- **160 -Villa P, 2003.** La culture de l'olivier (Variétés, différent types de culture- les taillesles engrais- les soins-la récolte et la production d'huile d'olive), Paris, De Vecchi S. A. P95.
- 161-Vivas N, Nonier M.F, Pianet I, Vivas de Gaulejac N, Fouquet E., 2006. Proanthocyanidins from *Quercus petraea* and *Q. robur* heartwood: quantification and structures. *Comptes rendus chimie*, 9. P120-126.
- **162 Wagner H et Bladt S, 1984.** Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas EdSpringer, New-York. P 320.
- **163 -Weissman Z et Lavée S, 1995.** Relation ship of carbohydrat sources and indole-3 butyric acid in olive Cutting. Ed. Australian J.ofplants physiology. 22(5): P 811-816.
- 164 Younsi Y, Meledjem S, Naidja K., 2010. Extraction et évaluation expérimentale in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de quelques plantes médicinales. Mémoire de

fin d'études pour l'obtention du diplôme des Etudes supérieurs en Biologie. Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Université de Jijel, P29.

**165-Zimmer N et Cordesse R, 1996.** Influence des tannins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants Ed INRA Prod Anim, 9 :P167-179.

# AMICAC

### Annexe I: Matériel de laboratoire

Tableau I : le matériel de laboratoire

Les verreries	solvants
- Pipettes	- Méthanol (MeOH)
- Micro pipette	- diméthyl sulfoxyide (DMSO)
- Boites de pétries	- L'eau distillée
- Tubes à visse	- Acide chlorhydrique(HCl)
- Flacons (250 ml)	- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Erlenmeyer	- chloroforme
- Bécher	- Chlorure de fer (FeCl3)
- Spatule	- Hydroxyde l'ammonium (NH4OH)
- Pipettes pasteure	- Acide sulfurique (H2SO4)
- Anse de platine	
- Entonnoir	
- Papier Whatmann	

### Réactifs utilisés

### - Réactif de Wagner

Ce réactif est composé d'un mélange de 1.27 g d'Iode et 2.0 g d'Iodure de potassium dissout dans 75 ml d'eau distillée. Ce mélange est jaugé jusqu'à l'obtention de 100 ml de la solution.

### - Réactif de Liqueur de Fehling

- ✓ **Solution A :** CuSO4, 5H2O 35g puis ajouter H2SO4 5ml et compléter à 1 litre avec de l'eau déminéralisée
- ✓ **Solution B :** Tartrate double de Na et K 200g, les dissoudre dans de la Lessive de soude 375ml, et compléter à 1 litre avec de l'eau déminéralisée.

# > Les Appareillage :







Autoclave

Spectrophotomètre

Etuve







Micro onde

Bac benzène

Plaque chauffante avec Agitation







Rotavapeur

vortex

Bain marie







PH mètre Agitateur Balance de précision



Chambre UV

# Annexe II : Les zones d'inhibition avec 3 répétitions

Tableau. I. Les zones d'inhibition avec 3 répétitions des fruits

Les		Z	ones d'inhibi	tion mm		
Souches	D	Chem	Rgt	Sig	Dath	Sévi
		8.35	7.73	16.90	9.33	7.21
S. aureus	Т0	8.35	7.73	12.40	9.33	7.39
	_	8.35	7.73	14.90	9.33	7.39
s. aureus		7.58	6.72	6.59	7.09	6.92
	1/2	7.58	6.72	6.90	7.09	6.92
		6.58	6.72	6.90	7.04	6.99
		6.31	06	6.04	06	6.30
	1/4	6.31	06	6.04	06	6.30
		6.31	06	6.04	06	6.30
		6	06	10.28	6.36	7.14
	T0	06	06	10.14	6.36	7.14
		06	06	10.42	6.30	6.72
		06	06	7.28	06	06
S .typhi	1/2	06	06	7.42	06	06
		06	06	7.52	06	06
		06	06	6.31	7.87	06
	1/4	06	06	6.55	7.85	06
		06	06	6.04	7.80	06
		6.72	6.50	6.36	6.87	6.54
	T0	6.70	6.53	6.33	6.83	6.52
		6.74	6.49	6.30	6.85	6.50
		6.46	6.18	6.12	6.38	6.20
E. coli	1/2	6.44	6.15	6.12	6.38	6.20
		6.40	6.12	6.10	6.35	6.18
		6.27	6.02	06	6.20	6.23
	1/4	6.25	06	06	6.20	6.25
		6.27	06	06	6.15	6.20

		6.34	6.55	06	06	6.91
	T0	6.34	6.50	06	06	6.89
		6.30	6.53	06	06	6.91
	1/2	6.64	6.07	06	06	06
Klebsiella .p		6.60	06	06	06	06
·P		6.55	06	06	06	06
		06	7.60	06	06	6.26
	1/4	06	7.62	06	06	6.26
		06	7.59	06	06	6.20

Tableau.II.Les zones d'inhibition avec 3 répétitions des feuilles de 5 variétés

Les souches		Zones d'inhibition mm					
	D	Chem	Rgt	Sig	Dath	Sévi	
	T0	15.66	22.41	17.34	15.65	14.70	
S. aureus		15.66	16.01	19.95	17.30	12.42	
		15.66	20.36	17.34	19.54	12.73	
	1/2	13.54	14.42	14.44	12.87	10.07	
		13.54	12.31	14.32	11.24	10	
		13.84	11.73	14.32	12.58	10.07	
	1/4	12.82	9.90	11.45	8.47	9.71	
		13.54	9.07	11.74	9.39	9.18	
		12.82	9.07	11.45	8.47	9.15	
	T0	06	06	9.42	06	06	
S .typhi		06	06	9.40	06	06	
		06	06	10.12	06	06	
	1/2	06	06	6.20	06	06	
		06	06	6.21	06	06	
		06	06	6.1	06	06	
	1/4	06	06	06	06	06	

		06	06	06	06	06
		06	06	06	06	06
	T0	06	06	06	06	06
E. coli		06	06	06	06	06
		06	06	06	06	06
	1/2	06	06	06	06	06
		06	06	06	06	06
		06	06	06	06	06
	1/4	06	06	06	06	06
		06	06	06	06	06
		06	06	06	06	06
Klebsiella.p	T0	06	06	06	06	06
		_	-	-	_	-
		06	06	06	06	06
		06	06	06	06	06
	1/2	06	06	06	06	06
		06	06	06	06	06
		06	06	06	06	06
	1/4	06	06	06	06	6.46
		06	06	06	06	6.51
		06	06	06	06	6.76
1	1		1	l		l

Annexe III : l'analyse statistique de la teneur en polyphénols et de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles et fruits.

### ANOVA à 1 facteur

var

	Somme des	ddl	Moyenne des	F	Signification
	carrés		carrés		
Inter-groupes	16,000	2	8,000	6,857	,010
Intra-groupes	14,000	12	1,167		
Total	30,000	14			

ONEWAY var BY PPFL /MISSING ANALYSIS.

### ANOVA à 1 facteur

var

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
	Carres		Carres		
Inter-groupes	30,000	4	2,50		0.000.
Intra-groupes	,000	10	,000		
Total	30,000	14			

ONEWAY var BY PPFR /MISSING ANALYSIS.

### ANOVA à 1 facteur

		Somme des	ddl	Moyenne	F	Signification
		carrés		des carrés		
	Inter-groupes	88,500	20	4,425	70,800	,000
VAR	Intra-groupes	1,500	24	,063		
	Total	90,000	44			
	Inter-groupes	30,000	20	1,500		
concentr	Intra-groupes	,000	24	,000		.000
	Total	30,000	44			

ONEWAY VAR concentr BY tipyfr /MISSING ANALYSIS.

### A 1 facteur

ANOVA à 1 facteur

		Somme des	ddl	Moyenne	F	Signification
		carrés		des carrés		
	Inter-groupes	53,333	10	5,333	4,945	,000
VAR	Intra-groupes	36,667	34	1,078		
	Total	90,000	44			
	Inter-groupes	15,333	10	1,533	3,555	,003
concentr	Intra-groupes	14,667	34	,431		
	Total	30,000	44			

ONEWAY VAR concentr BY colifr /MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme des	ddl	Moyenne des	F	Signification
		carrés		carrés		
	Inter-groupes	84,000	13	6,462	33,385	,000
VAR	Intra-groupes	6,000	31	,194		
	Total	90,000	44			
	Inter-groupes	28,500	13	2,192	45,308	,000
concentr	Intra-groupes	1,500	31	,048		
	Total	30,000	44			

ONEWAY VAR concentr BY klibfr

ANOVA à 1 facteur

		Somme	ddl	Moyenne	F	Signification
		des carrés		des carrés		
	Inter-groupes	48,375	8	6,047	5,230	,000
VAR	Intra-groupes	41,625	36	1,156		
	Total	90,000	44			
	Inter-groupes	15,375	8	1,922	4,731	,001
concentr	Intra-groupes	14,625	36	,406		
	Total	30,000	44			

ONEWAY VAR concentr BY aufl/MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme	ddl	Moyenne	F	Signification
		des carrés		des carrés		
	Inter-groupes	90,000	31	2,903		
VAR	Intra-groupes	,000	13	,000		0.123
	Total	90,000	44			
	Inter-groupes	29,333	31	,946	18,452	,356
concentr	Intra-groupes	,667	13	,051		
	Total	30,000	44			

ONEWAY VAR concentr BY tipyfl /MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme des	ddl	Moyenne	F	Signification
		carrés		des carrés		
VAR	Inter-groupes	27,692	3	9,231	6,074	0.745
	Intra-groupes	62,308	41	1,520		
	Total	90,000	44			
concentr	Inter-groupes	3,231	3	1,077	1,649	,589
	Intra-groupes	26,769	41	,653		
	Total	30,000	44			

ONEWAY VAR concentr BY colfl /MISSING ANALYSIS.

ANOVA à 1 facteur

		Somme des	ddl	Moyenne	F	Signification
		carrés		des carrés		
VAR	Inter-groupes	45,000	3	15,000	13,667	,000
	Intra-groupes	45,000	41	1,098		
	Total	90,000	44			
concentr	Inter-groupes	6,000	3	2,000	3,417	,026
	Intra-groupes	24,000	41	,585		
	Total	30,000	44			

ONEWAY var BY KPFL /MISSING ANALYSIS.

# RÉSUNÉ

### Résumé

Les extraits naturels des plantes sont doués des propriétés biologiques variables. Le présent travail s'est fixé comme objectif l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles et fruits d'olivier (*Olea europaea* L) de cinq variétés (Chemlal, Dathier, Rougette, Sigoise, Sévillane) obtenus par macération dans le solvant méthanol, le résultat de l'extraction a révélé que les feuilles et les fruits de l'olivier sont riche en polyphénols surtouts les feuilles. L'analyse qualitative réalisé par un screening phytochimique a montré la présence de plusieurs familles de composés naturelles comme les flavonoïdes, les coumarines, les tanins, les glycosides, les saponosides les triterpènes et stéroïdes, et les anthraquinones. Par contre, les tests de recherche, de dérivés des alcaloïdes et des anthocyanes ont été négatifs. Le pouvoir antibactérien des extraits a été réalisé par la méthode de diffusion des disques sur quatre souches bactériennes (*S.aureus, K.pneumoniae, S.typhi* et *E.coli*). Tous les extraits sont révélés inactifs ou ont un effet faible vis-à-vis de *P. aeruginosa, E. coli, Styphi*. Par contre, montré un effet inhibiteur élevé contre *S.aureus*,

Mots clés: Olea europaea L, Polyphénols, Substances bioactives, Extraction, Activité antibactérienne.

### **Abstract**

The natural extracts of plants present various biological activities. The present work aims to evaluate the antibacterial potency the extracts of olive fruit and leaves (*Olea europaea L*) the five varieties (Chemlal, Dathier, Rougette, Sigoise, Sévillane) were extracted by maceration in solvent methanol. The result of extraction demonstrates olive fruits and leaves is rich en polyphénols property the leaves. phytochemical screening and, showed that aerial parts of the studied plant contain several groups of phytochemical compounds such: flavonoids, coumarins, tannins, reducing compounds, anthraquinones, saponins and triterpenes and steroids. An inverse we have note detected alkaloides and anthocyanes in our plant. The antibacterial potency of the extracts was evaluated by the disque diffusion method on four bacterial strains: (*S.aureus K.pneumoniae*, *S.typhi* and *E.coli*). All extracts were inactive or anemic against *K.pneumoniae*, *E. coli*, and *S.typhi*. While the extracts exhibited a high inhibitory effect on *S.aureus*.

Keywords: Olea europaea L, Polyphénols, Bioactive compounds, Extraction, Antibacterial activity.

### ملخص

الكلمات المفتاحية :الزيتون ( Olea europaea ) ، متعددات الفينول، الجزيئات الفعالة، الاستخلاص، النشاط المضاد للبكتيريا.