



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi -Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée



MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Microbiologique Appliquée

Thème :

**Évaluation in Vitro de L'activité Antibactérienne de plante Locale de
Famille Lamiaceae «*Lavandula dentata*»**

Présenté par :

- Ben Hadda Dhouha

- Henine Salima

Devant le jury :

Dr. Bouabida Hayette	Prof	Université de Tébessa	Présidente
Dr. Fenghour Hind	MCA	Université de Tébessa	Promotrice
Dr. Seghir Hanene	MCB	Université de Tébessa	Examinatrice

Année universitaire : 2023/2024





République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi -Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée



MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Microbiologique Appliquée

Thème :

**Évaluation in Vitro de L'activité Antibactérienne de plante Locale de
Famille Lamiaceae « *Lavandula dentata* »**

Présenté par :

- Ben Hadda Dhouha

- Henine Salima

Devant le jury :

Dr. Bouabida Hayette	Prof	Université de Tébessa	Présidente
Dr. Fenghour Hind	MCA	Université de Tébessa	Promotrice
Dr. Seghir Hanene	MCB	Université de Tébessa	Examinatrice

Année universitaire : 2023/2024



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

«وَقُلِ اعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ عَمَلَكُمْ وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ وَسَتُرَدُّونَ إِلَىٰ عَالِمِ

الْغَيْبِ وَالشَّهَادَةِ فَيُنَبِّئُكُمْ بِمَا كُنْتُمْ تَعْمَلُونَ»

سورة التوبة الآية 105

Remerciements



Avant tout propos, nous remercions ALLAH le tout puissant de nous

Avoir donnée la capacité et la volonté jusqu'au bout pour réaliser ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à notre encadrante,

***Dr.Fenghour Hind** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande*

*Rigoureuse scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance
qu'elle*

Nous a accordé et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail.

Nos vifs remerciements à tous les membres de jury pour avoir accepté de

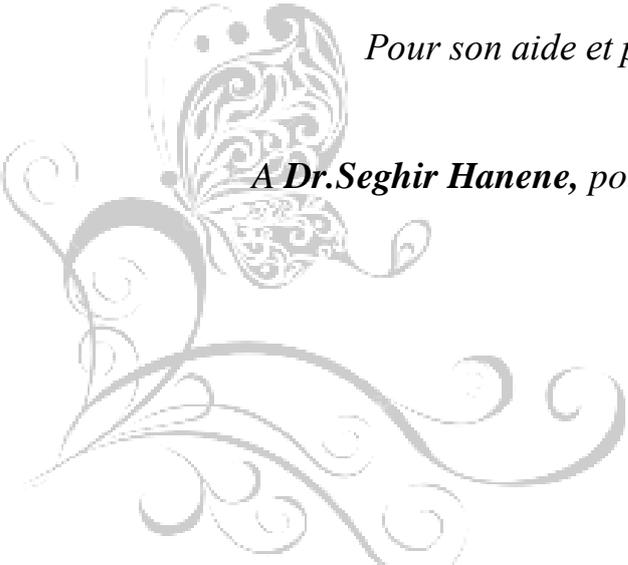
Juger ce travail :

*A **Pr.Bouabida Hayette**, pour l'intérêt qu'elle avait bien voulu porter à ce
travail,*

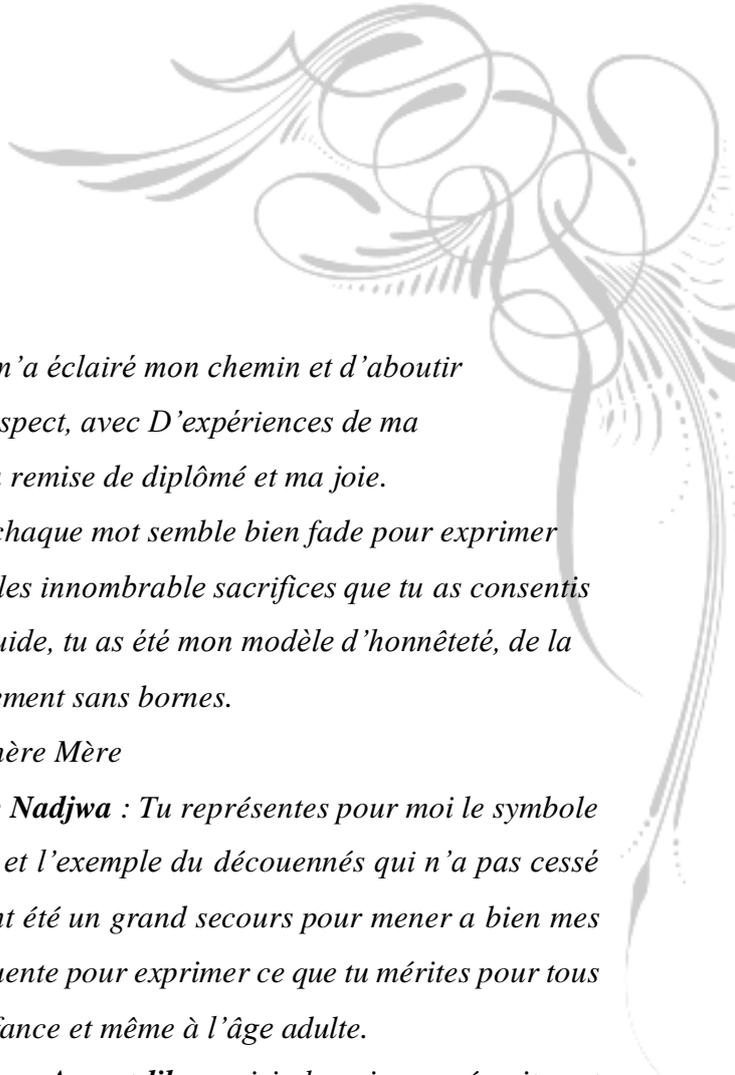
Pour son aide et pour avoir fait l'honneur de présider ce jury.

*A **Dr.Seghir Hanene**, pour accepter d'examiner notre travail et de l'enrichir*

Par ses propositions



Dédicace



Avant tout, je remercie **Allah** qui m'a éclairé mon chemin et d'aboutir
Avec tous mes sentiments de respect, avec D'expériences de ma
Reconnaissance, je dédié ma remise de diplômé et ma joie.

Tout D'abord, à mon père **Nour eddine**, chaque mot semble bien fade pour exprimer
l'amour profond et gratitude infinie que j'ai pour les innombrable sacrifices que tu as consentis
pour mon éducation, Tu as été bien plus qu'un guide, tu as été mon modèle d'honnêteté, de la
créativité et du dévouement sans bornes.

A ma chère Mère

A ma très chère mère, honorable, aimable **Nadjwa** : Tu représentes pour moi le symbole
de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du découennés qui n'a pas cessé
de m'encourager. Ta prière et ta bénédiction m'ont été un grand secours pour mener a bien mes
études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous
les sacrifices depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

A ma chère sœur **Marwa, bouthaina, Aya et lilya** qui je le sais ma réussite est
important à leur yeux, que Dieu vous garde pour moi.

A ma chère nièces **Assil, Ratile, Taouba**, vous êtes le plus beau et le plus
précieux cadeau que ma sœur m'ait offert

A ma personne préférée **Omran**, je me contenterai de toi aujourd'hui, demain et pour toujours.

A mon encadrante « **Dr. Fenghour Hind** » pour sa patience, sa diligence et sa
réactivité lors de la préparation de ce mémoire.

Salima



Dédicace

Tous D'abord, je tiens à remercier « DIEU » le tout puissant de m'avoir donné la foi, la capacité et la patience.

*Ma chère mère, **Chahra** , Tu es mon confort et mon bonheur, Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi, ses Conseils, ses encouragements, espérant ces rêves exempts.*

*Mon cher père, **Omrane** . Merci, qui m'a toujours poussé et motivé durant mes études.*

*Mes chers frère **Abd Errahmene***

*Mes chères sœurs **Nawel ,Ritedj** qui ont toujours été présentes pour moi*

*À Mon encadrante **Dr.Fenghour Hind**, Pour le conseil, la présence, et la patience*

Dhouha



Résumé

Résumé

Résumé :

Lavandula dentata est une plante médicinale appartenant à la famille des Lamiacées, souvent utilisée en médecine traditionnelle pour traiter diverses pathologies. En effet, la valorisation de ressources naturelles est une préoccupation qui devient de plus en plus importante dans notre pays. L'organisation mondiale de la santé recommande l'évaluation de l'efficacité des médicaments à base de plante en vue de standardisation leur usage.

La présente d'étude a pour objectif de réaliser un criblage phytochimique et évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata* de la région de Boulhaf Eddir wilaya de Tébessa. L'extrait hydro-éthanolique a été obtenu par macération à l'éthanol. Le rendement de l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata* a été estimé à 38.57%. Le criblage phytochimique a révélé la présence de certains groupes chimiques notamment les Flavonoïdes, les tanins cachectiques et stéroïdes et l'absence des Saponines, Alcaloïdes, Tanins gallique, Terpènes et des Quinones. L'activité antibactérienne a été déterminée sur quatre souches bactériennes *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S.aureus* et *B.subtilis*, selon la méthode de diffusion des disques. Am résultats ont montré que l'extrait hydro-éthanolique à une activité contre les quatre souches bactériennes, avec une zone d'inhibition de 9.38mm à 14.62 mm L'étude quantitative de l'extrait hydro-éthanolique avec les souches bactériennes testées a montré une variabilité des diamètres des zones d'inhibition exprimés par ce l'extrait vis-à-vis des souches bactériennes testées. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est estimée à 6.25 mg/ml pour *S. aureus* et *B.subtilis* alors qu'elle est 25mg/ml pour *K.pneumoniae* et *E. Coli* .Les valeurs du rapport CMB/CMI, ont montré que l'extrait hydro-éthanolique à une effet bactéricide sur toutes les souches bactériennes testées.

Les résultats trouvés sont prometteuses et permettent de suggérer l'utilisation de l'extrait de *lavandula dentata* dans plusieurs domaines agroalimentaires et pharmaceutiques

Mots clés :

Lavandula dentata, Extrait hydro-éthanolique, criblage phytochimique, activité antibactérienne,

Abstract

Abstract:

Lavandula dentata is a medicinal plant belonging to the *Lamiaceae* family, often used in traditional medicine to treat various pathology. Indeed, the valorization of natural resources is becoming an increasingly important concern in our country. Indeed, the exploitation of natural resources is an increasingly important concern in our country. The World Health Organization recommends that the effectiveness of herbal medicines be assessed in order to standardize their use.

The aim of the present study is to phytochemical screening and to evaluate the antibacterial activity of the hydro-ethanolic extract of *lavandula dentata* from the region of boulhaf eddir state of Tébessa. The hydro-ethanol extract was obtained by maceration with meter and ethanol. The yield of the hydro-ethanol extract of *lavandula dentata* was estimated at 38.57%. The phytochemical screening revealed the presence of certain chemical groups including Flavonoids, chachetic tannins and steroids and the absence of Saponins, Alkaloid's, Gallique Tanins, Térpenes and Quinones. The quantitative study of the hydro-ethanol extract with the tested bacterial strains showed variability in the diameters of the inhibition areas expressed by this extract in relation to the trials tested, The minimum inhibitory concentration (IMC) is estimated at 6.25 mg/ml for *S. aureus* and *B.subtilis* while it is 25 mg/ ml for *K.pneumoniae* and *E.coli*. The values of the CMB/CMI report showed that the hydro-ethanol extract has a bactericidal effect on all bacterial strains tested.

The results found are promising and suggest the use of *lavandula dentata* extract in several agri-food and pharmaceutical fields

Key words:

Lavandula dentata, hydro-ethanolic extract, the phytochemical screening, antibacterial activity

ملخص:

الخرزامة المسننة هو نبات طبي يضم العائلة *Lamiaceae*، ويستخدم غالباً في الطب التقليدي لعلاج مختلف الأمراض. إن الحفاظ على الموارد الطبيعية هو مشكلة تتزايد بشكل متزايد في بلدنا. تركز منظمة الصحة العالمية على تقييم فعالية الأدوية النباتية من أجل قياس استخدامها. الهدف من هذه الدراسة هو إجراء فحص الكيمياء النباتية وتقييم نشاطه المضاد للبكتيريا من مستخلص هيدروإيثانول. من منطقة بولحاف الدير، ولاية تبسة.

تم الحصول على المستخلص الهيدرو-إيثانولي عن طريق النقع في الإيثانول. تم تقدير مردود المستخلص الهيدرو-إيثانولي من الخرزامة المسننة بنسبة 38.57%. كشفت الفحوصات الكيميائية النباتية عن وجود بعض المجموعات الكيميائية، بما في ذلك فلافونانت، التانين المكثف، ستيريويد مع غياب الكينونات، الصابونين، التانين القابل لتحلل، القلويات، التربين

تم تحديد النشاط المضاد للبكتيريا على أربع سلالات بكتيرية هي *S. aureus*، *E. coli*، *K. Pneumoniae*، و *B. Subtilis*، باستخدام طريقة انتشار الأقراص. أظهرت النتائج أن المستخلص الهيدرو-إيثانولي يمتلك نشاطاً قوياً ضد السلالات البكتيرية الأربعة، مع منطقة تثبيط تتراوح بين 9.38 ملم و 14.62 ملم. أظهرت الدراسة الكمية للمستخلص الهيدرو-إيثانولي مع السلالات البكتيرية المختبرة تفاوتاً في أقطار مناطق التثبيط الناتجة عن المستخلص تجاه السلالات البكتيرية المختبرة. تشير النتائج الإيجابية الي استخدام مستخلص الخرزامة المسننة في العديد من المجالات الغذائية والصيدلية

الكلمات المفتاحية:

الخرزامة المسننة، المستخلص الهيدرو-إيثانولي، فحص كيميائي نباتي، نشاط مضاد للبكتيريا.

Liste Des Figures

Liste Des Figures

N°	Figure	Page
1	Morphologie de <i>Lavandula dentata</i>	05
2	Partie aérienne de <i>lavandula dentata</i>	11
3	Cordonnée géographique de la région de récolte	11
4	Macération de l'extrait éthanolique de <i>lavandula dentata</i>	13
5	Filtration de l'extrait hydro_éthanolique de <i>Lavandula dentata</i>	13
6	Évaporation de l'extrait hydro-éthanolique de <i>lavandula dentata</i>	13
7	Repiquages des souches à partir de souche ATCC	18
8	Préparation de solution mère	19
9	préparation de disque	19
10	préparation l'inoculum	20
11	préparation de dilution	21
12	Gélose Muller Hinton stérile coulée dans des boîtes de pétri	21
13	ensemencement par écouvillon sur MH	21
14	Dépôts des disques sur la surface de la gélose	22
15	Imprégnation des disques	22
16	Microplaque	24
17	Distribution de la microplaque pour les quatre souches testées	24

Liste Des Tableaux

Liste Des Tableaux

N°	Tableau	Page
1	Classification	04
2	Souches bactériennes utilisées	17
3	Tableau descriptif des milieux de culture utilisée	18
4	Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition	23
5	Rendement de l'extrait Hydro-éthanolique de « <i>lavandula dentata</i> »	26
6	Comparaison du rendement de l'extrait éthanolique de <i>lavandula dentata</i> avec celui dans différentes région de l'Algérie	26
7	Criblage phytochimique de <i>lavandula dentata</i>	27
8	Aspect microscopique et macroscopique sur milieux des souches bactériennes testées	31
9	Effet antibactérien de l'extrait Hydro-éthanolique de <i>lavandula dentata</i> sur les souches bactériennes testées .	33
10	Détermination de la CMI pour les quatre souches bactériennes testées	35
11	Valeurs des CMI et CMB et rapport caractéristique de l'extrait hydro-éthanolique de <i>lavandula dentata</i>	36

Liste Des abréviations

Liste des abréviations

<i>L. dentata</i>	<i>Lavandula dentata</i>
FeCl ₃	Trichlorure de fer
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
NaCl	Chlorure de sodium.
HCL	Acide Chlorohydrique
Na OH	Hydroxyde de sodium
L'E.H	extrait Hydro-éthanoïque
MH	Muller Hinton
BMH	Bouillon Muller Hinton
CMI	Concentration minimale inhibitrice.
CMB	Concentration minimale bactéricide
DMSO	Dimethylsulfoxyde.
D	Diamètre
GN	Gélose Nutritive.
MH	Muller Hinton
V/V	volume/volume
ml	Millilitres
μL	Micro litre
H	heure
mm	millimètre
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>K.pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Liste Des abréviations

<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>B.subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
G+	Gram positive
G-	Gram négatif

Liste Des Annexes

Liste des Annexes

N°	Annexes
1	Matériel de laboratoire et les appareille et produit utilisées
2	Composition des réactifs utilisés pour le Screening phytochimique de plante
3	technique de Coloration de Gram
4	Préparation de milieu de culture Solide
5	préparation de MC Farland
6	Revivification et repiquages des souches bactériennes
7	Mesure les diamètres des Zones d'inhibitions
8	Évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique de <i>lavandula dentata</i> par méthode d'aromatogramme
9	Les résultats d'activité antibactérienne de différentes dilutions de l'extrait hydro-éthanolique de <i>lavandula dentata</i>
10	Diagramme L'effet antibactérien de L'E.H de <i>Lavandula dentata</i> sur les souches Bactériennes testées

Table des matières

Table des matières

Résumé	
Abstract	
ملخص.....	
Liste Des Figures	I
Liste Des Tableaux	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1

Partie I Synthèse bibliographique

Chapitre I Présentation de la plante « *lavandula dentata* »

I.Présentation de la famille Lamiaceae	3
1.1.Systématique	3
1.2 Classification.....	4
1.3Origine et répartition géographique	4
1.4. Description Botanique de <i>Lavandula dentata</i> :	4
1. 5.Utilisation de <i>lavandula dentata</i> :.....	5
A) Usage Médicinale :.....	5
B) En Cosmétique :	5
1.6 Propriétés de <i>Lavandula dentata</i> :	5

Chapitre II Métabolites secondaires

I. Métabolite secondaire	7
1 Définition de métabolites secondaires	7
1.1 Fonction de métabolisme secondaire	7
2. Les Composées phénoliques	7

Table des matières

3. Les Flavonoïdes	8
4. Les Tanins :	8
4.1 Les tanins hydrolysables	8
4.2 Les Tanins Condensés :	8
5. Les Coumarines :	8
6. Les Alcaloïdes :	9
7. Les Térpenoïdes :	9
8. Les Quinones :	10
9. Les Saponines :	10

Partie II Partie expérimentale

Chapitre I Matériel et Méthode

Objectif du travail :	11
I. Matériel et Méthode :	11
1. Matériel (Annexe 01)	11
1.1. Matériel Végétal :	11
2. Méthode :	11
2.1. Séchage et broyage de plante :	11
II. Etude phytochimique de <i>lavandula dentata</i>	12
1. Préparation de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Lavandula dentata</i>	12
1.1. Macération	12
1.2. Filtration	13
1.3 Evaporation :	13
2. Détermination le Rendement de l'extrait	16
3. Screening phytochimique	16
3.1. Flavonoïdes	16
3.2 Les Saponines	16

Table des matières

3.3 Quinones	16
3.4 Tanins	17
3.5. Les Alcaloïdes	17
3.6. Stéroïdes et Terpènes	17
4. Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique de <i>lavandula dentata</i>	18
4.1. Matériels.....	18
4.1.1. Matériels biologiques	18
4.2. Méthode	18
4.2.1. Revivification et Confirmation de la pureté des souches bactériennes testée	18
4.2.2. Milieux de culture utilisée :	18
4.2.3. Repiquage sur le Milieux sélectifs :	19
4.3. Évaluation de l'activité Antibactérienne de l'extrait Hydro-éthanolique de <i>lavandula dentata</i> par d'aromatogramme	20
4.3.1 Etude quantitative de l'activité antibactérienne de l'extrait Hydro- éthanolique de <i>lavandula dentata</i> aux différentes dilutions.....	21
Ensemencement et dépôt des disques	22
4.3.2. Expressions des résultats	23
4.3.3. Détermination de la CMI de l'extrait hydro-éthanolique de <i>lavandula dentata</i> par la Méthode de microplaque	24
4.3.4. Détermination de la concentration minimale bactéricide CMB	25
Chapitre II Résultats et discussion	26
1. Rendement de l'extrait hydro-éthanolique « <i>lavandula dentata</i> ».....	26
2. Criblage phytochimique :	26
3. Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique de <i>lavandula dentata</i> .	30
3.1 Confirmation de la pureté des souches bactériennes testées.....	30

Table des matières

3.2 Évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique de <i>lavandula dentata</i> par la méthode d'aromatogramme	32
3.3 Etude quantitative de l'extrait Hydro-éthanolique de <i>lavandula dentata</i> aux différentes :	32
3.4 Détermination de la CMI et la CMB de l'extrait hydro-éthanolique de <i>lavandula dentata</i> :	34
3.5 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	36
Conclusion :	38

Références bibliographiques

Annexes



Introduction

Introduction

Introduction

Depuis leur découverte, les antibiotiques ont permis de grandes avancées en thérapeutique et ont contribué à l'essor de la médecine moderne. L'utilisation des premières classes d'antibiotiques en clinique a considérablement réduit la mortalité imputable à des maladies autrefois incurables.

De même, l'efficacité de l'antibiothérapie dans le contrôle de la propagation des agents pathogènes a ainsi fait naître l'espoir de pouvoir éradiquer l'ensemble des maladies infectieuses, Malheureusement l'émergence de bactéries résistantes a mis un terme à cette vague d'optimisme.

La prescription massive et souvent probabiliste de ces molécules a abouti à l'émergence du phénomène d'antibiorésistance. En effet, les antibiotiques administrés à titre curatif ou préventif favorisent l'élimination des bactéries sensibles et sélectionnent les plus résistantes. **(Li et Webster ,2018).**

En devenant insensibles à tout traitement, ces bactéries résistantes limitent la gamme d'antibiotiques disponibles en thérapeutique médicale .la situation est d'autant plus alarmante que les infections causées par ces agents pathogènes entraînent souvent une prolongation de l'état pathologique et un accroissement du taux de mortalité. L'acquisition de ces multiples résistances a engendré une perte d'efficacité de l'antibiothérapie pour conduire finalement à une impasse thérapeutique **(pan et al., 2013).**

Aussi, au vu de la propagation du phénomène de résistance bactérienne et du nombre limité d'antibiotiques en cours de développement, la découverte de nouveaux agents antibactériens, est devenue plus qu'indispensable **(Li et Webster ,2018)**

Les pistes de recherche sont nombreuses mais l'exploration des ressources naturelles apparaît comme des plus prometteuses car celles-ci constituent, de par leur biodiversité, la plus grande réserve de substances actives **(Bouyahya et al., 2017).**

Produites comme métabolites secondaires par les plantes aromatiques, les extraits et les huiles essentielles sont toujours utilisées comme substances aromatisantes et parfumantes en

Parfumerie, industries alimentaire et cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine populaire, en aromathérapie et en industrie alimentaire. Différentes études récentes ont

Introduction

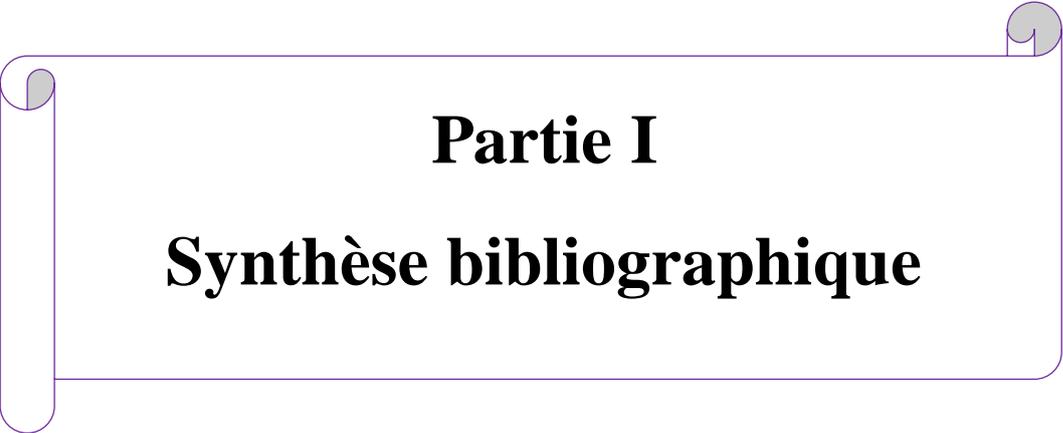
Confirmé, in vitro, l'activité antimicrobienne de certains extraits des plantes aromatiques **(Fenghour et al.,2021)**.

La lavande est une des plantes aromatiques caractéristiques de la flore méditerranéenne notamment l'Algérie, utilisées en médecine traditionnelle comme antispasmodiques, antiseptiques et dans le traitement de certaines infections **(Chebaibi, 2016)**.

Dans le but de continuer à exploiter les plantes poussant en Algérie et réputées pour leurs vertus médicinales, nous avons étudié le pouvoir antibactérien des extraits de *Lavandula dentata*. Ce manuscrit est structuré en deux parties :

1. Une étude bibliographique qui présente un premier chapitre sur la plante étudiée *Lavandula dentata*, un deuxième chapitre sur les métabolites secondaires.
2. Une étude expérimentale portant sur un screening phytochimique après détermination du rendement de la plante et évaluation de l'effet antibactérien d'extrait de *Lavandula dentata* sur des souches bactériennes ATCC.

Enfin les résultats obtenus de l'activité antibactérienne de l'extrait de *Lavandula dentata* sont Interprétés à la lumière de la littérature. Le travail est clôturé par une conclusion et Perspectives.



Partie I
Synthèse bibliographique

Chapitre I

Présentation de la plante « *lavandula dentata* »

I. Présentation de la famille Lamiaceae :

La famille des Lamiacées est communément la famille de la menthe et la famille des plantes à fleurs. (Zeynel et al., 2022).

Historiquement, les espèces de la famille des Lamiaceae ont bénéficié d'importantes plantes ornementales, médicinales et aromatiques, dont beaucoup produisent des huiles essentielles utilisées en médecine traditionnelle et moderne, ainsi que dans l'industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. (Nilufar et al., 2017).

Une partie de cette famille comprend les plantes *Lavandula* connues sous le nom de *lavandes* ou *lavande*, originaires de la région méditerranéenne de l'Europe, généralement cultivées dans les régions montagneuses et les savanes ouvertes du climat tropical et subtropical. (Cienc., 2019).

1. Généralité sur le genre *lavandula*

Lavandula est un genre de la sous-famille des Népétoïdées, qui compte environ 39 espèces, de nombreux hybrides et près de 400 cultivars enregistrés. La majorité des espèces, originaires de la région méditerranéenne, sont très aromatiques et sont utilisées comme expectorant, antispasmodique, désinfectant des plaies, antimicrobien, anti-carcinogène, sédatif, antidépresseur, antioxydant, anti-inflammatoire et insecticide. (Bachiri et al., 2016).

1.1. Systématique

- **Nomenclature** : Selon (Lim., T.K., 2014).
- **Le non scientifique** : *lavandula dentata*
- **Synonymes** : *Stochas dentata* (L) Mill. *Lavandula dentata* var. *Vulgaris* Ging . nom. inval
- **Non English**: French lavender, Fringed Lavender, Gray French Lavender, Lavender, Toothed Lavender
- **Nom Vernaculaire** :
 - **Arabic** : Duzan , Helhal , Lizer
 - **French** : Lavande Anglaise, Lavande Dentée

1.2 Classification :

Tableau 01 : Classification (Berabbeh, 2022).

Régne	Plantae
Embranchement	Tracheophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Lavandula</i>
Espèce	<i>Lavandula dentata</i>

1.3 Origine et répartition géographique :

La majorité des espèces du genre *Lavandula* se trouvent dans les régions méditerranéennes, notamment au nord de la Méditerranée. (Yann, 2010).

Lavandula L. est un genre végétal qui se rencontre en pleine nature dans la région méditerranéenne, de l'Atlantique Nord au Moyen-Orient. Ces plantes herbacées bisannuelles se développent en milieu sec et ensoleillé et se développent dans des sols calcaires ou siliceux. (Miroslav et al., 2023).

1.4. Description Botanique de *Lavandula dentata* :

Lavandula dentata est une variété de lavande qui pousse de 0,60 à 1 mètre dans tous les sens. Son apparence est celle d'un buisson bas lignifié et très ramifié. Feuilles allongées de 2 à 4 cm, oblongues, opposées et d'un vert argenté. Elles se distinguent par des lobes arrondis de petite taille.

Ils sont très faciles à distinguer des autres espèces de lavande grâce à leur marge. Le feuillage a une fragrance très subtile, intermédiaire entre la lavande commune et le romarin. La floraison commence au milieu de l'été et peut se prolonger pendant l'hiver dans les régions les plus arides. Les fleurs violettes sont de petite taille, disposées en épis denses portés par un long pédoncule. On retrouve quelques bractées pétaloïdes plus développées sur les épis. Les fleurs peuvent donner

naissance à deux petites graines noires. Dès le mois d'août, elles se détachent de l'épi. *Lavandula dentata* est une plante mellifère très appréciée des insectes. (Driss, 2019).



Figure 01 : Morphologie de *Lavandula dentata* (Adagaba et al., 2015)

1. 5.Utilisation de *lavandula dentata* :

A) Usage Médicinale :

Lavandula dentata L. est un arbuste de la famille des Lamiacées, couramment employé en médecine traditionnelle pour soigner différentes affections comme le diabète, l'inflammation, les infections microbiennes et d'autres problèmes. (Abdelhakim et al., 2023).

B) En Cosmétique :

L'usage des lavandes en tant qu'agent thérapeutique remonte aux temps anciens des Romains, des Grecs et des Arabes. Les Romains utilisaient les lavandes pour préserver le linge et parfumer les bains. (Ramdane., 2018).

Lavandula dentée est employée pour la lessive et la savonnerie, ainsi que pour la parfumerie. On utilise aussi la lavande en herboristerie, en aromathérapie et elle est une plante médicinale en raison de l'action de son huile. (Bettaieb et al., 2017)

1.6.Propriétés de *Lavandula dentata* :

L'activité biologique de *Lavandula dentata* est très variée, incluant des propriétés relaxantes, antidépressives, anti-inflammatoires, antioxydantes, antibactériennes et antifongiques. (Younes et al., 2022).

Les caractéristiques révélées permettraient d'explorer les différentes approches thérapeutiques pour traiter *L. dentata*. Comme mentionné précédemment, cette plante médicinale renferme une grande variété de composés phytochimiques de diverses familles chimiques, tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes et les terpénoïdes. Effectivement, les composés chimiques de *L.*

dentata présentent de nombreuses propriétés biologiques et pharmacologiques prometteuses. Ces bioactivités incluent des propriétés antibactériennes, antifongiques, antioxydantes, antidiabétiques, anticancéreuses, anti-inflammatoires, et ainsi de suite. Effectivement, même à des concentrations faibles, les huiles essentielles (HE) et les extraits organiques de *L. dentata* inhibent de manière spécifique les enzymes, les récepteurs membranaires ou intracellulaires, les protéines ou les voies de signalisation impliquées dans la formation de ces maladies. (**Abdelhakim et al., 2023**).

Chapitre II

Métabolites secondaires

I. Métabolites secondaires

1 Définition de métabolites secondaires :

Chez les plantes, les voies métaboliques secondaires produisent une diversité de composés appelés métabolites secondaires végétaux (PSM). Les PSM sont spécifiques à une famille ou espèce de plante sont généralement classés en plusieurs grandes familles moléculaires : phénoliques, terpènes, stéroïdes, alcaloïdes et flavonoïdes Les métabolites secondaires sont également appelés produits secondaires, métabolites spécialisés ou produits naturels. (*Zhiqiang et al., 2021*).

1.1 Fonction de métabolisme secondaire :

Les métabolites secondaires jouent plusieurs rôles importants dans les plantes : ils protègent contre les herbivores et les infections microbiennes et agissent comme des signaux pour les bactéries symbiotiques et les mycorhizes, comme attractifs pour les pollinisateurs et les animaux disperseurs de graines, comme agents allélopathiques dans les habitats naturels, comme barrières physiques et chimiques contre les facteurs de stress abiotiques tels que UV et évaporation et régulateurs endogènes des hormones de croissance des plantes. De nombreux métabolites secondaires sont également utiles à l'humanité comme les colorants, les huiles essentielles, les arômes, les pesticides, les produits pharmaceutiques, les agents de bronzage, etc... (*fumihuko et al., 2021*).

2. Les Composées phénoliques :

Les composés phénoliques sont l'une des grandes familles de molécules courantes dans le règne végétal. Ils combinent un Vaste ensemble de substances chimiques avec au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupements hydroxyles. Les propriétés curatives de ces composés sont bien connues.

En effet, leurs propriétés antioxydants garantissent la protection contre plusieurs maladies (cancers, maladies d'Alzheimer, trouble cardiovasculaires...) (*Gug Kabran et al., 2014*).

3. Les Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont un groupe de substances naturelles aux structures phénoliques variables qui se trouvent dans les fruits, les légumes, les céréales, l'écorce, les racines, les tiges, les fleurs, le thé et le vin. (Panache et *al.*, 2016).

Ils ont la capacité de modifier l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, ce qui suggère qu'ils peuvent effectuer une variété d'activités biologiques, notamment des effets importants antioxydants, vasculoprotecteurs, antihépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires, anti-ulcéreux et même antitumorales (Chedira., 2005).

4. Les Tanins :

Les tanins végétaux sont des composés phénoliques solubles dans l'eau avec des poids moléculaires de 500 à 3000.

Ce sont des matériaux naturels qui conviennent à la fabrication de cuir. Les tanins sont divisés en deux catégories :

4.1 Les tanins hydrolysables

Sont constitués d'une molécule glucidique fixée à l'acide gallique ou à un de ses dérivés. Les Angiospermes Dicotylédones présentent des tanins galliques et ellagiques.

4.2 Les Tanins Condensés :

La polymérisation des molécules de flavanes produit des tanins condensés ou des proanthocyanidols.

Le flavane diol 3,4, le flavane ol-3 et le flavane ol-4. Ils sont également appelés tanins « catéchiques (Abdoulaye et *al.*, 2008)

5. Les Coumarines :

Les plantes à coumarines, en particulier celles de la famille Apiaceae, ont la capacité d'aider à éliminer les gaz intestinaux, ce qui réduit les ballonnements et les flatulences. Elles augmentent la production d'acide dans le système digestif.

Contribuant à une désinfection efficace du bol alimentaire. Les coumarines captent les radicaux hydroxyls, superoxydes et peroxydes et empêchent les lipides membranaires de se peroxyder (Mpondo et al., 2015)

6. Les Alcaloïdes :

Environ 20 % de ces substances sont des alcaloïdes, qui sont les principaux composants des métabolites secondaires végétaux. Ils régulent la croissance des plantes et les protègent des prédateurs. Les alcaloïdes sont connus pour leurs propriétés anesthésiques, cardioprotectrices et anti-inflammatoires sur le plan thérapeutique. Malgré leur présence limitée, leur production, extraction et transformation, en particulier dans le domaine de la biotechnologie, restent des domaines de recherche et de développement cruciaux. Pour augmenter la production d'alcaloïdes, la biosynthèse peut être modifiée génétiquement. (Michael et al., 2021).

Les Sous-groupes des alcaloïdes.

Alcaloïdes vrais : Les alcaloïdes vrais contiennent ordinairement un azote hétérocyclique dans leurs structures qui dérivent des acides aminés.

Pseudo- alcaloïdes : Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ce ne sont pas des dérivés des acides aminés.

Proto- alcaloïdes : Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'atome d'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique mais forme plutôt des groupements aminés latéraux. Ils sont biosynthétisés à partir des acides aminés. (Ababsa et al., 2018).

7. Les Terpénoïdes :

Des dizaines de milliers de produits naturels à petites molécules, les terpénoïdes, se trouvent dans tous les domaines de la vie. De loin, la plus grande variété de terpénoïdes.

Est produite par les plantes, qui jouent divers rôles dans le développement et l'écologie chimique (Perma et al., 2019).

Les terpénoïdes appartiennent à la catégorie des métabolites secondaires dans le règne végétal, tout comme les flavonoïdes et les alcaloïdes. Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène : hémiterpènes (C₅) monoterpènes (C₁₀)

Les séquiterpènes (C₁₅), les diterpènes (C₂₀), les sesterpènes (C₂₅), les triterpènes (C₃₀), les tetraterpènes (C₄₀) et les poly terpènes (C₅₀) (Malecky, 2008).

8. Les Quinones :

Les quinones sont une classe de composés qui ont plusieurs effets positifs, à la fois naturels et synthétiques. Les quinones transportent des électrons qui participent à la photosynthèse. Elles sont une classe de molécules qui préviennent et traitent plusieurs maladies, telles que l'ostéoporose et les maladies cardiovasculaires, en tant que vitamines. Les quinones, grâce à leur action antioxydante, améliorent la santé générale. La quinone est un composé de nombreux médicaments contre le cancer qui ont été cliniquement approuvés ou qui sont actuellement en cours d'essais cliniques. En raison, les quinones ont également des effets toxicologiques. (Nahed et al., 2011).

9. Les Saponines :

Les saponines sont des produits végétaux naturels largement répandus qui présentent une grande variété structurelle et fonctionnelle les saponines sont généralement classées en triterpénoïdes, stéroïdes ou glycoalcaloïdes stéroïdiens. Les secteurs pharmaceutique, cosmétique et alimentaire sont intéressés par les activités biologiques des saponines et de leurs intermédiaires biosynthétiques. Leur importance dans les applications industrielles est bien connue depuis longtemps, mais leur rôle dans les plantes n'a pas encore été étudié suffisamment. Des recherches récentes ont montré que la modulation du flux des voies natives joue un rôle important dans la biosynthèse des saponines. (Tessa et al., 2014).

A decorative border resembling a scroll, with a purple outline and grey scroll ends at the top and bottom corners.

Partie II

Partie expérimentale

Chapitre I

Matériel et Méthode

Objectif du travail :

L'ensemble de ce travail a été effectué au sein du laboratoire de microbiologie du département de biologie appliquée de la faculté des sciences exacte et science de la nature et de la vie, de l'université Echahid Chikh Larbi Tébessi-Tébessa- du 12 février jusqu'au 8 mai 2024. Le but de ce travail consiste à réaliser un extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata*, et déterminer le rendement de la plante, faire un screening phyto-chimique de la plante a fin de déterminé les métabolites secondaires et évalué l'activité antibactériennes de cet extrait sur différentes souches cliniques : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, L'évaluation de la CMI et CMB et déterminer le pouvoir bactéricide ou bactériostatique de l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata* Les souches bactériennes testés sont des souches pathogènes ATCC .

I .Matériel et Méthode :

1. Matériel (Annexe 01)

1.1. Matériel Végétal :

Le Matériel végétal utilisée dans cette étude est les feuilles et les fleurs de *Lavandula dentata* les échantillons ont été récoltés en mois de Février dans La région de Boulhaf Eddir (Tébessa).



Figure 02 : Partie aérienne de *lavandula dentata* (Photo personnelles, 2024).

2. Méthode :

2.1. Séchage et broyage de plante :

La plante récoltés est ont été bien séchées à une Température ambiante à l'ombre dans un endroit sec pendant 15 jours puis Broyé en poudre à

L'aide d'un Broyer électrique est puis sont conservées dans des Sacs propres pour éliminer Toutes impuretés puis Transportées au niveau de Laboratoire afin de commencer les

Procédées d'extraction.

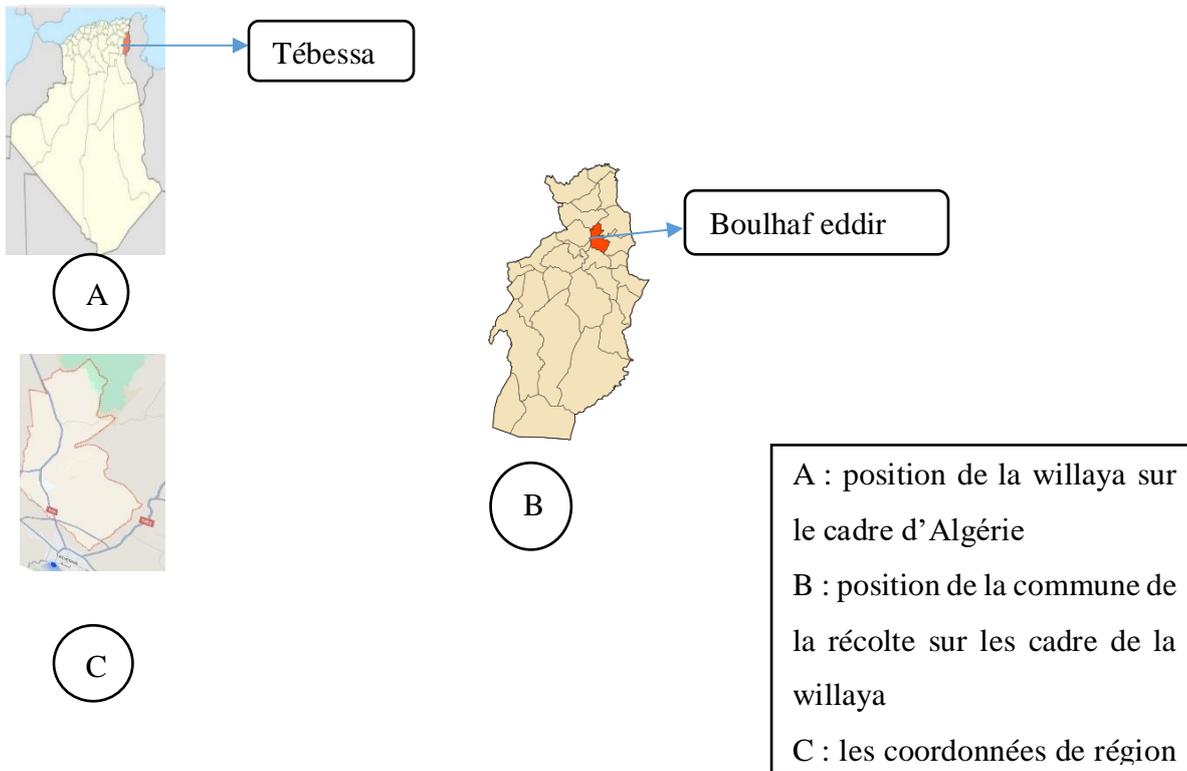


Figure 03 : localisation du site de prélèvement de *lavandula dentata* (Google maps, 2024).

II. Etude phytochimique de *lavandula dentata*

1. Préparation de l'extrait hydro-éthanolique de *Lavandula dentata*

1.1. Macération :

L'extrait Totale est obtenu par la Macération de 70 g de la poudre de *lavandula dentata* Avec 500 ml de solution d'extraction (80/20 v/v éthanol / eau distillée) dans un Bécher enrobé par un papier aluminium puis laissés agitées à l'aide d'un agitateur pendant 40 minutes à Température ambiante



Figure 4 : Macération de l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata*
(Photos Personnelles, 2024).

1.2. Filtration :

Après avoir macéré, la solution de *lavandula dentata* est filtrée au d'un papier filtre. Suite à la filtration, le résidu de la macération initiale a été mélangé avec 500 ml de la solution et agité pendant 24 heures. Après la deuxième macération, la solution de la plante est filtrée à nouveau du papier filtre.



Figure 5 : Filtration de l'extrait hydro-éthanolique de *Lavandula dentata*
(photos personnelles, 2024).

1.3 Evaporation :

Le solvant a été récupéré du filtrat par évaporation dans un rotavapeur, à une température de 45°C (boussahel et al ,2010), Les E.H de *lavandula dentata* concentrés sont placés dans l'étuve à une température de 45 C jusqu'à ce qu'ils se séchent complètement.

Conserver à 4C° jusqu'à l'utilisation



Figure 06 : Evaporation de l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata*
(Photos personnelles, 2024)

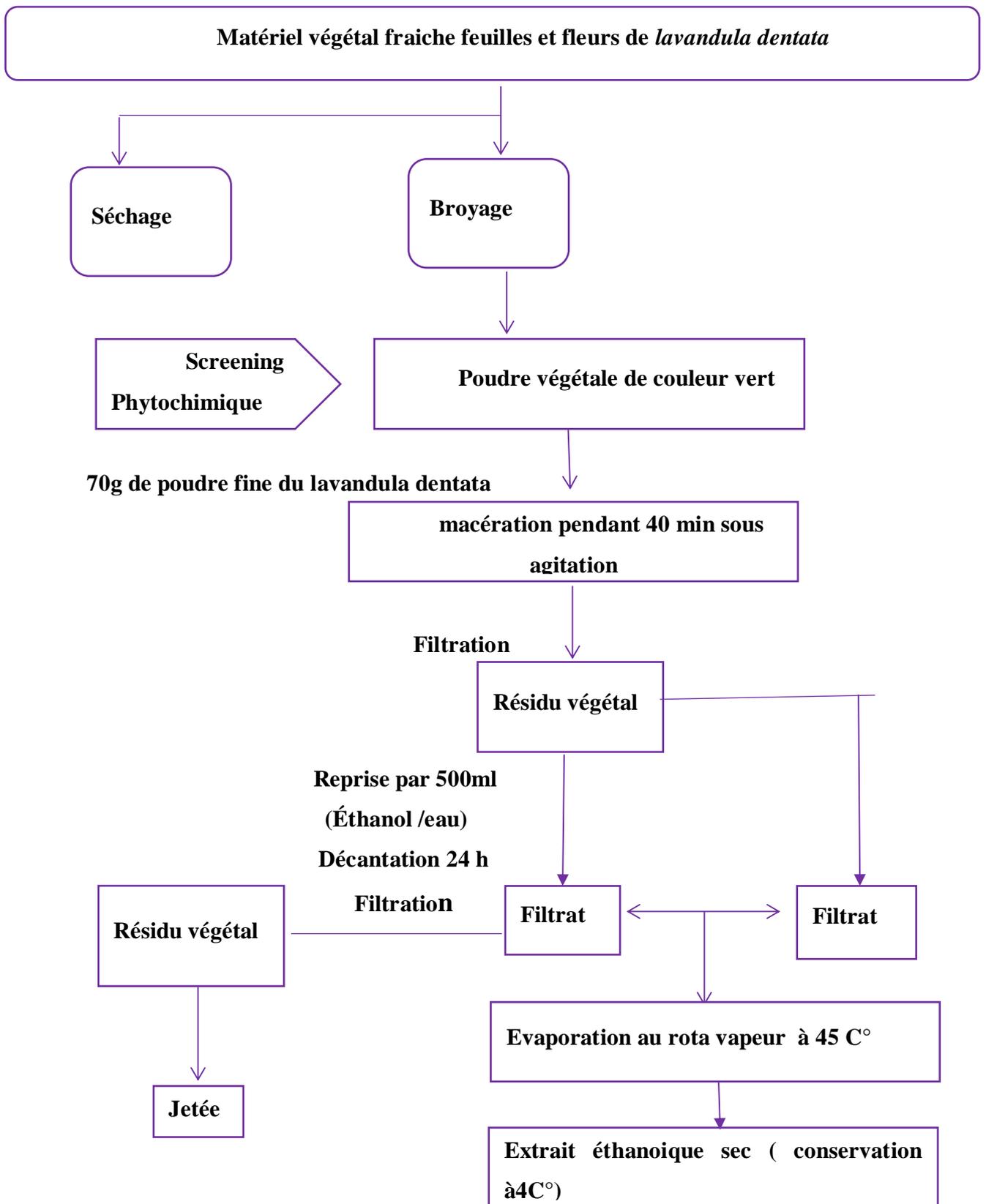


Figure 08 : Diagramme des différentes étapes de préparation de l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata*

2. Détermination le Rendement de l'extrait :

L'efficacité de l'extrait correspond à la proportion de la masse extraite par rapport à la masse du matériau extrait. Il est établi selon la Formule 1 présentée ci-dessous. (Angaman et al., 2020)

$$R\% = P1/P0 \times 100$$

R% : Rendement en pourcentage

P1 : poids sec de l'extrait en gramme

P0 : poids sec de départ en gramme

3. Screening phytochimique :

3.1. Flavonoïdes :

5g de matériel végétal infusées dans 50 mL d'eau distillée bouillante pendant 30min.

. Après refroidissement et filtration, à 5 ml du filtrat on ajoute 5 ml d'alcool Chlorhydrique, 0,50 g environ de copeaux de magnésium et quelques gouttes d'alcool Isoamylique qui rassemble la coloration rose, orangée ou rouge violacé produite lorsqu'il y'a Présence des flavonoïdes (flavonols, flavones, flavanones) (Belmokhtar., 2015).

3.2 Les Saponines :

Test de mousse : 5g de la poudre de matériel végétal a été macéré avec 50mL d'eau distillée pendant 30min. maintient à on laisse Refroidir.

2ml du filtrat sont mis dans un tube à essais puis la solution est fortement Agitée pendant environ 30 secondes puis on laisse reposer quelques secondes. L'apparition D'une mousse indique la présence des saponines.

Pas de mousse = test négatif

Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif

Mousse de 1-2 cm = test positif

Mousse plus de 2 cm = test très positif. (Zakkad, 2017)

3.3 Quinones :

5g de matière végétale avec 10 ml HCL plus 10 ml de éthers de pétrolé pendant 1h. Après filtrer par Papier de filtre.

Nous avons placé 1 ml de l'extrait dans un tube à essai, puis quelques gouttes de NaOH 1/10 ont été ajoutées. La couleur jaune, violette ou rouge de la phase aqueuse indique la présence de quinones. (Naima *et al.*, 2022).

3.4 Tanins :

5 g de poudre végétative sont infusés dans 50 mL d'eau distillée bouillante pendant une durée de 30 minutes. Puis filtré avec papier filtre.

On a réalisé des tanins catéchiques en utilisant le réactif de Stiasny. Suite à l'ajout de 15 ml Le mélange avec 1 ml du réactif de Stiasny a été conservé au bain-marie à une température de 80 °C pendant 30 minutes. Un précipité en gros flocons est une caractéristique des tanins catéchiques. Pour les tanins galliques, une fois que la solution précédente a été filtrée. On a collecté le filtrat et on l'a saturé d'acétate de sodium. Lorsque 3 gouttes de FeCl₃ sont ajoutées, une coloration bleu-noir intense apparaîtra, ce qui indiquera la présence de tanins galliques. (Amine *et al.*, 2015).

3.5. Les Alcaloïdes :

L'utilisation des réactifs de Mayer et de Wagner est une caractéristique des alcaloïdes. On commence par préparer un extrait chloruré à partir de 15 mg d'extrait et de 5 ml d'HCl à 1%, puis on le fait chauffer pendant 5 minutes dans un bain, puis on le filtre sur du papier filtre. Le filtrat est ensuite placé dans deux tubes à essai, où quelques gouttes de réactif de Mayer sont ajoutées dans le premier tube et quelques gouttes de réactif de Wagner dans le deuxième tube. Un précipité blanc jaunâtre (Mayer) et un précipité brun-rouge (Wagner) étaient à l'origine de l'alcaloïde. (Rabie *et al.*, 2018).

3.6. Stéroïdes et Terpènes :

On macère 5 g de poudre dans 20 ml d'éther de pétrole pendant 24 heures. Une fois filtré et évaporé à sec à une température de 90 °C, le résidu est dissout à chaud dans 1 ml d'anhydride acétique, puis recueilli dans un tube à essai où 0,5 ml de H₂SO₄ concentré est coulé. La présence d'une teinte violette qui se transforme en bleu puis en vert témoigne d'une réaction favorable. (Moutari *et al.*, 2018).

4. Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata* :

4.1. Matériels

4.1.1. Matériels biologiques

- Critères de sélection des souches bactériennes testées
- Les Souches Bactériennes testées

Pour mettre en évidence l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique de *Lavandula dentata*, nous avons testé quatre souches bactériennes (ATCC), Ces souches comprenaient deux bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*) et deux bactéries à Gram négatif (*Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*).

Tableau 02 : Souches bactériennes testées.

Famille	Genre et espèce	Gram	Origine
Staphylococcaceae	<i>Staphylocoque aureus</i>	Positif	ATCC 6538
Entérobactéries	<i>Bacillus subtilis</i>	Positif	ATCC 486-1212
Enterobacteriaceae	<i>Escherichia .Coli</i>	Négatif	ATCC 8739
Entérobactéries	<i>Klebseilla.pneumonie</i>	Négatif	ATCC 1311

4.2. Méthode

4.2.1. Revivification et Confirmation de la pureté des souches bactériennes testées :

Chaque souche a subi un pré-enrichissement dans un milieu d'isolement sélectif (**Annexe 06**), suivi faire une coloration de Gram. (**Annexe 03**).

4.2.2. Milieux de culture utilisée :

Les milieux cultures utilisés sont les Suivants : Gélose nutritive (GN), gélose Muller Hinton (MH), Bouillon Nutritif (BN). (**Annexe 04**)

Tableau 03 : Tableau descriptif des milieux de culture utilisée

Milieux de culture	Utilisation
Gélose nutritive (GN)	Repiquage des Colonies
Bouillon Nutritif (BN)	Revivification de souches bactériennes
Muller Hinton (MH)	Réalisation de l'antibiogramme

4.2.3. Repiquage sur le Milieux sélectifs :

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Les colonies isolées ont servi à préparer l'inoculum. (MOROH *et al.*, 2008)



**Figure 07 : Repiquages des souches à partir de souche ATCC
(Photos Personnelles,2024).**

4.3. Évaluation de l'activité Antibactérienne de l'extrait Hydro-éthanolique de *lavandula dentata* par d'aromatogramme

L'activité antibactérienne de l'extrait testé est évaluée à l'aide de la méthode des aromatoigrammes. Le principe de cette méthode repose sur la capacité des extraits à migrer dans un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri. Grâce à elle, il est possible de mettre en lumière l'effet antibactérien de l'extrait sur les bactéries. (Bouguera, 2014).

➤ Préparation de solution Mère

Dans un Bécher stérile on dissolvant 1g de l'E.H *brut* avec 1ml de DMSO, puis déplace dans un Tube stérile pour l'homogénéisation à l'aide d'un vortex

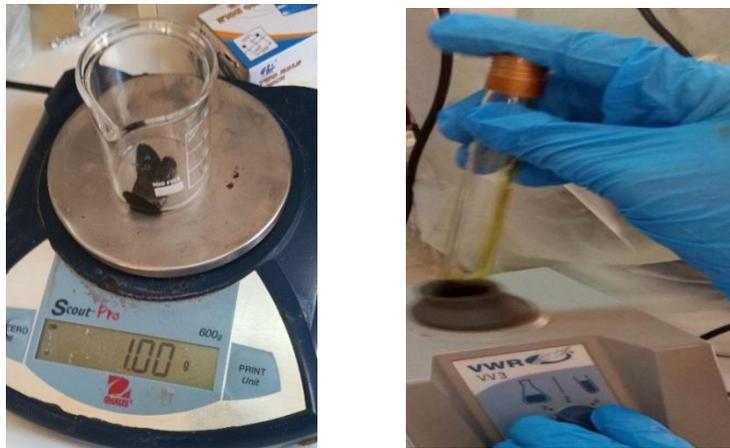


Figure 08 : Préparation de solution mère (photos personnelles, 2024).

➤ Préparation des disques :

Ces disques, fabriqués à partir de papier absorbant, ont un diamètre de 6,5 mm (leysour et al ,2020) puis ils sont placés dans un flacon en verre pour être stérilisés à autoclave pendant 20 minutes à 120 °C pour éviter tous risques de contamination au germe exogène au cours de l'expérimentation.



Figure 09: Etape de préparation des disques (photo personnelle,2024).

➤ Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture bactérienne jeune âgée de 24h (le repiquage de souches bactériennes est mentionné dans (Annexe 06), à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées et mises dans 09 ml d'eau physiologique stérile.

La suspension bactérienne est bien homogénéisée à l'aide du vortex. Cette suspension bactérienne a été réglée à la densité standard de turbidité McFarland de 0,5(Annexe 05) avec un spectrophotomètre. (Parnien et al., 2023) La norme McFarland de 0,5 a été utilisée pour réguler la turbidité de la suspension bactérienne. Cette norme, qui a été établie pour les tests de sensibilité aux antibiotiques, est la norme la plus utilisée dans les laboratoires de microbiologie (Mustafa et al., 2023)



Figure 10 : préparation l'inoculum (Photos personnelles, 2024).

4.3.1 Etude quantitative de l'activité antibactérienne de l'extrait Hydro-éthanolique de *lavandula dentata* aux différentes dilutions

▪ Préparation des dilutions :

Les dilutions a été obtenu à partir de la solution mère préalablement préparé selon la méthode de dilution de deux en deux $1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32$, dans les cinq tubes Eppendorf qui correspondent aux dilution $1/2$ jusqu'à $1/32$, $10\mu\text{L}$ de DMSO et $10\mu\text{L}$ de l'extrait hydro-éthanolique brut ont été déposé dans le premier tube qui correspondent a la dillution $1/2$, les mêmes étapes ont été répétées jusqu'à l'obtention de la dernière solution à dilutions $1/32$.

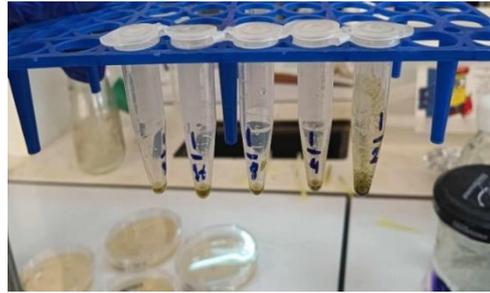


Figure 11 : préparation des dilutions (Photo Personnelle, 2024).

Ensemencement et dépôt des disques :

Les boîtes de pétri stériles, ont été remplies de gélose Muller Hinton (MH) stérile l'épaisseur de gélose doit être impérativement de 4 mm, et laisser solidifier sur une surface froide à une Température ambiante.

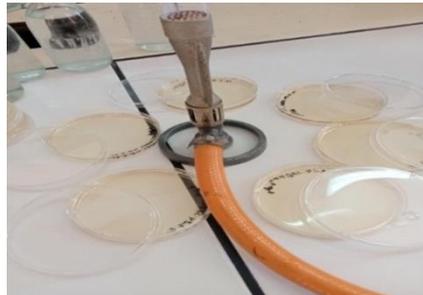


Figure 12 : Gélose Muller Hinton stérile coulée dans des boîtes de pétri (Photo personnelle, 2024).

L'ensemencement par écouvillonnage, se faire par un écouvillon stérile tromper dans la suspension bactérienne des souches testée. Et étalé à la surface de la gélose à quatre reprises sur la totalité de la surface gélosée de façon à former des stries serrées, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application pour obtenir une distribution homogène de l'inoculum.

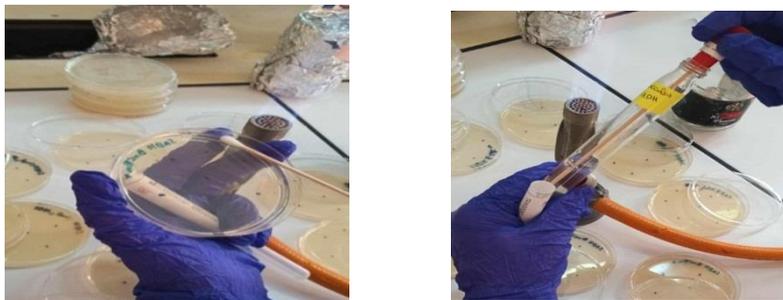


Figure 13 : ensemencement par écouvillon sur MH (Photos Personnelles, 2024)

Sept disques ont été placés à la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile, laissant des espaces suffisants entre eux afin d'éviter le chevauchement des zones d'inhibition

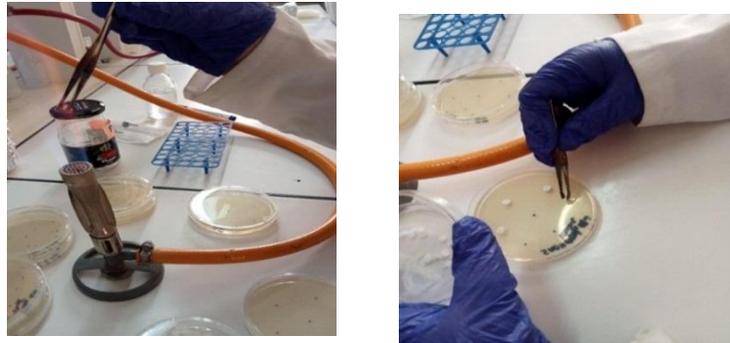


Figure 14 : Dépôts des disques sur la surface de la gélose (Photos personnelles ,2024)

Grâce à une micropipette, cinq disques sont remplis de 10 μ l de chaque dilution, le sixième disque est rempli de 10 μ l de l'extrait hydro-éthanolique et le septième disque est rempli de 10 μ l de DMSO, qui représente le témoin négatif. L'expérience a été répétée deux fois de suite pour chaque souche bactérienne testées

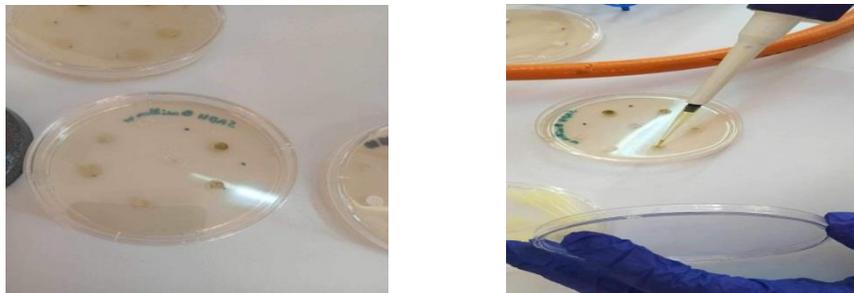


Figure 15 : Imprégnation des disques (photos personnelles ,2024).

Les boîtes sont fermées et laissées incubés à l'étuve à 37 C pendant une durée 24 heures.

Après incubation, a été mesuré la zone d'inhibition, en utilisant un pied à coulisse.

4.3.2. Expressions des résultats

Les résultats expérimentaux sont exprimés par une CMI qui détermine la concentration Minimale inhibitrice (absence de la croissance bactérienne), obtenus par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse en (mm). Et exprimés selon la moyenne des valeurs obtenues \pm l'écart type (SD).

La sensibilité des bactéries envers les différents composés est classée selon les diamètres des halos d'inhibition mentionnée dans le tableau

Tableau 04 : Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition.
(Habib et al., 2019).

Sensibilité	Zone d'inhibition
Insensible	Diamètre < 7 mm
Sensible	Diamètre compris entre 7 à 8 mm
Assez sensible	Diamètre compris entre 8 à 9 mm
Très sensible	Diamètre > 9 mm

4.3.3. Détermination de la CMI de l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata* par la Méthode de microplaque

La détermination des CMI vis-à-vis les souches bactériennes est réalisées par la technique de micro-dilution en milieu liquide de micro-dilution à l'aide de microplaque à 96 puits. La solution mère de l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata* a été préparée en de hors de La microplaque dans le DMSO. Un volume de 100 µL de milieu BMH a été déposé dans tous les Puits de la microplaque. 100 µL de la solution initiale de l'EH de *lavandula dentata*, a été ajouté dans Le premier puits. Après mélange, 100 µL du mélange ont été prélevés et dilués dans le puits Suivant et ainsi de suite de sorte à obtenir une gamme des dilutions de deux en deux. Ensuite, 10 µL de la suspension bactérienne ajustée à 0.5 Mac Ferland ont été ajoutés dans chaque puits, Chaque ligne est réservée pour une seule souche bactérienne, la 6 ème ligne serve pour le contrôle positif contenu à BMH et l'inoculum, alors que la 7 ème ligne serve pour le contrôle négatif (Extrait et BMH). La microplaque a été recouverte et incubée à 37 °C pendant 24 heures.



Figure 16 : Microplaque (Photos personnelles, 2024)

4.3.4. Détermination de la concentration minimale bactéricide CMB

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration de substance qui laisse au plus 0,01% de germes survivants. (TOTY *et al.*, 2013). A été déterminée par ensemencement des contenus de tous les puits après la détermination de la CMI sur milieu gélosé Mueller Hinton et incubés à 37 °C pendant 18 à 24 heures. (Habibe *et al.*, 2019).

Chapitre II

Résultats et discussion

1. Rendement de l'extrait hydro-éthanolique « *lavandula dentata* »

Les valeurs de rendement obtenues sont représentées dans le tableau 05

Tableau 05 : Rendement de l'extrait éthanoïque de « *lavandula dentata* »

Poids de la poudre en gramme (g)	Poids de L'EH sec en gramme (g)	Rendement de L'EH (%)	Couleur de L'EH
70 g	19.05 g	38.57	Vert foncé

Tableau 06 : Comparaison du rendement de l'extrait Hydro-éthanolique de *lavandula dentata* avec celui dans différentes régions de l'Algérie.

Régions	Rendements	Référence
Tébessa	16%	(Gharbi.A.et al., 2023)
Blida	17%	(Essemiani.N, 2014)

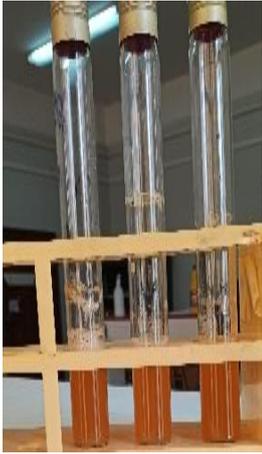
Plusieurs facteurs peuvent expliquer la disparité des rendements des extraits, tels que facteurs génétiques, Culturels et environnementaux que sont le lieu De récolte, l'âge et la partie de la plante récoltée, La période et l'heure de récolte, la méthode de Récolte, le séchage, le stockage, le transport de La matière première. (Salfo et al., 2021).

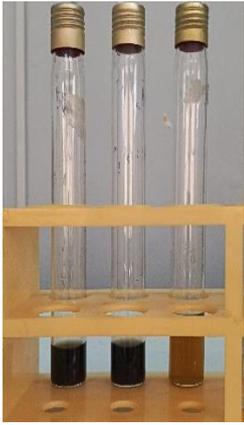
2. Criblage phytochimique :

L'analyse phytochimique réalisée a permis de remarquer la présence des grands groupes Chimiques : Flavonoïdes, tanins catéchiqes, Terpènes et stéroïdes dans l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata*.

Le tableau ci-dessous représentent les différents tests de caractérisation de quelques métabolites secondaires de *lavandula dentata*

Tableau 07 : Criblage phytochimique de *lavandula dentata*

Les composés chimiques	Présence / Absence dans la plante	Couleur ou autre indicateur de présence / absence	Résultats
Flavonoïdes	(+)	Jaune rougeâtre (Flavones)	
Alcaloïdes	(-)	Aucune précipitation blanc ou brun rougeâtre	
Saponines	(-)	Aucune Mousse persistante.	

	Galliques	(-)	Apparition d'une teinte (précipita)Bleu - noire	
tanins	Catéchiques	(+)	Absence de précipita orange	
Quinone	(-)	Absence de couleur rouge au violet		

	(-)		
Terpènes stéroïdes	(+)	Absence de couleur rouge Apparition de couleur vert	

(+) : Présence

(-) : Absence

a) Les Flavonoïdes :

Notre étude montre le virage de la couleur verts en jaune ce qui signifie la présence des flavonoïdes en forte quantité, ce résultat d'analyse Phytochimique s'accordent avec ceux trouvés chez (Farah et *al.*, 2020) de Tlemcen et de (M.M.Dif et *al.* ,2016) de la région de Benisaf forest. Par contre (Abdouni et *al.*, 2017) à marquer une absence totale des flavonoïdes dans la même espèce de plant de Tipaza.

Les flavonoïdes jouent un rôle essentiel dans la protection des plantes contre les invasions microbiennes, ce qui est indéniable. Les iso-flavonoïdes ont démontré leur activité antimicrobienne. (Elise, 2019).

b) Les Alcaloïdes :

Lavandula dentata ne contient pas d'alcaloïdes. Ce résultats est le même obtenue par (ABDOUNI et *a.*, 2017) , de Tipaza et aussi avec les travaux de (Essemiani , 2014) de Blida.

c) Les Saponines :

Le test de saponines est confirmé par l'apparition de mousse plus de 1cm de Hauteur, résultats montrent l'absence de ces composés dans *lavandula dentata*

En effet, Nos résultats ne concorde pas par (Essemiani ,2014) de Blida.

d) Les Quinone :

Ce composant confirmé par le virage de la couleur rouge au violet, le plante étudiée *lavandula dentata* est pauvres à quinone. (Essemiani,N 2014).

e) Tanins :

Pour le test des tanins, le virage de la couleur au vert foncé, ce qui signifie la forte existence des tanins condensés (catéchiques), Nos résultats s'accordent avec (Lamiae et al.,2016) alors que l'apparition d'une précipita bleu noir la présence de tanins galliques Nos résultats ne concorde pas avec (Abdouni et al. ,2017),

f) Terpènes et stéroïdes :

Nos résultats montrent que l'absence des terpènes. Ce qui ne concorde pas avec les travaux de (Lamiae et al., 2016)

Nos résultats montrent l'apparition de couleur vert-foncé, ce qui indiquent la présence des stéroïdes dans les feuilles de *lavandula dentata*. Nos résultats sont en accord avec (lamiae et al., 2016).

3. Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata*

3.1 Confirmation de la pureté des souches bactériennes testées

Les résultats de la vérification de la pureté des souches bactériennes sont présentés dans le tableau 08

Tableau 08 : Aspect microscopique et macroscopique sur milieux des souches bactériennes testées (Photos Personnelles, 2024).

souches bactériennes	Aspect macroscopique sur GN	Aspect microscopique après coloration de Gram
<i>Escherichia coli</i>		
<i>Staphylocoque aureus</i>		
<i>Klebsiella pneumonie</i>		
<i>Bacillus subtilis</i>		

3.2 Évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata* par la méthode d'aromatogramme

La méthode d'aromatogramme a été utilisée pour évaluer le pouvoir antibactérien de l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata*.

Concernant l'extrait hydro-éthanolique pure de *lavandula dentata*, les zones d'inhibition sont observées chez toutes les souches bactériennes testées qui indiquent que l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata* a une activité importante antibactérienne

Concernant, les bactéries à Gram positif *S. aureus* et *B. subtilis* les zones d'inhibitions sont supérieures à 20 mm. Et pour les Gram négatif l'extrait a montré un effet remarquable sur les bactéries *E.coli*, *Klebseilla.pneumoinae*, avec un diamètre d'inhibition varie entre 15 et 19 mm .

De ce fait, les bactéries à Gram + sont extrêmement sensibles, à l'extrait par rapport aux bactéries à Gram –qui sont très sensibles Donc les résultats obtenus montrent que l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata*. Est plus actif sur les bactéries à Gram positifs qu'à Gram négatifs.

Les résultats concorde avec ceux de (Djendi et al., 2023) qui montré que l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata*, Il présente une activité extrêmement efficace sur les bactéries Gram + et au moins modérée sur les Gram – .

Il a été fréquemment rapporté que les bactéries à Gram (+) sont plus sensibles aux extraits de *lavandula dentata* que les Bactéries à Gram (-). (Zined Djemmani ,2021 ; Bouazid 2020).

3.3 Etude quantitative de l'extrait Hydro-éthanolique de *lavandula dentata* aux différentes :

L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de *lavandula dentata* avec les souches bactériennes testées, est mentionné dans le tableau 09

Tableau 9 : Effet antibactérien de l'extrait Hydro-éthanolique de *lavandula dentata* sur les souches bactériennes testées.

		Les différentes dilutions												
	Souches bactériennes	Extrait pure		10mg/ml		5mg/ml		2.5mg/ml		1.25mg/ml		0.625mg/ml		DMSO
G-	<i>E. coli</i>	12 ± 0,34	+	11,05±0,33	+	9,54±0,30	+	9,54± 0,39	+	7.52±0.20	-	7,82±0,28	-	0
	<i>K. pneumoniae</i>	11,525±0,33	+	10,79±0.32	+	9,77±0,31	+	9,77±0,31	+	7,4±0.20	-	7,12±0,28	-	0
G+	<i>S. aureus</i>	12,55± 0.34	+	11,96±0,34		11,56±0,34	+	10,38±0.32	+	9.80± 0.4	+	8,40±0,29	+	0
	<i>B.subtilis</i>	12,485±0,35	+	11,13±0,34		10,26±0,32	+	9,48 ± 0,30	+	9,20±0,30	+	8,10±0,28	+	0

(+) : Sensible, (++) : Très sensible, (+++) : Extrêmement sensible, (-) : Résistance

A la lecture des résultats obtenus dans le tableau 09, nous avons marqué une variabilité des diamètres des zones d'inhibition exprimés par l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata* vis-à-vis des souches bactériennes testées. Ce qui indique que l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata* est doué de propriétés antibactérienne plus ou moins importantes vis-à-vis les bactéries Gram + et à Gram –

Concernant l'extrait hydro-éthanolique pure de *Lavandula dentata*, les diamètres des zones d'inhibition pour *S. aureus* avec un diamètre 12.55 ± 0.34 suivis par *B.subtilis* avec un diamètre 12.48 ± 0.35 , et pour *E.coli* avec un diamètre 12 ± 0.34 et enfin pour *K.pneumoniae* avec un diamètre 11.52 ± 0.32

Pour 10 mg/ de l'extrait hydro-éthanolique *Lavandula dentata* a montré une zone d'inhibition pour *S. aureus* et *B.subtilis* avec un diamètre d'inhibition respectivement 11.96 ± 0.34 , 11.13 ± 0.34 suivis pour *E.coli* avec un diamètre 11.05 ± 0.33 et enfin *K.pneumoniae* 10.79 ± 0.32

Pour 5mg /ml et 2.5 mg /ml de l'extrait hydro-éthanolique de *Lavandula dentata* les valeurs très proches des diamètres des zones d'inhibition varient entre 11.56 ± 0.34 , 10.38 ± 0.32 pour *S. aureus* et pour *B.subtilis* varient entre 10.26 ± 0.32 , 9.48 ± 0.30

Pour la concentration 1.25mg /ml et 0.62 mg /ml les valeurs des diamètres des zones d'inhibition pour *S. aureus*, sont très proches varient entre 9.80 ± 0.40 , 8.40 ± 0.29 et pour *B. subtilis* 9.20 ± 0.30 , 8.10 ± 0.28 et pour *E.coli* avec un diamètre d'inhibition respectivement 7.52 ± 0.20 , 7.82 ± 0.28 et pour *K.pneumoniae* varient entre 7.40 ± 0.20 , 7.12 ± 0.28

3.4 Détermination de la CMI et la CMB de l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata* :

Après 24 heures d'incubation la microplaque nous avons remarqué l'apparition d'un aspect clair dans certains puits, dans certain cas ont observé un trouble indiquant une croissance bactérienne.

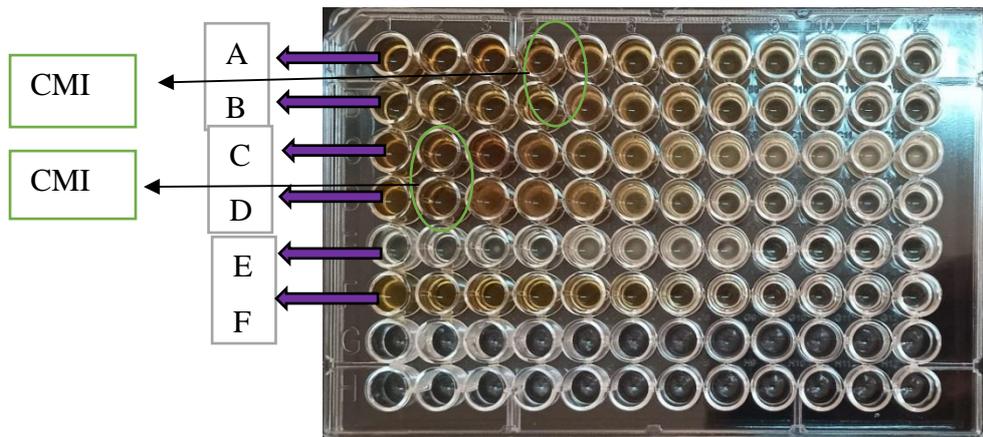


Figure 17 : Distribution de la microplaque pour les quatre souches testées

A : *S.aureus* **B :** *Bacillus subtilis* **C :** *K.pneumoiana* **D :** *E.coli*

E : Contrôle positif (l'inoculum + Bouillon) **F :** Contrôle Négatif (Extrait + Bouillon)

Tableau10 : Détermination de la CMI pour les quatre souches bactériennes testées

La plante	Les souches	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.195	0.097	TN	TP
<i>Lavandula dentata</i>	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
					CMI								
	<i>B. subtilis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
					CMI								
	<i>K.pneumoniae</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
			CMI										
	<i>E. coli</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
			CMI										

TN : Témoin positif

- : inhibition

TP: Témoin négatif

+ : croissance

Concernant les bactéries à Gram + (*S. aureus* et *B.subtilis*) testées, la CMI déterminé est égale 6.25 mg /ml. Nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par (Sheila et al., 2012) qui a montré une CMI égale à 1.25 mg /ml

Alors que, *E.coli* et *K.pneumoniae* la CMI est égale à 25 mg /ml par (Bachiri et al., 2016) est inférieur à nos résultats .

3.5 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

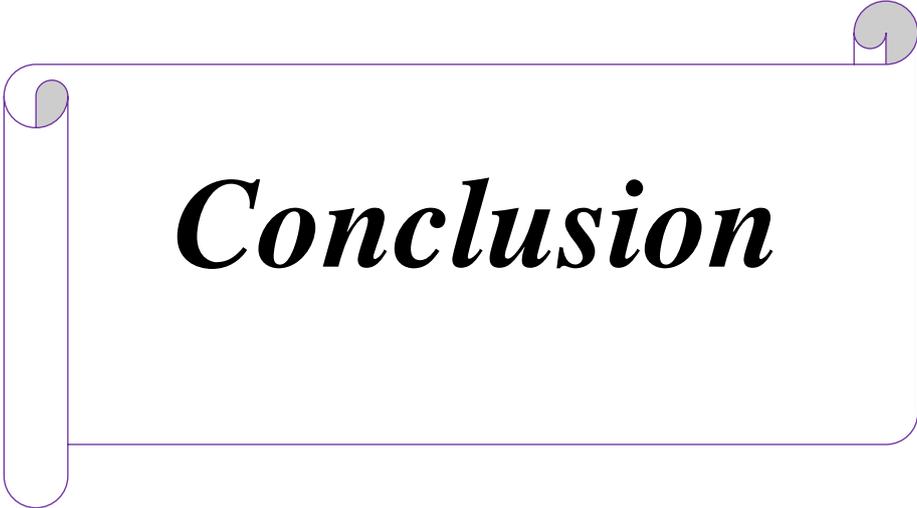
Sur la base de ces résultats, nous pouvons définir le caractère de l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata* à partir du rapport CMB/CMI

Selon Sanogo et al., (2016) Le rapport CMB/CMI a permis de préciser la modalité d'action de la substance, l'extrait est bactéricide quand sa CMB est égale à sa CMI ou si le rapport CMB/CMI est inférieur ou égal à 4. Il est dit bactériostatique quand sa CMB est supérieure à sa CMI ou si le rapport CMB/CMI est plus élevé que 4. Lorsque ce rapport est égal à 32, la souche est dite tolérante.

Tableau 11 : Valeurs des CMI et CMB et rapport caractéristique de l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata*

Les souches bactériennes	CMI mg/ml	CMB mg/ml	Rapport CMB/CMI	Pouvoir antibactérien
<i>S. aureus</i>	6.25	6.25	1	Bactéricide
<i>B. subtilis</i>	6.26	6.25	1	Bactéricide
<i>K. pneumoniae</i>	25	25	1	Bactéricide
<i>E. Coli</i>	25	25	1	Bactéricide

Les résultats montrent que l'extrait éthanolique du *Lavandula dentata* a exercé un effet bactéricide (rapport CMB /CMI=1) vis-à-vis de toutes les souches bactériennes testées. Nos résultats s'accordent avec (Bachiri et al., 2016). Par contre (Chahboun et al., 2015 ; Dinedane et al., 2019) a marqué un effet bactériostatique du même extrait en vers les mêmes souches bactériennes testées.



Conclusion

Conclusion

Conclusion :

Le présent travail, a porté sur l'étude de l'extrait hydro-éthanolique des Feuilles et des fleurs de *Lavandula dentata* L. Ainsi, nous avons contribué, à la valorisation de cette plante, en établissant une relation entre sa composition chimique et ses activités Biologiques.

Notre espèce *Lavandula dentata*, possède riche en métabolites secondaires, ce qui permet d'exploiter leurs propriétés antimicrobiennes.

L'analyse phytochimique a révélé la présence de flavonoïdes, de tanins catéchiques et de stéroïdes, ainsi que l'absence d'alcaloïdes tels que les saponines, les quinones et les terpènes, dans les feuilles et les fleurs de la plante

Le rendement de l'extraction éthanolique de la poudre végétale provenant des feuilles et des fleurs de *Lavandula dentata* s'est élevé à 38,57 %.

En outre, l'analyse du pouvoir bactérienne de la plante montre que les souches bactériennes Gram+ testées sont plus sensibles que les bactéries Gram-.

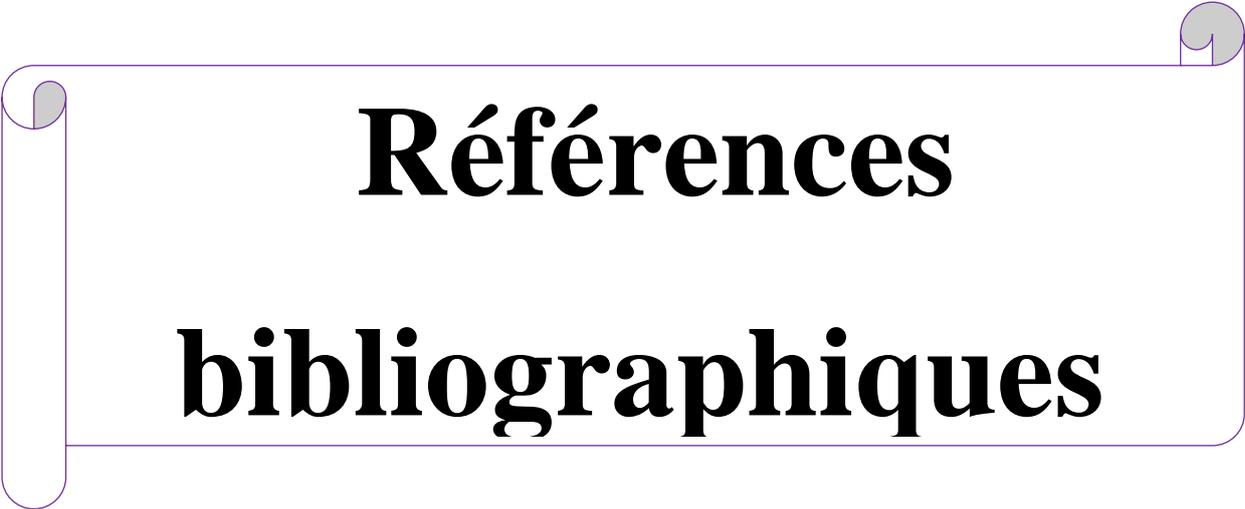
L'ensemble des résultats obtenus au cours de notre étude, indique que l'EE de *Lavandula dentata* exercé un grand pouvoir antibactérien vis-à-vis les bactéries à Gram+ (*S. aureus*, *B.subtilis*) avec une zone d'inhibition pour les diamètres de 12.55 ± 0.35 à 12.48 ± 0.34 mm

Tandis que la sensibilité des bactéries à Gram – (*E. coli*, *K.pneumoiana*), plus importantes à l'extrait éthanolique avec des valeurs des zones d'inhibition allant de 12 ± 0.34 à 11.52 ± 0.33

La méthode de la microplaque a permis de déterminer les CMI. En effet les valeurs de CMI et CMB sont identique pour les 2 souches bactériennes *S. aureus*, *B.subtilis* est sont égale à 6.25mg /ml. Les résultats de CMI et CMB de *K.pneumoniae*, *E.coli* , qui sont identiques pour les 2 souches testés et sont égal 25mg/ml.

En perspectives, il serait intéressant d'élargir le champ d'application de cet extrait sur Une large gamme de bactéries aussi bien à Gram+ que à Gram –, ainsi que sur des souches Fongiques pour évaluer le pouvoir antifongique de cet extrait.

Egalement, en appliquant soit la CPG ou l'HPLC pour déterminer la nature et la concentration des métabolites secondaires de *lavandula dentata*

A decorative border resembling a scroll, with a purple outline and grey scroll ends at the top and bottom corners.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

-A-

Abdoulaye Sérémé., Jeanne, M.,R., Sita, G., Mouhoussine, N. (2008). Concentration en tanins des organes de plantes Tamiferés du Burkina Faso. Journal de la Société ouest-africaine de chimie. , vol (25), p 55-61

Ababsa N., Boukaous, H. (2018). Etude Phytochimique Et Activité Biologique De L'extrait Méthanolique D'*artemisia Herba Alba*. Mémoire De Master : Biochimie De La Nutrition. Constantine : Université Des Frères Mentouri Constantine Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie, **P20**.

Adagaba Nuru, A., Ghamdi, Y., T.Tena Awaris, G., Shenkut ,Mohamed J., Ansari Anwar El .Maktary (2015). Floral Phenology, Nectar Secretion Dynamics And Honey Production Potentiel Of Two Lavander Species (*Lavandula Dentata And L Pubercens*) In Southern Saudi Arabia. Doi: 10.15515/Jas . .0028 Vol (59)

Amine, D., Maryenne, S., Mouhamed, Z., Touria.Z., Jamel., Ica Urens *L.*, *Urtica* Membranacea Poiret Eturtica Pilulifera *L.* Journaof Applied Biosciences .P8098

Abdouni, F., Mahieddine, M., (2017)Etude Phytochimique Et Evaluation De Quelques Activités Biologiques De Deux Plantes De La Famille Des Lamiacées : *Lavandula Dentata L.* Et *Mentha Rotundifolia L.* Mémoire Master : Département Biotechnologie. Blida : Université Saad Dahlab Blida 1, P73

Abdelhakim, B., Imane, Ch., Naoual, El M., Hamza, E.M., Hicham,H., Zineb, L., Aya .,Imane, J., Aïcha , E.B., Doaué, T., Abdelaali, B., Asaad., Achraf, N., Gokhan,Z., Jésus, S., N. (2023). Utilisation Traditionnelle, Phytochimie, Toxicologie Et Propriétés Pharmacologiques De *Lavandula Dentata L.* : Une Revue Complète South African. Journal Of Botany.Vol(154).Pages **67-87**

Références bibliographiques

B

Bettaieb Rebey, I., Bourgou, S., Saidani, M., Fauconnier, M.-L., & Ksouri, R. (2017). Etude De La Composition Chimique Et De L'activité Antioxydante Des Différents Extraits De La Lavande Dentée (*Lavandula Dentata*). Journal Of New Sciences, 39 (2), P2096-2105.

Bouyahya, A., Bakri, Y., Eavandula Dentata. L En Vue De Son Application En Biothérapie. Mémoire De Master

Baradaran, N., Rayehossadat, R., Ali, A., Raziyehsadat, R. (2023). Antibacterial Effects Of Aqueous And Alcoholic Extracts Of Zataria Multi Ora In Comparison With Chlorhexidine Mouthwash On Some Pathogenic Oral Streptococci: An In Vitro Study. Recherche. Dentaire Journal

Bouazid. A ,Zinai .R (2020). L'étude De L'activité Antibactérienne Des Huiles Essentielles De *Lavandula Angustifolia* Sur Des Souches Multirésistances (Mémoire De Master, Université Larbi Tébéssi -Tebessa) P32

Berrabah, Ah., Rechachi, A. (2022). Evaluation Des Activités Biologique De L'huile Essentielle De *Labdoulaye Sérémé., Jeanne, M., R., Sita, G., Mouhoussine, N. (2008).* Concentration En Tanins Des Organes De Plantes Tamiférés Du Burkina Faso. Journal De La Société Ouest-Africaine De Chimie, Vol (25), P 55-61

C

Chebaibi, A., Marouf, Z., Rhazi-Filali, F., Fahim, M., Ed-Dra, A. (2016). Evaluation Du Pouvoir Antimicrobien Des Huiles Essentielles De Sept Plantes Médicinales Récoltées Au Maroc. Phytothérapie, 14(6), 355–362

Cienc. R ., (2019) .Caractérisation Chimique Des Huiles Essentielles De *Lavandula Dentata* L. Cultivées Dans Uberaba-Mg [En Ligne ,49 (8) ,1.

Chedira, K. (2005). Les Flavonoïdes : Structure, Propriétés Biologiques, Rôle Prophylactique Et Emplois En Thérapeutique (Vol. 3)..

Chahboun Et Al. (2015). Evaluation De L'activité Bactériostatique D'huile Essentielle De La *Lavandula Officinalis* Vis-A-Vis Des Souches D'origine Clinique Résistantes Aux Antibiotiques. Jmes.

Références bibliographiques

D

Dris, D. (2019). Etude De L'activité Larvicide De Trois Plantes *Mentha.Piperita* Et *Ocimum Basilicum* Sur Les Larves De Deux Espèces De Moustiques (Culese Pipiens (Linnée) Et *Culiseta*(Longiarolata Aitken . Thèse De Doctorat : Annaba : Université Badji Mokhtar -Annaba, P10

Duffin Kouakou Angaman Bernadine Marie Arabia Bossent Arrit ,Djeneba Camara Kouabenan Abo Et Noël Guédé Zihiri Evaluation De L'activité Antifongique Des Extraits Aqueux Et Ethanolique De Terminalia Iovernis A Chev Sur Fusaruim Oxysporum Espèces Phytopathogènes De La Tomate 16 (3) (2020) 74_84 P 76

Djendi Menel Lina., Chahrazed B., Karima., B Mahmoud D., Evaluation De L'activité Antimicrobienne D'huile Essentielle De La Lavande (*Lavandula Stochaes*)

E

Essemiani Naziha(2014).Etude Phytochimique, Activité Antimicrobienne Et Antioxydante De *Lavandula Dentata L.* (La Lavande Dentée). Mémoire De Master. Département Des Biotechnologies.Université De Blida 1

Elise, Emeraux. (2019). Propriétés Biologiques Des Flavonoïdes : Etude Bibliographique Et Evaluation De L'activité Antioxydant. Thèse De Doctorat, Université De Lorraine) **P31**

F

Fenghour, H., Bouabida, H., Dris, D., & Houhamdi, M. (2021). Antibacterial Effect Of Essential Oils Of Two Plants Eucalyptus Camaldulensis And *Artemisia Herba Alba* On Some Bacterial Strains. Biosystems Diversity, 29(2), 73-77.

Fumihiko, S., Yasuyuki, Y. (2021). Transcription Factors In Alkaloid Engineering.Biomolecules., Vol (11). P1

Farah H., Tarik, M, Ch., Meriem S., Imane G., Ouhiba, B (2020). Phytochemical Screening, Phenolic Content And Antioxidant Activity Of *Lavandula* Species Extracts From Algeria. Istanbul J Pharm 51 (1) : 113

G

Références bibliographiques

Guy Roger Kabran, Janat A Mamyrbekova-Bekro1, Jean-Luc Pirat, Yves -A, Nicolas S, Arnaud V, Emmanuelle M (2014). Identification De Composés Phénoliques Extraits De Deux Plantes De La Pharmacopée Ivoirienne (Journal De La Société Ouest -Africaine De Chimie) **P58**

Gharbi, A., Goubi.L. (2022). Evaluation De L'effet Toxique D'extrait De Fleurs De Deux Plantes De La Région De Tébessa A L'égard De D'une Espèce De Moustiques *Cilista Longiareilata*. (Mémoire De Master. Université Chikh Larbi Tébessi.)

H

Heinrich, M., Mah, J., & Amirkia, V. (2021). Alkaloids Used As Medicines: Structural Phytochemistrymeets Biodiversity-An Update And Forward Look. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(7), 1836.

Habib G., Jean-P., Assogba, G., Honoré, S, B., Joachim, G. (2019). Activité Antibactérienne De L'extrait Ethanolique Et Des Fractions De *Anogeissus Leiocarpa* (Dc) Guill. Et Perr. (Combretaceae). *International Journal Of Biological And Chemical Science*, Vol (2), P646

Hanen, F., Chokri, H., Ichrak, M. Riadh, K. (2021). Evaluation Of Different Procedures For The Extraction Of Phenolic Compounds From A Medicinal Plant *Verbena Officinalis*. *Biologie Aujourd'hui*, Vol (215), P 133-142

K

Kebili.Z(2016). Contribution A L'étude De Quelques Activités Biologiques Des Extraits De *Ephedra Alata* De La Région D'ouargla. Mémoire De Magister : Biologie. Ouargla : Université Kasdi Merbah. Algérie. Page :21

L

Li, B., Webster, T. J. (2018). Bacteria Antibiotic Resistance: New Challenges And Opportunities For Implant Associated Orthopedic Infections. *Journal Of Orthopedic Research*, 36(1), 22-32.

Lamiae Bachiri ,Ghizlane E, Jamal L, Laila N (2016):Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De *Lavandula Autochtones* Au Maroc « *Lavandula Stoechas* L. Et *Lavandula Dentata* .L. »Ghizlane E .Jamal .L .Laila N

Références bibliographiques

Lim, T.K. (2014). Edible Medicinal And Non Medicinal Plants: Volume 8, Flowers, Springer Science

Leysour, D. (2020). L'antibiogramme Par Diffusion De Sa Découverte À Son Automatisation - Mise En Place D'une Méthode Automatisée Au Chu De Rouen. (Thèse De Doctorat, Pharmacie France. Université De Rouen Normandie Ufr Sante.)

M

Miroslav, H., Joanna, K-S., Sinnona, C., Katrina, R. (2023). *Lavandula* Species Their Bioactives Phytochemiclas, And Their Biosenthetic Regulation. International Journal Of Molecular Sciences, 24(10), 8831

Moultari Souley Kallo., Rabani A.,Jacques S.,Abdoulhakim A.,Inoussa M.,Khalid I(2018). Enquête Enthobotanique Et Criblage Phytochimique De Quelques Plantes Tinctoriales De Niger En Vue D'une Valorisation En Energie Solaire

Mostafa Malecky. (2008). Métabolisme Des Terpénoïdes Chez Les Caprins (Thèse De Doctorat,L'istitut Des Sciences Et Industries Du Vivant Et De L'environnement)

Michel Wink. (2008). Plant Secondary Métabolisme Diversity, Function And Is Évolution Institute Of Pharmacy And Molecular Biotechnology Vol :3 N°8 1205 -1216

Moroh.J.L.A., Bahi.C., Dje K., Loukou.Y.G., Guede-Guina., F (2008). Etude De L'activité Antibactérienne De L'extrait Acétatique (Eac) De *Morinda Morindoides* (Baker) Milne-Redheat (Rubiaceae) Sur La Croissance In-Vitro Des Souches *D'escherichia Coli*. Bulletin De La Société Royale Des Sciences De Liège, Vol (77)

Mustafa.,H Sasqia.,A .Ka.,P. Bambang.,S(2023). Détection De Gène Sur *Escherichia Coli* Produisant Une β -Lactamine A Spectre Etendu Isolée De L'intestin Grêle De Canards Sur Les Marchés Traditionnels De Ville De Surabaya Indonésie. Journal Of Advanced Veterinary Research. Vol (13)

M.M. Dif · M. Benyahia · F. Toumi Benali · M. Rahmani · S. Bouazza(2016). Teneur En Composés Phénoliques Et Activité Antioxydantes De Trois Espèces Algérienne De *Lavandula*.

Mpondo Mpondo., J., Yinyang, E., Tchatat, M., Ndjib, Rc., Mvogo Ottuo, Pb., Dibong, Sd. (2014). Les Plantes A Alcaloïdes Utilisées Par Les Populations De La Ville. Douala (Cameroun). Journal Of Applied Biosciences. Vol (78)

Références bibliographiques

N

Nilufar Z, M., Davlat, Kh, A., Elisa, O., Aantonio, T., Lutfun, N., Shahnoz S,A A., Asatyajit D, Sarker. (2017). Plantes Médicinales Aromatiques De La Famille Des *Lamiacées* D'ouzbékistan : Ethnopharmacologie, Composition Des Huiles Essentielles Et Activités Biologiques.M.Academic Open Access Publihing,Vol (4) P1

Nahed El -Najjar -Hala., G.Muhtasib, R .,A Ketola Vuorela., Arto Urtti .Heikki Vuorela ,(2011). The Chemical And Biologie Activities Of Quinones: Overview And Implications In Analytical Detection.

Naima M.,Fatima E.,Hamada I.,Salim B.,Anissa .,L.,Ali S.,Omar M., Mahmoud T (2022). Antioxidant And Anti-Urolithiatic Activity Lf Aqueous And Ethanolic Extracts From *Saussurea Costus* (Falc)Lispich Using Scanning Électron Microscope 12(7):1026

P

Panch A.N., Liwan, A.D., Chandra, S.R. (2016). Structure Of Flavonoïdes And Their Classes. Journal Of Nutritional Science. Vol (5),

Pan, S. Y., Zhou, S. F., Gao, S. H., Yu, Z. L., Zhang, S. F., Tang, M. K., Sun, J. N., Ma, D. L., Han, Y. F., Fong, W. F., Ko, K. M. (2013). New Perspectives On How To Discover Drugs From Herbal Medicines Cams Outstanding Contribution To Modern Therapeutics. Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine, 13, 1-25

Perma, S.K., Phililipp, Z. (2019). Terpene Synthases As Metabolic Gatekeemers In Thé Évolution Of Plant Terpenoid Chemical Diversity From Plant.Frontiers In Plant Science. Vol (10),

Pang Z, Chen J, Wang T, Gao C, Li Z, Guo L, Xu J And Cheng Y (2021). Linking Plant Secondary Metabolites And Plant Microbiomes: A Review. Front. Plant Sci. 12(621276),

Pauline, R. (2019). De La Biosynthèse Des Flavanols Aux Tanins Du Vin : Quelle Place Pour Les Pépins De Raisin. (Thèse De Doctorat, Université De Bordeaux. Œnologie, P47

R

Ramdane Farah (2018). Contribution A L'étude Des Activités Biologique De Quelques Plantes Médicinales Du Sahara Algérien, *Nauplius Graveolens*, *Ziziphus Lotus* Et *Capparis Spinox* (Thèse De Doctorat, Université Kasdi Merbah. Ouargla, P34

Références bibliographiques

Rabie Kachkoul., Tarik H., Radouane H., Youssef M., Mohamed M., Anissa L (2018). Phytochemical Screening And Inhibitory Activity Of Oxalocalcic Crystallization Of *Arbutus Unedo* .L.Leaves

S

Salfo, O., Jules, Y., Tata, K.T., Mathieu, N., Bavouma, C.S., Hermine, Z.D., Josias, B.G.Y., Abdoulaye, D., Lazare, B., Félix, B.K., Sylvain, O., Rasmané, S. (2021). Production De Matières Premières Et Fabrication Des Médicaments A Base De Plantes Médicinales. Int. J. Biol. Sci.,15(2) : 750-772

Sanogon, Y, Guessenn, N.K., Tra Bi .H.K., Bamba.M., Kouadio.N., Bamba .M., Danho.N., Bakayoko .A., Yao .K., Dosso.M (2016). Evaluation In Vitro De L'activité Des Ecorces De Tige De *Anogeissus Leiocarpus* (Dc) Guill. Et Perr. (Combretaceae) Sur Des Bactéries Responsables De Maladies Courantes En Afrique Et Criblage Phytochimique. International Journal Of Biological And Chemical Science. Vol (3).P1142

Silveira Sm, Cunha Jr. A, Scheuermann Gn, Secchi Fl, Verruck S, Krohn M. (2012). Composição Química E Atividade Antibacteriana Dos Oleos Essenciais De *Cymbopogon Winterianus* (Citronela), *Eucalyptus Paniculata* (Eucalipto) E *Lavandula Angustifolia* (*Lavanda*). Rev Inst Adolfo Lutz. São Paulo, 71(3) :471-80.

T

Tessa, M., Kalliope, K. P., Anne, O., Crit., B., Mol, B. (2014). Metabolic And Functional Diversity Of Saponines, Biosynthetic Intermediates And Semi _Synthetic Derivatives. Critical Reviews In Biochemistry And Molecular Biology, Vol (6)

Toty, A., Guessenn, N., Bahi, C., Kra, A., Otokore, D., Dosso, M. (2013). Evaluation In-Vitro De L'activité Antibactérienne De L'extrait Aqueux De L'écorce De Tronc De *Harunga Madagascariensis* Sur La Croissance De Souches Multi-Résistantes. Bulletin De La Société Royale Des Sciences De Liège, Vol (82), 2013, P.16

Références bibliographiques

Y

Yann, G. (2010). Diversité Des Composés Terpeniques Volatiles Au Sein Du Genre *Lavandula*, Aspects Evolutifs Et Physiologiques. These De Doctorat : Sciences Du Vivant [Q-Bio] /Biologie Vegetale, France : Universite De Saint -Etienne -Jean –Monnet, P50

Youness, A., Ghada, B., Adil, M., Abdelfattah, Ch., Yosef,J., Mohamed A., Mohamed, Ch., Hiba, N., Noureddine, El., Mohammed, B., Abdelhaki, B. (2023). Antibacterial, Antioxydant,Ans *In Silico* NADPH Oxidase Inhibition Studies Of Essential Oils Of *Lavandula Dentata* Against Foodborne Pathogens. National Library Of Medicine. Doi : 10.1155/2023/976602

Z

Zakkad, F. (2017). Etude Phytochimique Et Evaluation De Quelques Propriétés Biologiques De Trois.These Doctorat: Chimie,Espèces De L'euphorbia Université Badji Mokhtar- Annaba,P71

Zhiqiang, P., Jia, Ch., Tuhong, W, Chunsheng, G., Zhimin,L., Litao, G., Jianping, Xu, Yi Cheng. (2021). Linking Plant Secondary Metabolites And Plant Microbiomes: A Review. Plant Secondary Metabolites And Microbiomes. Vol (12). P11

Zeynel, O., Mine, K. (2022). Pollen Morphology Of Some Taxa In The Family *Lamiaceae* (*Labiatae*). Emujpharmsci From Turkey. Vol (5)

Zineb Djemmani, Aziza Ch (2021). La Prédiction In Silico Des Produits Adme Des Molécules D'huiles Essentielle De *Lavandula Dentata* (Mémoire De Master, Université Mohamed Khider De Biskra, P27



Annexes

Annexes

Annexe 01 : Matériel de laboratoire et les appareille et produit utilisées

Tableau 01 : matérielle de laboratoire et les appareille et produit utiliser

Les verreries	Matériels
Tubes à essai Flacons en verre Erlenmeyer Becher Pipettes graduées Entonnoir Pipettes pasteur Eprouvettes graduées de 100 ml Boite de pétri Lames et lamelles	Spatule Micropipette (5µl -50µl) Bande gaz Ecouvillons Stériles Pince Embouts jaune Papier filtre Papier aluminium Papier absorbant Portoir Pied à coulisse Anse de platine Tube eppendoref Bac bunsen Disques de papier whatman de 6.5 mm de diamètre Fond noir Portoir Barreaux magnétique
Les Appareillages	Les Produits et Réactifs
Microscope optique Agitateur magnétique Plaque à chauffante Vortex Balance électronique Appareil Rota vapeur La hotte aspirante Etuve Autoclave Spectrophotométrie Bain de sable	Lugol Alcool Fushine Violet de gentiane Éthanol Acide sulfurique (H ₂ SO ₄) Diméthyle sulfoxide (DMSO) Ether de pétrole Acide chlorhydrique (HCL) Hydroxyde de sodium (NAOH) Pipettes en verre Acide Acétique Trichlorure de Fer (FeCl ₃) Acide Trichloracétique Réactif de Mayer Réactif de Wagner Copeaux de magnésium

Annexes

Annexe 2 : Composition des réactifs utilisés pour le Screening phytochimique de

I. Préparation de la solution d'hydroxyde de sodium Noah /10

Dissoudre 0.2g de NAOH dans 50 ml d'eau distillée

1. Réactif de Mayer

Chlorure Mercure0.136g

Iodure de potassium.....0.5g

Eau distillée.....10ml

2. Réactif de Wagner

Iodure de potassium.....0.2g

Iode0.127g

Eau distillée.....10ml

II. Préparation Solution de Chlorure ferrique Fecl3 à 10%

Dissoudre 0.1g Chlorure ferrique dans 10 ml d'eau distillée

Annexe 03 : technique de Coloration de Gram

I. Objectif :

Permet de colorer les bactéries et de les distinguer par leur aptitude à fixer le violet de gentiane (Gram +) ou la fuchsine (Gram -)

II. Technique :

1. Faire un frottis :

- Nettoyer une lame à l'alcool.

- Déposer une goutte d'eau physiologique Stérile sur la lame.

-Toucher une colonie à l'aide d'une stérile pour prélever des bactéries. Puis Étaler 1à 2cm par un mouvement circulaire du centre de la lame

-. Laisser sécher à l'air.

2. Fixation :

- Passer 3 fois la lame dans la petite flamme (veilleuse) du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

Annexes



Figure 01 : Préparation de frottis (Photo personnelle, 2024)

3. Réalisation de la coloration :



3.1. Coloration au violet de gentiane :

- Déposer quelques gouttes de violet sur le frottis , fixé
- laisser 1 minute
- rince à l'eau déminéralisée



Figure 02 : coloration avec violet de gentiane (photos personnelles,2024)

Annexes

3.1.1. Mordançage de lugol :

- Déposer de quelque gouttes de lugol sur le frottis. Fixé
- Laisser agir 1 minute
- rince à l'eau déminéralisée

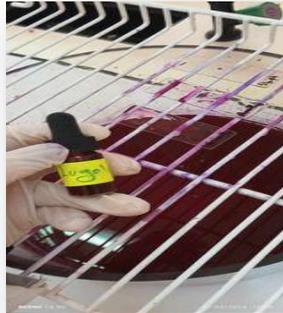


Figure 03: coloration avec le lugol (Photo personnelles,2024)

3.1.2. Décoloration rapide avec alcool à 95°

Verser goutte à l'alcool sur la lame et laisser la décoloration 15 secondes. Laver doucement à l'eau minéralisée

3.1.3. Recoloration à la Fushine

- Déposer quelques gouttes de Fuchsine sur le frottis, fixé
- laisser 1 minute
- rince à l'eau



Figure 04 : recoloration avec la Fushine (Photo personnelles,2024)

-sécher délicatement entre deux feuilles de papier filtre fin

4. Mise on point :

- Repérer les bactéries à l'objectif x40.
- Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis

Annexes

-Faire la mise au point en forte luminosité (condensateur levé et diaphragme ouvert) objectif x100.

-Se placer dans un endroit où la répartition des bactéries est homogène et la coloration nette éliminer les lames dans le bocal déchets non infectieux

5. Observations :

-On peut noter la morphologie des bactéries et la coloration de celles-ci : les bactéries violettes sont dites Gram positives, celles qui sont roses sont dites Gram négatives. On peut également noter l'homogénéité de coloration de la bactérie.

Annexe 04:

I. Préparation de milieu de culture Solide

1.1-Gélose nutritive (GN)

Composition

Extrait de viande	1,0 g/L
Extrait de levure	2,5 g/L
Peptone	5,0 g/L
Chlorure de sodium	5g /l
Agar -Agar	15g/l
L'eau distillée	1/L

Préparation :

-Une fois tous les ingrédients dissous dans l'eau distillée, modifier le pH à 7,4 et procéder à une stérilisation à l'autoclave pendant 20 minutes à une température de 120°C.



Figure 05: préparation de Gélose nutritive (Photo personnelles,2024)

3.2.- milieux Mueller Hinton (MH)

Composition :

Hydrolysate acide de caséine (peptone)	17,5 g
Infusion de viande de bœuf	4 g
Amidon de maïs	1,5 g
Agar	12 g

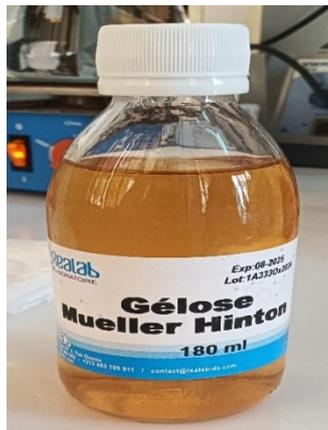


Figure 06 : Muller Hinton MH (Photo personnelle ,2024)

2. Milieux liquide

2.1. Bouillon nutritif (BN)

Composition :

Peptone	10g
Chlorure de Sodium	5g
Extrait de bœuf.....	5 à 10g
Eau distillée.....	1000ml

Préparation :

Une fois tous les ingrédients dissous dans l'eau distillée, modifier le pH à 7,4 et procéder à une stérilisation à l'autoclave pendant 20 minutes à une température de 120°C.

Annexes

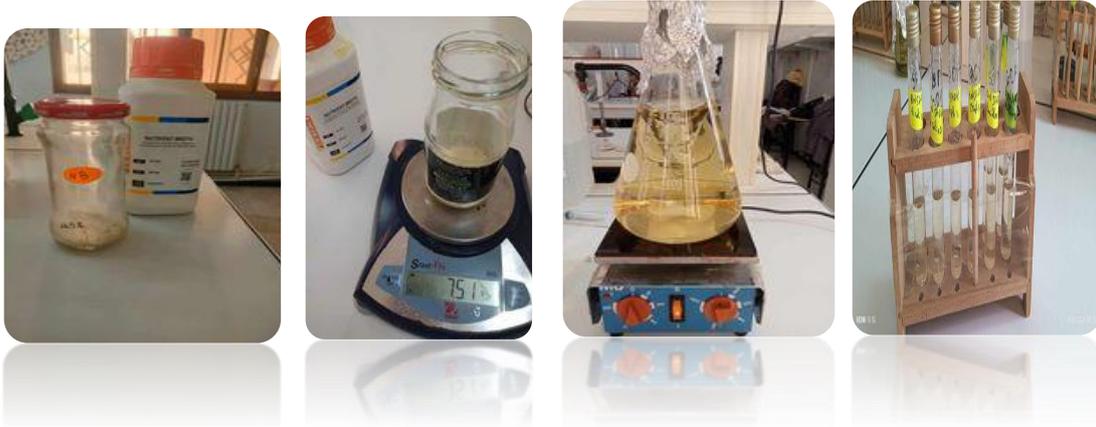


Figure 07 :: preparation de milieux Bouillon Nutritif (Photo personnelle ;2024)

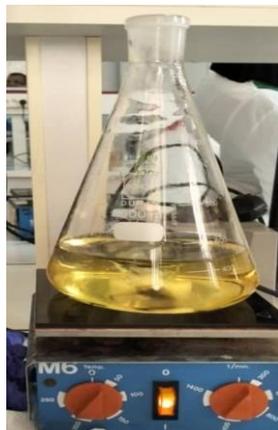
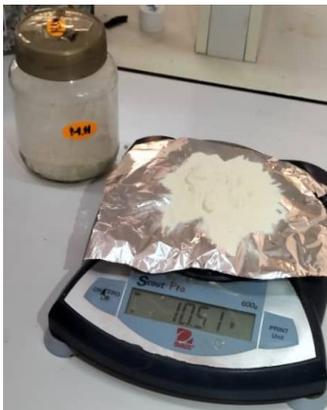
2.2. Bouillon Muller-Hinton :

Composition

Hydrolysate acide de caséi.....	17,5 g
Infusion de viande	2,0 g
Amidon	1,5 g

Préparation

- Mettre en solution 10,50g de milieu déshydraté dans 500 ml d'eau distillée
- Agiter lentement, jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir à température ambiante.



Annexes

Figure 07 : Préparation des BMH (photo Personnelle.,2024)

3.L'eau physiologie

Chlorure de sodium (NaCl)9g

L'eau distillée1000ml

Préparation :

Dilué 9g de NaCl dans 1000ml d'eau distillée, Agiter jusqu'à dissous. Stérilisée en autoclave à température 121C° pendant 20 minutes



Figure 08: préparation d'eau physiologie (photo personnelle, 2024)

Annexe 05 : préparation de MC Farland

En microbiologie, les normes McFarland sont utilisées comme référence pour ajuster la turbidité des suspensions bactériennes pour que le nombre de bactéries se situe dans une gamme de concentrations donnée afin de normaliser les tests microbiens

Composition :

Un étalon standard 0,5 McFarland est préparé en mélangeant 0,05 ml de chlorure de baryum à 1% (BaCl₂) ml avec 9,95 ml d'acide sulfurique à 1% (H₂SO₄).



Figure09 : Protocole de mac Ferland (Photo personnelle ,2024)

Annexes

Annexe 06 : Revivification et repiquages des souches bactériennes :

1. Revivification des souches microbiennes :

- Repiquer à l'aide d'une anse de platine des colonies différentes dans des tubes De bouillon nutritifs
- Flamber l'anse après chaque repiquage
- Incuber à 37 °C pendant 24 à 48h
- Observer les différents aspects de pousse en milieu liquide

4. Repiquage sur les milieux sélectifs :

Prélever à l'aide de l'anse de platine une fraction de l'inoculum

- Ensemencer par stries fines et très serrées le premier demi- cercle
- Flamber l'anse de platine, laisser refroidir
- Ensemencer le deuxième demi- cercle
- Flamber l'anse de platine
- Ensemencer le troisième demi-cercle



Annexes

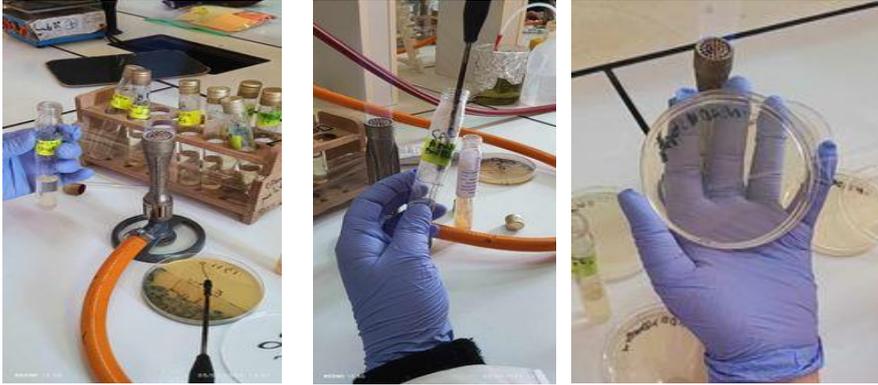


Figure 10 : Repiquage des souches (photos personnelles,2024)

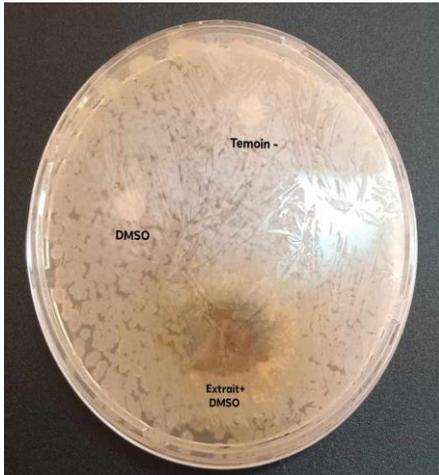
Annexe 07 : Mesure les diamètres des Zones d'inhibitions



Figure 11 : pied à coulisse pour mesurer le diamètre des zones inhibition (Photo personnelle., 2024)

Annexe 08 : Évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique de *lavandula dentata* par méthode d'aromatogramme

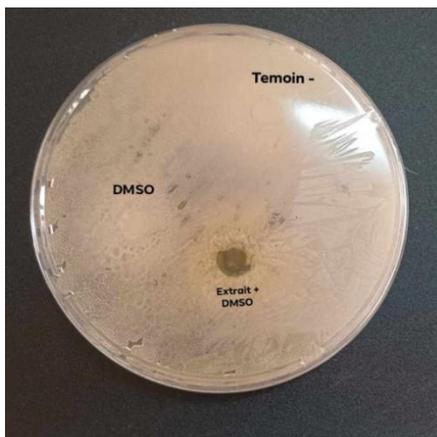
Annexes



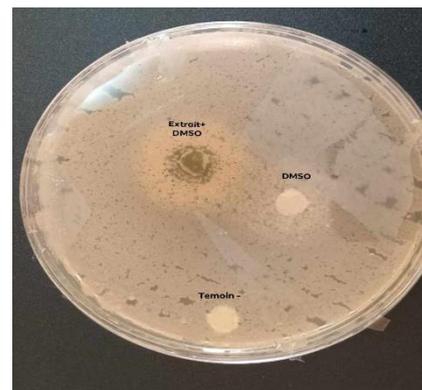
Staphylococcus aureus



Bacillus subtilus



Escherichia coli

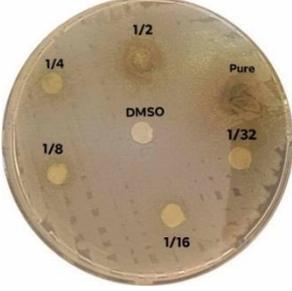
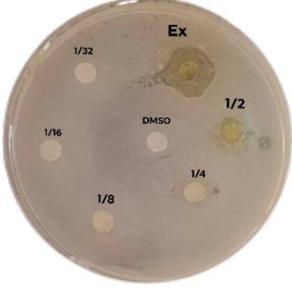
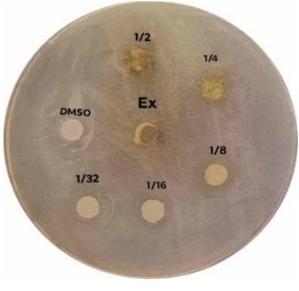


Klebsiella pneumoniae

Annexe 9 :

Les résultats d'activité antibactérienne de différentes dilutions de l'extrait éthanoïques de *lavandula dentata*

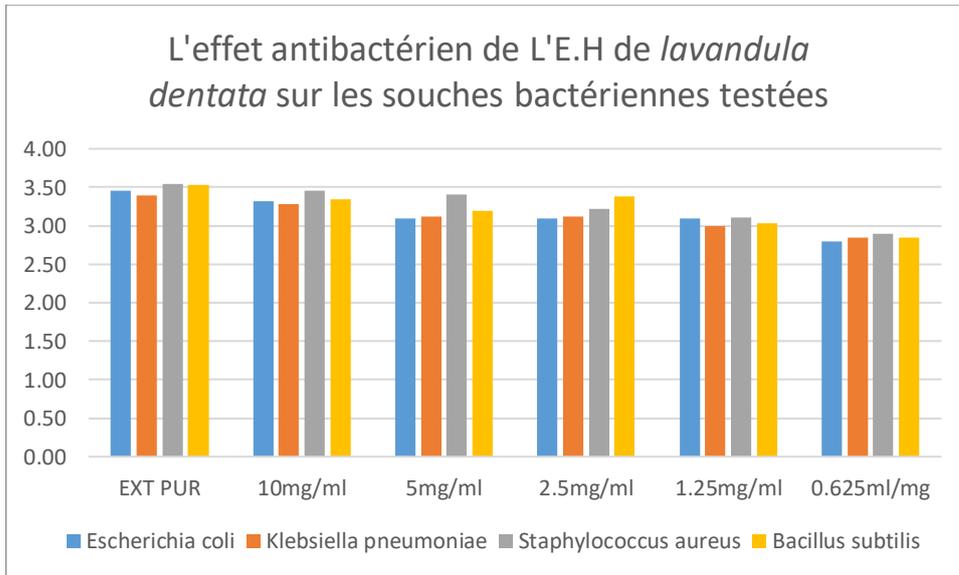
Annexes

Grams	Souche bactérienne	Résultats d'aromatogrammes
Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i>	 <p>Aromatogram for <i>Staphylococcus aureus</i>. The plate shows a 'Pure' control spot and dilution spots at 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, and 1/32. A DMSO control spot is also present. The spots show varying degrees of color change, indicating the presence of volatile compounds.</p>
	<i>Bacillus subtilis</i>	 <p>Aromatogram for <i>Bacillus subtilis</i>. The plate shows an 'Ex' control spot and dilution spots at 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, and 1/32. A DMSO control spot is also present. The spots show varying degrees of color change, indicating the presence of volatile compounds.</p>
	<i>Escherichia coli</i>	 <p>Aromatogram for <i>Escherichia coli</i>. The plate shows an 'Ex' control spot and dilution spots at 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, and 1/32. A DMSO control spot is also present. The spots show varying degrees of color change, indicating the presence of volatile compounds.</p>
Gram -	<i>Klebsella pneumoniae</i>	 <p>Aromatogram for <i>Klebsella pneumoniae</i>. The plate shows an 'Ex' control spot and dilution spots at 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, and 1/32. A DMSO control spot is also present. The spots show varying degrees of color change, indicating the presence of volatile compounds. Handwritten text 'Klebs' is visible on the plate.</p>

Annexes

Annexe 10 :

Diagramme L'effet antibactérien de L'E.H de *Lavandula dentata* sur les souches Bactériennes testées



Annexe 11 :

Détermination de la concentration minimale bactéricide CMB de l'EH de *lavandula dentata*

