

République Algérienne Démocratique Et Populaire  
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Larbi Tébessi-Tébessa-  
Faculté Des Sciences Exactes Et Des Sciences De La  
Nature Et De La Vie  
Département De Biologie Appliquée



Présentée En Vue De L'obtention Du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Sous Le Thème :

---

**Etude de l'activité antibactérienne et antioxydante de  
quatre plantes médicinales**

---

Présentée par :

M<sup>elle</sup> **Zhour Douichine**

M<sup>elle</sup>. **Mesnadi chaima**

M<sup>elle</sup>. **Douib Saloua**

Devant le jury composé de :

Mme OUERNA SOUAD

MCB

Université de Tébessa

Président

Mme BENHEDJ MABROUKA

MCA

Université de Tébessa

Promotrice

Mlle METROUH ROUMAÏSSA

Doctorante

Université de Tébessa

Co-Promotrice

Mme HAIOUN SOURAIA

MAA

Université de Tébessa

Examinatrice

**Année Universitaire : 2021/2022**

## ملخص

النباتات الطبية هي أدوية نباتية تستخدم لمنع أو تخفيف الأمراض المختلفة ، على الأقل جزء منها له خصائص دوائية ، وتستخدم أيضًا لملكيتها المضادة للميكروبات والتي تعد واحدة من الأنشطة العضوية المعروفة في النباتات الطبية والعطرية. ومع ذلك ، كمصادر للأدوية ، لا تزال النباتات تحت استغلالها خاصة في مجال علم الأحياء الدقيقة الطبي. بهدف دراسة استخدام *M. viridis* ؛ *Z. Officinale* ؛ *O. Gatissimum* ؛ *C. cyminumces* في علاج الأمراض المعدية ، تم إجراء مسح إثنوبوتاني في منطقة تبسة.

تستكمل هذه الدراسة بتقييم عائد الزيوت الأساسية والمستخلصات التي تم الحصول عليها ، من خلال تقنية التقطير المائي ، من النباتات التي تمت دراستها كشفت أن أهم عوائد تم تسجيلها لزيت ( $3.06 \pm 1.73$ ) *C. Cyminum* ؛ من ناحية أخرى ، تم تسجيل أدنى عائد في الزيت الأساسي لـ ( $1.65 \pm 0.64$ ) *M. viridis* وأعلى محصول مستخلص لـ ( $20.20 \pm 9.01$ ) *M. viridis* وأدنى عائد مع ( $6.84 \pm 0.78$ ) *Z. officinal* مستخرجة باستخدام الروتاف. من المحتمل أن تكون الاختلافات في العائدات والتركيبات الكيميائية للزيوت الأساسية التي لوحظت ، ناتجة عن الظروف البيئية ، من ناحية ، وللحصول الزراعي ، وكذلك على طريقة الاستخراج المستخدمة ، إلى النمط الوراثي للنبات ، إلى أجزاء النبات المستخدمة ودولهم نضارة.

على الرغم أن دراسة القوة المضادة للميكروبات للزيوت الأساسية التي تم الحصول عليها باستخدام نشر الأبار على مسامير - Gélosé - قد أدت إلى ثمل 23 سلالات الإرشادية التي تمت دراستها مع مناطق تثبيط (MM) من آخر مجلدتين مختلفتين. في حين أن القوة المضادة للميكروبات للمستخلصات قد كشفت عن عمل مثبط أقل فعالية. وترابط الزيوت الأساسية مع المضادات الحيوية ؛ يؤدي إلى تأثيرات تآزرية من طرق CMI و CIF المختلفة أن CMIs كانت أكبر من 512 ميكرو لتر /مل لـ (Cèfazoline) ATB ؛ (Ampicillin).

بداية ، نشاط مضاد للأكسدة يتناسب مع الزيادة في تركيز المستخلص الذي تمت دراسته بواسطة طريقة الحد من الحديد ؛ أظهر أن قوة مضادات الأكسدة أعلى بالنسبة للزيت مع نسب التخفيض (PR) (من 42 ٪ و 21 ٪).

في ضوء هذا العمل ، يتم استجابة استخدام الطب التقليدي على نطاق واسع ، يمكن ترشيد الاستخدام التقليدي لهذه النباتات الطبية بسبب ثروتها في المكونات النشطة التي يمكن استخدامها في الوقاية من بعض الأمراض المعدية وعلاجها ومحاربة متعددة - متعددة - البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية المعتادة.

**الكلمات الرئيسية:** *M. Viridis* ؛ *Z. Officinale* ؛ *O. Gatissimum* ؛ *C. cyminumces* ، المسح الإثنوبوتاني ، الزيوت الأساسية ، المستخلصات ، الغلة ، الأمراض المعدية.

## Abstract

Medicinal plants are plant drugs used to prevent, treat or alleviate various ailments of which at least some have medicinal properties, and are also used for their antimicrobial property which is one of the biological activities known in medicinal and aromatic plants. However, as sources of drugs, plants are still under-exploited especially in the field of medical microbiology. In order to study the use of *M.viridis*; *Z.officinale*; *O.gratissimum*; *C.cuminum* in the treatment of infectious diseases, an ethnobotanical survey was carried out in the region of Tébessa.

This study is completed by an evaluation of the yield of essential oils and extracts that were obtained, by the technique of hydro distillation, from the plants studied revealed average yields the most important was recorded for the oil of *C.cuminum* ( $3.06 \pm 1.73$ ); on the other hand the lowest yield in essential oil for *M.viridis* ( $1.65 \pm 0.64$ ) and the highest yield of extract was recorded for *M. viridis* ( $20.20 \pm 9.01$ ) and the lowest yield with *Z.officinale* ( $6.84 \pm 0.78$ ) was extracted using rotavape; The variations of yields and chemical compositions of essential oils observed, are probably due to environmental conditions, on the one hand, and to agronomic conditions, as well as to the method of extraction employed, the genotype of the plant, the plant parts used and their state of freshness.

While the study of the antimicrobial power of essential oils obtained with the help of diffusion of the wells on agar medium vis - a vis the 23 indicator strains studied with zones of inhibition (mm) of its last with two different volumes. while the antimicrobial power of the extracts to reveals a less effective inhibitory action. And the association of essential oils with antibiotics resulted in synergistic effects from the different methods MIC and CIF shows that the MIC was higher than 512  $\mu\text{l}$  /ml for TBA (Cefazolin; Ampicillin).

Then, the antioxidant activity proportional to the increase of the concentration of the extract which was studied by the iron reduction method; showed that the antioxidant power is higher for the oils with reduction percentages (PR %) of 42% and 21%.

In the light of this work, the use of traditional medicine is largely answered, the conventional use of these medicinal plants can be rationalized because of their richness in

active components which can thus be used in the prevention and the treatment of certain infectious diseases and to fight bacteria multi resistant to the usual antibiotics.

**Key words:** *M.viridis*; *Z.officinale*; *O.gratissimum*; *C. cyminumces*, ethnobotanical survey, essential oils, extracts, yield, infectious diseases.

## Résumé

Les plantes médicinales sont des drogues végétales utilisées pour prévenir, soigner ou soulager divers maux dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, et sont également utilisées pour leur propriété antimicrobienne qui est l'un des activités biologiques connue chez les plantes médicinales et aromatiques. Cependant, en tant que sources de médicaments, les plantes restent encore sous exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale. Dans le but d'étudier l'utilisation de *M.viridis*; *Z.officinale*; *O.gratissimum*; *C. cyminum* dans le traitement des maladies infectieuses, une enquête ethnobotanique a été réalisée dans la région de Tébessa.

Cette étude est complétée par une évaluation du rendement des huiles essentielles et des extraits qui ont été obtenus, par la technique d'hydro distillation, à partir des plantes étudiées a révélé des rendements moyens le plus important a été enregistré pour l'huile de *C.cyminum* ( $3.06 \pm 1,73$ ); par contre la plus faible rendement en huile essentielle pour *M.viridis* ( $1,65 \pm 0,64$ ) et le rendements d'extrait le plus élevé a été enregistrées pour *M.viridis* ( $20.20 \pm 9,01$ ) et la plus faible rendement avec *Z.officinale* ( $6,84 \pm 0,78$ ) a été extrait à l'aide de rotavape; Les variations des rendements et des compositions chimiques des huiles essentielles constatées, sont probablement dues aux conditions environnementales, d'une part, et aux conditions agronomiques, ainsi qu'à la méthode d'extraction employée, au génotype de la plante, aux parties végétales utilisées et leur états de fraîcheur.

Alors que l'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles obtenu à l'aide de diffusion des puits sur milieu gélosé vis – à vis les 23 souches indicatrices étudiées avec des zones d'inhibition (mm) des ses dernier avec deux volumes différents. tandis que le pouvoir antimicrobien des extraits à révèle une action inhibitrice moins efficace. Et l'association des huiles essentielles avec les antibiotiques; aboutie à des effets synergiques a partir des diffrent méthodes CMI et CIF montre que les CMI étaient supérieur à 512 µl /ml pour les ATB (cèfazoline; Ampicilline).

Ensuite, L'activité anti oxydante proportionnel à l'augmentation de la concentration de l'extrait qui été étudiés par la méthode de réduction de fer; montré que le pouvoir antioxydant est plus élevée pour les huile avec des pourcentages de réduction (PR %) de 42% et 21%.

A la lumière de ce travail, le recours à la médecine traditionnelle est largement répondu, l'utilisation conventionnelle de ces plantes médicinale peut être rationalisée en raison de leur

richesse en composants actifs qui peuvent donc servir dans la prévention et le traitement de certaines maladies infectieuses et combattre des bactéries multi résistantes aux antibiotiques usuels .

**Mots clés :** *M.viridis* ; *Z.officinale* ; *O.gratissimum* ; *C. cuminumces*, enquête ethnobotanique, les huiles essentielles, les extraits, rendement , maladies infectieuses.

## Remerciement

*Nous tenons avant tout à remercier Dieu tout puissant, pour la volonte, la santé et la patience qu'il nous a donné durant toutes ces années d'étude, afin que nous puissions en arriver là.*

*Mes vifs remerciements à :*

- *Notre promotrice **Dr. BENHEDJ Mabrouka** pour ces précieux conseils, ces encouragements et pour avoir approfondi nos connaissances.*
- *A notre Co-Promotrice, Mlle **METROUH Roumaïssa** qui nous a aidées durant toute la période de notre travail, ainsi que pour ses précieux conseils et son soutien à tous les instants. Sa gentillesse, ses grandes qualités scientifiques et humaines ont contribué au bon déroulement de ce travail. Ses critiques et sa compétence ont été un solide appui et un réconfort.*

*Nos remercie vivement les membres de jury :*

- ***Madame OUERNA SOUAD** qui a bien voulu nous honorer en présidant notre jury.*
- ***Madame HAIOUN SOURAIA** pour avoir accepté de juger et d'évaluer ce modeste travail.*
- *Nous tenons à remercier aussi les responsables du laboratoire de microbiologie de l'université pour leurs aides inestimables.*
- *Nos remerciements vont aussi à tous nos professeurs, enseignants et toutes les personnes qui nous ont soutenus jusqu'au bout, et qui n'ont pas cessé de nous donner des conseils très importants en signe de reconnaissance.*

# *Dédicace*

*A l'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

*A mes parents, pour leur soutien inconditionnel, leurs sacrifices, leurs tendresses, et leur amour infinis. Malgré toutes les difficultés qu'ont pu représenter ces longues années d'études, ils m'ont toujours facilité ce parcours, au prix de nombreux efforts. Il me sera impossible de rendre tout ce qui m'a été offert. Rien n'aurait été possible sans eux.*

*A mes sœurs (nesrine, Sonia, baka, ahlem) et mon frère (Saïd) qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.*

*A mes très chères amies (Saleh, chichi, rayene, Salma)*

*Je vous souhaite, à tous bonne continuation, beaucoup de réussite et de bonheur.*

***Saloua***



# *Dédicace*

*Tout d'abord je dédie ce travail aux deux personnes qui m'ont donné la vie,  
l'amour, l'espoir, et tout ce qui est beau, aux deux personnes qui m'ont toujours  
encouragé, à :*

*Ma très chère mère : Saliha*

*Et*

*Mon très cher père : Belgacem*

*A mon frère : Salah Eddine*

*A mes belles-sœurs : Amina , Meriem, Zineb*

*A ma co- promotrice Metrouh Roumaïssa pour votre gentillesse, votre patience  
et disponibilité qui ont constituées un apport considérable sans lequel ce travail  
n'aurait pas pu être réalisé*

*Et bien sûr, à notre chère promotrice Mme Benhadj pour sa grande aide et ses  
conseils et à tous les enseignants qui m'ont accompagné durant mon parcours  
universitaire*

*A ma chef service : Radia zemmal*

*A mes amies : zhour ,saloua , yamina , Khadidja, doha ,Amna ,sabah*

*A tous ceux qui de loin ou de près m'ont aidé à arriver à ce stade*

***Chaima***

# *Dédicace*

*A **Allah** tout puissant qui m'a inspiré et guidé dans le bon chemin, je vous dois ce que je suis devenue louanges et remerciements pour votre clémence et miséricorde.*

*Je dédie ce travail*

*A mon très cher papa **Ramdhan**,  
Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous.  
Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.*

*Que Dieu vous apporte santé, bonheur et longue vie.*

*A ma très chère mère **Samira**,  
A ma très chère mère  
A la plus douce et la plus merveilleuse de toutes les mamans.  
Tu n'as pas cessé de me soutenir et de m'encourager, ton amour et ta présence constante ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.  
Puisse Dieu tout puissant te protéger du mal, te procurer longue vie, santé et bonheur afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois.  
A mes belles sœurs, **NOUR, HALLA, CHAIMA** et **HASNA** Je vous souhaite un futur brillant plein de résolutions et de réussite comme vous le méritez.*

*A mon trinôme : **Saloua et Chaima***

*A mes chers amies et sœurs de notre classe de microbiologie : **yamina, DJAMILA, NADA, RADHIA, DHOHA, ASMA, KHADIDJA, NADJIA, ...** Et dont je n'ai pas cité les noms.*

*A tous ceux que j'aime et qui je respecte : ma promotrice **DR. BENHEDJ MABROUKA** et ma chère Co-promotrice Mlle **METROUH ROUMAÏSSA**.  
Sans oublier tous les professeurs que ce soit ceux du primaire, du moyen, du secondaire, ou de l'enseignement supérieure.*

**Zhour**

## LISTE DES TABLEAUX

| N°        | Titres  | Pages     |
|-----------|---|-----------|
| <b>01</b> | La taxonomie de <i>M. viridis</i>   | <b>06</b> |
| <b>02</b> | La taxonomie d' <i>O. gratissimum</i>   | <b>09</b> |
| <b>03</b> | La taxonomie de <i>Z. officinale</i>  | <b>13</b> |
| <b>04</b> | La taxonomie de <i>C. cyminum</i>   | <b>17</b> |
| <b>05</b> | Données sur les plantes étudiées  | <b>33</b> |
| <b>06</b> | Données des souches étudiées  | <b>39</b> |
| <b>07</b> | Rendements des HEs de quatre plantes étudiées   | <b>49</b> |
| <b>08</b> | Rendements des extraits aqueux de quatre plantes étudiées   | <b>50</b> |
| <b>09</b> | Caractères macroscopiques des souches indicatrices  | <b>51</b> |
| <b>10</b> | Les concentrations minimales inhibitrices des HEs seuls ou combinées contre les souches indicatrices sélectionnées                    | <b>64</b> |
| <b>11</b> | Les concentrations minimales inhibitrices des extraits aqueux seuls ou combinées contre les souches indicatrices sélectionnées        | <b>65</b> |
| <b>12</b> | Diamètres des zones d'inhibition des souches testés vis-à-vis de l'HE combiné et l'extrait combiné par la méthode de micro-Atmosphère | <b>67</b> |
| <b>13</b> | Les concentrations minimales inhibitrices HEs et des ATB contre les souches indicatrices multirésistance aux ATB sélectionnées        | <b>69</b> |
| <b>14</b> | la CMI des HEs combinées avec les ATB contre les souches indicatrices MR sélectionnées  | <b>69</b> |
| <b>15</b> | l'indice de Concentration inhibitrice fractionnaire des HEs combinée avec des ATB contre les souches indicatrices MR sélectionnées    | <b>70</b> |
| <b>16</b> | Diamètres des zones d'inhibition (en mm) des souches testés vis-à-vis de l'HE combiné avec ATB par la méthode de micro-atmosphère.    | <b>72</b> |
| <b>17</b> | Résultats de la CCM des HEs de quatre plantes   | <b>76</b> |
| <b>18</b> | Résultats de la CCM des extraits de quatre plantes  | <b>77</b> |
| <b>19</b> | Résultats du dosage des polyphénols des extraits aqueux de quatre plantes étudiées  | <b>79</b> |
| <b>20</b> | Résultats du dosage des flavonoïdes des extraits aqueux de quatre plantes étudiées  | <b>80</b> |

## LISTE DES FIGURES

| N°        | Titres   | pages     |
|-----------|--|-----------|
| <b>01</b> | L'espèce de <i>Mentha viridis</i>  | <b>08</b> |
| <b>02</b> | L'espèce d' <i>Ocimum gratissimum</i>  | <b>18</b> |
| <b>03</b> | L'espèce de <i>Zingiber officinale</i>   | <b>15</b> |
| <b>04</b> | Schéma descriptif de la Partie aérienne de la plante de <i>Cuminum</i>   | <b>18</b> |
| <b>05</b> | Les organes végétaux contenant des huiles essentielles   | <b>22</b> |
| <b>06</b> | L'hydro-distillation traditionnelle  | <b>23</b> |
| <b>07</b> | Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante.  | <b>24</b> |
| <b>08</b> | Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation sous micro-ondes   | <b>25</b> |
| <b>09</b> | Schéma de principe d'extraction par CO2 supercritique  | <b>28</b> |
| <b>10</b> | Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger   | <b>36</b> |
| <b>11</b> | Appareil d'évaporation "Evaporateur rotatif  | <b>37</b> |
| <b>12</b> | Mise en évidence de l'activité antibactérienne des extraits bioactives des plantes sur milieu MH solide par la méthode des puits | <b>41</b> |
| <b>13</b> | Mise en évidence de l'activité antibactérienne des HEs combinées sur milieu MH solide par la méthode micro-atmosphère            | <b>43</b> |
| <b>14</b> | Echantillon de l'HE de A : <i>C.cuminum</i> , B : <i>O. gratissimum</i> , C : <i>M.viridis</i> , D : <i>Z. officinale</i>        | <b>50</b> |
| <b>15</b> | Photos représentatif de l'aspect macroscopique de quelques souches indicatrices  | <b>52</b> |
| <b>16</b> | photos représentatif de la coloration de Gram de quelques isolats  | <b>53</b> |
| <b>17</b> | L'activité antibactérienne de l'HE <i>M.viridis</i> par la méthode de puits  | <b>55</b> |
| <b>18</b> | L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de <i>M.viridis</i> par la méthode de puits                                       | <b>56</b> |
| <b>19</b> | L'activité antibactérienne de l'HE d' <i>O.gratissimum</i> par la méthode de puits   | <b>57</b> |
| <b>20</b> | L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux d' <i>O.gratissimum</i> par la méthode de puits                                   | <b>58</b> |
| <b>21</b> | L'activité antibactérienne de l'HE de <i>C.cuminum</i> par la méthode de puits   | <b>59</b> |
| <b>22</b> | L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de <i>C.cuminum</i> par la méthode de puits                                       | <b>60</b> |
| <b>23</b> | L'activité antibactérienne de l'HE de <i>Z.officinale</i> par la méthode de puits  | <b>61</b> |
| <b>24</b> | L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de <i>Z.officinale</i> par la méthode de puits                                    | <b>62</b> |
| <b>25</b> | Photos représentatifs de l'activité antimicrobienne des HEs des quatre plantes étudiées contre quelque souches-test              | <b>63</b> |
| <b>26</b> | Photos représentatifs de résultats des CMI dans la microplaque à 96 puits  | <b>65</b> |
| <b>27</b> | Photos représentatif de l'activité antibactérienne des extraits bioactifs combinées contre quelques souches-test                 | <b>68</b> |
| <b>28</b> | activité antibactérienne de HE de <i>Z.officinale</i> et AMP seul et en combinaison contre <i>E.coli</i> MR04                    | <b>72</b> |
| <b>29</b> | Pouvoir réducteur des HEs de quatre plantes étudiées   | <b>73</b> |

|           |   |           |
|-----------|---|-----------|
| <b>30</b> | Pouvoir réducteur des HEs de quatre plantes étudiées  | <b>74</b> |
| <b>31</b> | Résultat de chromatographie sur couche mince <b>A</b> : des HEs, <b>B</b> : des polyphénols, <b>C</b> : des flavonoïdes | <b>75</b> |
| <b>32</b> | courbe d'étalonnage d'acide gallique  | <b>78</b> |
| <b>33</b> | Résultats de dosage des polyphénols des extraits de <i>M.viridis</i> et <i>Z.officinale</i>                             | <b>79</b> |
| <b>34</b> | Courbe d'étalonnage de Quercétine   | <b>80</b> |
| <b>35</b> | Résultats de dosage des flavonoïdes des extraits de <i>M.viridis</i> , <i>C.cyminum</i> et <i>O.gratissimum</i>         | <b>81</b> |

## LISTE DES ABREVIATIONS

**%** : Pourcentage

**°C** : Degrée Celsius.

**Aa** : Absorbance de l'extrait Ab : absorbance du blanc

**AlCl<sub>3</sub>**: Trichlorure d'aluminium.

**ATB** : Antibiotique

**B.N** : Bouillon Nutritif

**C** : Cuminum

**CCM** : Chromatographie sur couche mince.

**CIF** : Détermination de concentrations inhibitrices fractionnaires

**CMI** : Concentration minimale d'inhibition.

**COPRO** : Coproculture des selles

**CPG** : La Chromatographie en Phase Gazeuse

**DO** : Densité optique

**ECBU** : Examen cyto bactériologique des urines

**Fe<sup>2+</sup>** : Fer ferreux

**Fe<sup>3+</sup>** : Le fer ferrique

**G.N** : Gélose Nutritif

**HE** : Huile essentielle.

**HPLC** : Chromatographie liquide a haute performance.

**IR** : La spectroscopie Infrarouge

**M** : Mentha

**M(HE)** : masse de l'huile essentielle

**M(MV)** : masse de matière sèche

**M.H**: Mueller Hinton

**O**: Ocimum

**PAM** : plantes aromatiques et médicinales

**R(%)** : Rendement

**R. M. N** : Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire

**T°**: Température.

**UV** : Ultra-Violet.

**Z** : Zingiber

## Table de matières

ملخص

Abstract

Résumé

Remerciement

Dédicace

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abreviations

Introduction ..... 1

### Partie Bibliographique

#### Chapitre I: les plantes médicinales

I.Généralité ..... 2

II.Définition des plantes médicinales ..... 2

III.Origines des plantes médicinales..... 2

IV.Utilisations des plantes médicinales..... 3

V.Caractéristiques de quelques plantes médicinales ..... 4

1.La famille des *Lamiacées* ..... 4

1.1.Appareil végétatif ..... 4

1.2.Appareil reproducteur ..... 4

**Plante 01 : *Mentha viridis*** ..... 5

I.Définition ..... 5

II.Noms vernaculaires..... 6

III.Origines ..... 6

IV.Description botanique et répartition géographique ..... 7

V.Utilisations de menthe dans la médecine traditionnelle ..... 8

**Plante 02 : *Ocimum gratissimum*** ..... 9

I.Définition ..... 9

II.Noms vernaculaires..... 10

III.Description botanique..... 10

IV.Utilisations de l'*Ocimum* dans la médecine traditionnelle ..... 11

|   |    |
|---|----|
| 2.La famille <i>Zingibéraceae</i> .....                                 | 11 |
| 2.1.Appareil végétatif .....  | 12 |
| 2.2.Appareil reproducteur.....  | 12 |
| <b>Plante 01: <i>Zingiber officinale</i></b> .....                      | 13 |
| I.Définition .....  | 13 |
| II.Noms vernaculaires.....  | 14 |
| III.Origine.....  | 14 |
| IV.Description botanique.....   | 14 |
| V.Utilisations de <i>Zingiber</i> dans la médecine traditionnelle ..... | 15 |
| 3. La famille <i>Apiaceae</i> .....                                     | 15 |
| 3.1.Description botanique.....  | 16 |
| <b>Plante 01 : <i>Cuminum cyminum</i></b> .....                         | 17 |
| I.Définition .....  | 17 |
| II.Nom vernaculaire.....  | 17 |
| III.Description botanique et Répartition géographique .....             | 18 |
| IV.Utilisations de <i>Cumin</i> dans la médecine traditionnelle .....   | 19 |
| <b>Chapitre II:Les extraits bioactifs</b>                               |    |
| I.Les huiles essentielles .....   | 21 |
| 1. Définition.....  | 21 |
| 2.Source naturelle d'huiles essentielles .....                          | 21 |
| 3.Méthodes d'extraction des huiles essentielles .....                   | 22 |
| 3.1.Hydro-distillation ou distillation à l'eau.....                     | 22 |
| 3.2.Extraction par expression à froid.....                              | 24 |
| 3.3.Extraction par micro-ondes .....                                    | 24 |
| 4.Activité biologique .....   | 25 |
| 4.1.Activité antibactérienne.....                                       | 25 |
| 4.2.Activité antioxydant .....  | 26 |
| 5.Utilisations des huiles essentielles.....                             | 26 |
| II.Les extraits .....   | 27 |
| 1.Les méthodes d'extraction des extraits d'origine Végétale.....        | 27 |
| 1.1.Extraction par les solvants organiques .....                        | 27 |
| 1.2.Extraction par le CO2 .....   | 27 |



|  |    |
|--|----|
| 2.Les Principaux composants des extraits .....   | 28 |
| III. Les méthodes de détermination de la composition des extrais bioactifs d'origines végétale ..... | 30 |
| 1. La chromatographie sur couche mince (CCM) .....   | 30 |
| 2. La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) .....   | 30 |
| 3. La chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) .....                                       | 30 |
| 4.La spectroscopie Infrarouge (IR) .....   | 30 |
| 5.Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (R. M. N) .....                                    | 31 |

## **Partie Expérimentale**

### **Matériels et méthodes**

|  |    |
|--|----|
| I.Objectif.....  | 32 |
| II.Matériels d'étude .....                             | 32 |
| 1.Matériel Végétal .....                               | 32 |
| 2. Milieux de cultures .....                           | 34 |
| 3. Appareillage.....                                   | 34 |
| III.Méthodes de travail .....                          | 34 |
| 1.Questionnaire.....                                   | 34 |
| 2.Extraction des extraites bioactives .....            | 35 |
| 2.1.Extraction des HEs .....                           | 35 |
| 2.1.1.Principe de l'hydrodistillation .....            | 35 |
| 2.1.2Protocole.....                                    | 35 |
| 2.2Extraction des extraits aqueux par décoction .....  | 36 |
| 3.Activité antibactérienne .....                       | 38 |
| 3.1.Souches indicatrices .....                         | 38 |
| 3.1.1.Revivification des isolats.....                  | 38 |
| 3.1.2.Purification .....                               | 38 |
| 3.1.3.Conservation.....                                | 40 |
| 3.2.Recherche de l'activité antibactérienne.....       | 40 |
| 3.2.1.Préparation de la suspension bactérienne .....   | 40 |
| 3.2.2.Technique de diffusion en puits.....             | 40 |
| 3.3..Etude de la Synergie des extraits bioactifs ..... | 41 |
| 3.3.1.Etude de la synergie des HEs .....               | 41 |

|   |    |
|---|----|
| 3.3.1.1.Détermination de concentrations inhibitrices fractionnaires (CIF) .....                               | 41 |
| 3.3.1.2.Application de la méthode micro-atmosphère.....   | 42 |
| 3.3.2.Etude de la synergie des extraits bioactifs .....   | 43 |
| 3.3.3.Etude de la synergie entre les HEs et les antibiotiques .....   | 43 |
| 4.Activité antioxydant .....  | 44 |
| 5.Détection de la composition des extraits bioactifs .....  | 44 |
| 5.1.Détermination de la composition par la chromatographie sur couche mince (CCM) ....                        | 44 |
| 5.1.1.Principe.....   | 45 |
| 5.1.2.Mode opératoire.....  | 45 |
| 5.2.Détection de la présence des composés polyphénoliques et des flavonoïdes dans les<br>extraits aqueux..... | 46 |
| 5.2.1.Dosage des composés polyphénoliques .....   | 46 |
| 5.2.1.1.Principe.....   | 46 |
| 5.2.1.2.Protocole.....  | 46 |
| 5.2.2.Dosage de flavonoïdes totaux.....   | 46 |
| 5.2.2.1.Principe.....   | 47 |
| 5.2.2.2.Protocole.....  | 47 |
| <b>Résultats et discussion</b>  |    |
| I.Extraction des extraits bioactifs .....   | 49 |
| II.Activité antibactérienne .....   | 51 |
| 1. Souches indicatrices .....   | 51 |
| 2. Activité antibactérienne.....  | 53 |
| 2.1.Activité antibactérienne de <i>M.viridis</i> .....  | 54 |
| 2.2.Activité antibactérienne d' <i>O.gratissimum</i> .....  | 56 |
| 2.3.Activité antibactérienne de <i>C.cyminum</i> .....  | 59 |
| 2.4.Activité antibactérienne de <i>Z.officinale</i> .....   | 59 |
| III.Etude de la synergie.....   | 64 |
| 1. Etude de la synergie des extraits bioactifs.....   | 64 |
| 1.1.Détermination de la CMI et CIF .....  | 64 |
| 1.2.Méthode de Micro-atmosphère.....  | 66 |
| 2.Etude de la synergie des HEs et des ATB .....   | 68 |
| 2.1.Détermination de la CMI et CIF.....   | 69 |

|   |    |
|---|----|
| 2.2.Méthode de Micro-atmosphère.....                            | 71 |
| IV.Activité antioxydante .....                                  | 72 |
| V.Détermination de la composition des extraits bioactifs .....  | 74 |
| 1. Criblage chromatographique des composées .....               | 74 |
| 2.Dosage des composés poly-phénoliques et des flavonoïdes ..... | 78 |
| <b>Conclusion</b> .....   | 82 |

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**

# ***Introduction***

## Introduction

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20ème siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (**Yano et al., 2006**). Récemment, l'attention s'est portée sur les herbes et les épices comme source d'antioxydants, qui peuvent être employés pour se protéger contre les effets du stress oxydant (**Mata et al., 2007**)

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Aourahoum et al., 2013**). Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie ; Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (**Kurhara et Kikuchi, 1980**).

Les huiles essentielles présentent également un intérêt scientifique en plus de celui économique ; en témoignent le nombre de publications rencontrées à ce sujet, dans la littérature et le nombre d'espèces végétales dont les essences sont commercialisées. L'intérêt scientifique et économique des essences naturelles réside par ailleurs, dans le fait que l'investigation systématique des plantes aromatiques procure souvent de nouvelles molécules, qui servent de modèles pour la synthèse industrielle d'analogues structuraux (**Iatreche, 2021**)

Dans ce cadre, ce travail est subdivisé en deux parties principales:

- ✚ La première concerne une synthèse bibliographique partagée en deux chapitres, le premier illustre les plantes médicinales et les familles des plantes étudiées et la description botanique et la répartition géographique des plantes étudiées ainsi que ses vertus thérapeutiques. La deuxième chapitre traite les extraits bioactives des plantes et les antibactériens, les antioxydants.
- ✚ La deuxième partie de ce travail est consacrée au travail expérimental proprement dit et comprend deux parties: matériel et méthodes ou sont détaillés l'extraction, et l'évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydants, les dosages des composés phénoliques plus la Synergie des extraits bioactif Puis la partie résultats et discussion est dédiée à l'illustration et la discussion des différents résultats obtenus.

# Partie Bibliographique



# *Chapitre I*

*les plantes médicinales*

## I. Généralité

Depuis des milliers d'années, l'homme a su exploiter les ressources naturelles qui l'entouraient pour se protéger, se nourrir et se soigner. Parmi ces ressources les plantes, à la raison de la coexistent depuis longtemps de l'homme et les plantes, il s'est habitué à consommer diverses espèces de plantes qu'il apprécie tant pour leurs qualités gustatives et nutritionnelles, que pour leurs qualités médicinales. Il a pu établir le lien en consommant des fruits, des herbes et des feuilles et en observant leurs effets, et ainsi, sans avoir d'explication scientifique au préalable, il a progressivement identifié les propriétés curatives et/ou toxiques des plantes.

Par conséquence, les plantes médicinales sont utilisées en croissance dans la plupart des pays du monde. Cette utilisation est principalement fondée sur l'idée que les plantes sont un moyen naturel de traitement de tout risque.

## II. Définition des plantes médicinales

Plusieurs définitions ont été données aux plantes aromatiques et médicinales (PAM) (**Farnsworth et al., 1986**). La Pharmacopée française, définit les plantes médicinales comme "des drogues végétales qui peuvent être utilisées entières ou sous forme d'une partie de plante et qui possèdent des propriétés médicamenteuses". En outre, Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine ou animale. Elle est utilisée sous différentes formes après l'extraction de sa /ses molécules bioactives à titre d'exemple par décoction, macération, infusion à partir d'une ou plusieurs de ses parties (racine, rhizome, feuilles, fleurs, etc.) (**Baran, 2000**).

Les plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques (**Chabrier, 2010**).

## III. Origines des plantes médicinales

Il existe deux origines à la fois. En premier lieu, les plantes spontanées dites "sauvages" ou "de cueillette" puis, en second, les plantes cultivées.



### ➤ Les plantes spontanées

Ce sont des plantes difficiles ou impossibles de les cultiver (**Bezanger et al., 1986**). Elles furent les seules utilisées autrefois et représentent encore aujourd'hui un pourcentage notable du marché. Leur répartition est déterminée par le sol et, surtout, par le climat ; les semis poussent plus efficacement et naturellement dans le sol qui est le plus propice à leur croissance. Les différents éléments climatiques vont également permettre un développement plus ou moins avancé de la jeune plante (**Chabrier, 2010**).

### ➤ Les plantes cultivées

La culture des plantes élimine ces inconvénients. Il assure un approvisionnement adéquat en matière première uniforme en termes d'apparence et de composition chimique. Selon les exigences médicales, elle peut être renforcée ou non. Naturellement, la culture doit se dérouler dans les meilleures conditions possibles, en tenant compte de facteurs tels que les races chimiques, entre autres (**Bezanger-Beauquesne et al., 1986**).

## IV. Utilisations des plantes médicinales

Les plantes ont un rôle essentiel dans la vie traditionnelle et sont largement utilisées dans une variété de disciplines, y compris la phytothérapie, l'une des voies créatives les plus anciennes. C'est plutôt la façon dont les humains ont utilisé les plantes à des fins médicinales pendant des siècles, voire des milliers d'années, partout dans le monde.

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques: *phuton* et *therapeia* qui signifient respectivement "plante" et "traitement". La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe (**Wichtl et al., 2003**). La phytothérapie est moins chère que la médecine orthodoxe. Le coût de cette dernière est augmenté par la technologie de santé moderne, qui dans beaucoup de cas est inappropriée, inapplicable aux besoins immédiats des habitants des pays en voie de développement (**Chaachouay, 2020**).

En effet, les plantes médicinales sont appliquées dans autre divers domaines tels que les boissons hygiéniques, usages cosmétiques, aromatiques, agroalimentaires, industriels,

médicinales et surtout dans le domaine de la pharmacologie par la synthèse des médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs à l'aide de leurs propriétés biologiques (**Laghouti *al.*, 2020**). Les plantes sont également utilisées pour leur propriété antimicrobienne (**Mehalaine, 2018**). Cependant, en tant que sources de médicaments, les plantes restent encore sous exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale.

## V. Caractéristiques de quelques plantes médicinales

### 1. La famille des *Lamiacées*

La famille des *Lamiacées* (*lamiaceae*), dénommée aussi *Labiées*, regroupe des plantes herbacées et sous-arbustes répartis dans le monde entier. Cette famille compte 6500 espèces et quelques 200 genres très diversifiés qui caractérisent les climats de type méditerranéen. C'est une famille très homogène : une *Lamiaceae* est facile à reconnaître (**Fernandez *et al.*, 2014**).

Dans cette famille, un même nom vernaculaire fait souvent référence à un très grand nombre d'espèces appartenant toutes au même genre, comme par exemple pour les menthes, les lavandes ou les basilics. Un bon nombre de ces espèces sont des plantes médicinales. Du point de vue chimique, cette famille a fait l'objet d'intenses investigations particulièrement sur les *Ocimum* (**Dupont et Guignard, 2012**).

Elle caractérise par :

#### 1.1. Appareil végétatif

- Ce sont des plantes à essence dont l'odeur dégage par simple attouchement des feuilles ou des tiges. Se caractérisent par une formation intense des huiles essentielles (HEs), en effet, ces derniers se forment dans des poils à essence et se localisent à l'extérieur sous la cuticule qui se soulève (**fernandez *et al.*, 2014**).
- Leurs tiges sont quadrangulaires généralement ligneuses à leur base et très ramifiées.
- Se caractérisent par des feuilles sont pétiolées et opposées.

#### 1.2. Appareil reproducteur

L'appareil reproducteur des PAM appartenant à cette famille se distingue par :

- **Les inflorescences** : situées à l'aisselle des feuilles supérieures, sont toutes de type cyme ; d'abord bipares, puis unipares par manque de place. Elles sont fréquemment condensées en glomérules et, souvent, simulent autour de la tige un verticille de fleurs (**Dupont et Guignard, 2012**).
- **Les fleurs** sont irrégulières selon **Dupont et Guignard(2012)**;
  - ✓ La corolle est souvent à deux lèvres, d'où le nom de Labiées donné à cette famille. Ce nom provient du latin labium signifiant «lèvre» du fait de la forme des fleurs dont les cinq sépales soudés entre eux forment un calice bilabié.
  - ✓ L'androcée possède 4 ou 2 étamines soudées à la corolle, mais on trouve chez quelques rares Lamiacées tropicales une cinquième étamine (la supérieure) et, quelques genres dont les Sauges, le Romarin, n'ont plus que deux étamines.
  - ✓ Le gynécée comporte deux carpelles soudés qui se subdivisent chacun par une fausse cloison en deux demi-loges, chacune contenant un ovule.
- **Le fruit** : est un tétrakène logé au fond d'un calice persistant, chaque demi-carpelle donnant naissance à un akène élémentaire (**Dupont et Guignard, 2012**).

## Plante 01 : *Mentha viridis*

### I. Définition

*M. viridis* est l'une des plus anciennes plantes médicinales connues : les archéologues ont découvert ses feuilles dans des pyramides d'Égypte vieilles de 3 000 ans (**Benayad, 2008**). Ces essences, autant qu'elles sont faciles à reconnaître à leur odeur tout à fait caractéristique, autant elles sont difficiles à distinguer les unes des autres, en raison des formes intermédiaires, d'origine hybride, qui les relie. Parmi toutes les *Lamiacées*, les menthes se reconnaissent, en plus de leur odeur spéciale, à leurs fleurs très petites, à leurs corolles presque régulières à quatre lobes presque égaux et leurs quatre étamines également presque égales (**Benayad, 2008**).

Le **tableau n°01** illustre la classification de la plante *M. viridis* l'une des plantes représentatif de la famille *Lamiacées* et employé dans notre étude.

**Tableau n°01** : La taxonomie de *M. viridis* selon (Judd et al., 1999)

|                    |                      |
|--------------------|----------------------|
| Règne              | <i>Plantae</i>       |
| Embranchement      | <i>Spermaphyte</i>   |
| Sous-embranchement | <i>Angiosperme</i>   |
| Classe             | <i>Dicotylédones</i> |
| Sous-Classe        | <i>Gamopétale</i>    |
| Ordre              | <i>Lamiales</i>      |
| Famille            | <i>Lamiaceae</i>     |
| Genre              | <i>Mentha</i>        |
| Espèce             | <i>Menthaviridis</i> |

## II. Noms vernaculaires

- Nom commun : menthe verte, menthe douce, menthe chewing-gum, menthe des jardins, menthe romaine, menthe sauvage, baume vert, menthe dite "nanha" (Pauline, 2015).
- Nom botanique : *Mentha spicata* L., *Mentha viridis* L.
- Nom anglais : spearmint, green-mint
- Nom allemand : grüne-minze, Marokkanische Minze
- Nom espagnol : Yerba (Hierba) buenaverde
- Nom italien : Mentaverde, Mentaromana (Fournier, 1999).

## III. Origines

Les origines de la menthe sont encore bien imprécises, la zone géographique de départ étant un des rares faits où les auteurs se retrouvent : elle viendrait d'une vaste région englobant le nord de l'Afrique, le bassin méditerranéen, l'Europe et le proche-orient. Elle est aujourd'hui retrouvée partout dans le monde, d'ailleurs elle est parfois considérée

comme envahissante. La diversité des sols et les multiplications ont donné de nombreuses espèces, certaines études ont d'ailleurs montré que *Mentha spicata* serait le résultat d'une hybridation entre *Mentha longifolia* et *Mentha suaveolens*. Les origines de la *Mentha spicata* sont incertaines. Selon certains botanistes, elle serait le résultat d'une hybridation très ancienne entre *Mentha rotundifolia* et *Mentha longifolia*. Il semblerait que la menthe verte soit originaire de l'Amérique du nord (Carlier-Loy, 2015).

#### IV. Description botanique et répartition géographique

*M. viridis* est une plante herbacée vivace stolonifère de 60 cm à 1 m de haut (Figure n°01). Elle se caractérise par une tige carrée verte à grisâtre, ses feuilles sont lancéolées à bord en dent de scie, disposées de façon opposée, sessile, glabres ou velues, possédant une odeur très aromatique de 5 à 9 cm de longueur et de 1.5 à 3 cm de largeur (Sennoussi, 2015). Ses fleurs sont de couleur rose ou blanche en épis minces et tubulaires à 4 lobes, et un fruit tétrakène à 4 graines (Bensabah et al., 2013).

Dans le monde, La plupart des menthes sont originaires de l'Europe et de l'Asie. Cependant, en suivant les flux de migration, les menthes sont présentes sur la quasi-totalité des continents (Tucker et Naczi, 2007). Elles sont cultivées en Europe (France, Italie, ...), en Asie (Chine, Turquie, Japon, Inde, Pakistan, ...), en Afrique du Nord (Algérie, Maroc, ...) (Perrot, 1928), en Amérique du Nord (États-Unis, Canada), en Australie, en Nouvelle-Zélande et en Russie (Lachance, 2001).

En Algérie, On retrouve plusieurs variétés de menthes (environ 20 espèces), cultivées ou spontanées, les plus connues et utilisées sont la menthe verte, la menthe aquatique et la menthe pouliot (Baba Aissa, 1999 ; El Fadl et Chtaina, 2010). Ces différentes espèces sont toutes caractérisées par une tige carrée et des feuilles opposées et dentées, très odoriférantes en raison de l'HE qu'elles contiennent (Benayad, 2008).



**Figure n°01 : L'espèce de *Mentha viridis* (Lepage val de Loire, 2016)**

#### **V. Utilisations de menthe dans la médecine traditionnelle**

*M. viridis*. est la plus ancienne herbe médicinale (Nanekarani et al., 2012). Grâce à ses propriétés thérapeutiques (antifongique, antivirale, antimicrobienne, insecticide, antioxydant...), spécialement les feuilles de cette plante ont été utilisées traditionnellement pour le traitement de plusieurs maladies (Soysal, 2005 ; Brahmi et al., 2012).

Dans le domaine pharmaceutique elle peut être employée comme traitement de ;

- Troubles digestifs : efficace en cas de constipation ou de diarrhée.
- Troubles urinaires : effet diurétique.
- Toux et rhume : apaisante.
- Antidouleur : douleurs articulaires, musculaires et maux de tête.
- Problèmes respiratoires : efficace contre les affections similaires aux bronchites
- Contre des affections de la peau : soulage les douleurs liées aux piqûres d'insectes et d'animaux et prévient la formation de crevasses (Menad et Dali, 2017).

**Plante 02 : *Ocimum gratissimum*****I. Définition**

*O. gratissimum* est une plante médicinale aromatique appartenant à la famille des *Lamiacées*. C'est une plante médicinale à base de plantes importante non seulement dans les communautés du Kenya mais aussi en Afrique subsaharienne. (Kokwaro, 1993). Plusieurs espèces et variétés de plantes du genre *Ocimum* ont été signalées comme produisant de l'huile de nature diverse, communément appelée huiles de basilic. (Craveiro et al., 1981) ont rapporté certains composés chimiques et ingrédients actifs trouvés dans ces plantes tels que l'eugénol, le linalol, le cinnamate de méthyle, le camphre et le thymol. Diverses espèces d'*Ocimum* ont été signalées pour leurs nombreux usages médicaux (Mshana et al., 2000).

Le **tableau n°02** illustre la classification de la plante *O. gratissimum* l'une des plantes représentatif de la famille *Lamiacées* et employé dans notre étude.

**Tableau n°02** : La taxonomie de *O. gratissimum* selon (Vieira et al., 2001)

|          |                           |
|----------|---------------------------|
| Règne    | <i>Plantae</i>            |
| Division | <i>Magnoliophyta</i>      |
| Classe   | <i>Magnoliopsida</i>      |
| Ordre    | <i>Lamiales</i>           |
| Famille  | <i>Lamiaceae</i>          |
| Genre    | <i>Ocimum</i>             |
| Espèce   | <i>Ocimum gratissimum</i> |

## II. Noms vernaculaires

Selon (Zinsou, *et al.*, 2015) ; le *O. gratissimum* comprend ;

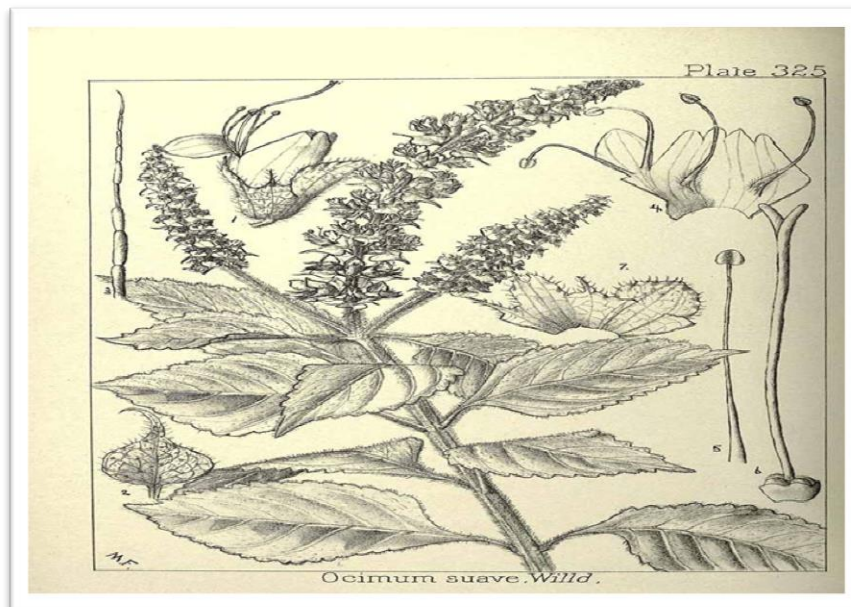
- Nom usuel : Gros basilic
- Nom en langues nationales du Bénin :Fon: Tchayo, Yoruba: Simonua, Mina: Esuru.

## III. Description botanique

*O.gratissimum* est une plante annuelle aromatique mentholée de 20 à 60 cm de haut, et peut atteindre une hauteur de 60 à 90 cm et a un port dressé et branchu. La hauteur et le port de la plante ainsi que la couleur des feuilles et des fleurs varient énormément d'une variété à l'autre; à feuilles ovales-lancéolées, atteignant 2 à 3 cm, elles sont lisses et vert clair, vert pâle à vert foncé et parfois pourpre violet chez certaines variétés. (Athamena, 2010).Elles sont entières ou dentés, opposés sur la tige ové dans la forme (**Figure n°02**).

Les fleurs bilabiées, petites et blanches, ont la lèvre supérieure découpée en quatre lobes. Elles sont de petite taille et groupées en longs épis tubulaires, en forme de grappes allongées.

Les tiges dressées, ramifiées, ont une section carrée comme beaucoup de labiées, elles ont tendance à devenir ligneuses et touffues (Athamena, 2010).



**Figure n°02** : L'espèce d'*Ocimum gratissimum* (Athamena, 2010)



#### IV. Utilisations de l'*Ocimum* dans la médecine traditionnelle

Le basilic tropical (*O.gratissimum L.*) est une plante aromatique de la famille des *Lamiaceae* (Orwa et al., 2009). Ses propriétés médicinales et thérapeutiques sont bien documentées (Prabhu et al., 2009 ; Kpètèhoto et al., 2017). Il est utilisé en médecine traditionnelle sous forme d'infusion ou de décoction pour traiter de nombreuses affections.

Leurs utilisation dans le domaine pharmaceutique est principalement consacrées sur ;

- Les feuilles triturées dans la paume de la main sont inhalées pour déboucher les narines
- Elles sont également utilisées contre les douleurs abdominales
- L'irritation des yeux et les infections des oreilles
- Contre la toux, la stérilité et la fièvre, contre les convulsions
- Le gargarisme dentaire, pour la régulation de la menstruation et comme un remède contre le prolapsus du rectum.

#### 2. La famille *Zingiberaceae*

Les *Zingiberaceae* (*Zingibéracées*) sont une famille de plantes à fleurs (angiosperme) monocotylédones (Maarten et al., 2016). Ce sont des plantes épicées aromatiques, à cellules sécrétrices dispersées contenant des HEs, divers terpènes et composés phénylpropanoïdes (Judd et al., 2002), des régions tropicales ; certaines renferment aussi des matières colorantes (Pelt, 1999). Le terme *Zingibéracées* a pour origine le mot latin *zingiber* qui signifie gingembre.

Cette famille englobe 1500 espèces environ presque toutes intertropicales, répandues surtout dans les régions orientales, peu nombreuses en Amérique, et regroupées en 50 genres environ (Grugeau, 1995).

Ce sont des plantes herbacées par des rhizomes qui prennent souvent la forme de bulbes. Elle caractérise par :

## 2.1. Appareil végétatif

Ce sont des herbes caulinaires de grande taille, vivaces par un rhizome ramifié donnant chaque année plusieurs tiges aériennes.

Le "rhizome" est une tige souterraine présentant des nodosités, des racines adventives. Il est épais, ramifié et aromatique car le parenchyme contient des HEs. Il y a également des racines cylindriques dont la structure interne est différente de celle du rhizome. C'est un réservoir d'énergie pour la plante (**Angèle, 2017**).

Chaque tige porte de nombreuses feuilles distiques, les inférieures réduites à leur gaine, les supérieures étant complètes avec une gaine et un limbe, ainsi qu'une ligule à la jonction de la gaine et du limbe (**Bouzabata et Nihed, 2013**).

## 2.2. Appareil reproducteur

Les inflorescences sont terminales, disposées sur des pseudo-tiges ou sur des pédoncules aphyllés émergeant directement du rhizome. Ce sont des capitules, des cymes, des racèmes, ou sont plus rarement réduites à une fleur solitaire. Bractées et bractéoles sont habituellement présentes, et sont parfois très colorées.

Les fleurs trimères pédonculées sont de formes et de coloris variés, zygomorphes ou irrégulières. Elles sont recouvertes mais non complètement par une pré-feuille ;

- Le périanthe possède deux verticilles avec trois sépales qui se réunissent de façon tubulaire, ce tube formé est fendu à l'arrière. Cela donnera ensuite le calice qui est brièvement trilobé.
- Les sacs polliniques sont contigus, parallèles. La pollinisation se fait par ornithogamie, ce sont les oiseaux ou parfois les chauves-souris qui disséminent les spores.
- Le gynécée possède trois carpelles avec, au-dessus, un style filiforme qui se trouve dans la gouttière de l'étamine fertile, est également présent un stigmate infundibulaire souvent cilié à l'apex. (**Fournet, 1978 ; Devendeville, 2009**).

**Plante 01: *Zingiber officinale*****I. Définition**

Le gingembre "*Zingiber officinale*" est une plante a valeur médicinale marquante dont on distingue le gingembre gris au rhizome sec a l'air ,le gingembre lisse a surface lisse car il a subi auparavant un grattage des couches externes et parfois aussi un blanchiment a la chaux , le gingembre préparé , le gingembre confit et le gingembre poudre .On trouve aussi de plus en plus souvent dans le commerce du gingembre frais .la racine est fibreuse et granuleuse à odeur aromatique et piquante( **Faivre et al., 2006**).

Le **tableau n° 03** illustre la classification de la plante *Z. officinale* la planta représentatif de la famille *Zingibéraceae* employé dans notre étude.

**Tableau n°03** : La taxonomie de *Z. officinale* selon (**faivre et al.,2006 ; Gijon, 2012**)

|                       |  |
|-----------------------|--|
| <b>Règne</b>          | <i>Plantae</i>                         |
| <b>Sous-règne</b>     | <i>Trachéobionta</i>                   |
| <b>Super division</b> | <i>Spermatophytes</i>                  |
| <b>Division</b>       | <i>Magnoliophyta (Angiospermes)</i>    |
| <b>Classe</b>         | <i>Liliopsida (ou Monocotylédones)</i> |
| <b>Sous –classe</b>   | <i>Zingibéridae</i>                    |
| <b>Ordre</b>          | <i>Zingibérales</i>                    |
| <b>Famille</b>        | <i>Zingibéracées</i>                   |
| <b>Sous –Famille</b>  | <i>Zingibéroïdées</i>                  |
| <b>Genre</b>          | <i>Zingiber</i>                        |
| <b>Espèce</b>         | <i>Zingiber officinale Roscoe</i>      |

## II. Noms vernaculaires

- Nom scientifique : *Zingiber officinale Roscoe* (**Benzie et Wachtel-Galor, 2011**)
- Nom anglais : Ginger
- Nom français : Gingembre
- Nom arabe : Zangabil( زنجبيل ) (**Foine, 2017**)
- Nom grec : Zingiberis
- Nom latin : Zingiberi (**Meinertzhagen, 2006**)
- Nom sanskrit (langue indo-européenne) : Singabera (**Foine, 2017**)
- Nom Chinoise : Sheng jiang (**Iserin, 2001**)

## III. Origines

La culture du gingembre est connue pour être originaire de chine ,qui s’est ensuite étendue à L’Inde , à L’Asie du Sud-est , à l’Afrique de L’ouest et aux Caraïbes , Cinquante pour cent de la production mondiale , de gingembre l’usage médicinal du gingembre est bien connu en Inde , et dans ses pays, voisins depuis plus de 2000 ans comme l’une des plantes médicinales les plus polyvalentes (**Gupta et Sharma, 2014**).

Est en Inde, dont Certains rapports Suggèrent, que les conditions climatiques d’Orissa, du Bengale occidental, des États du Nord-est et du Kerala sont plus propices à la croissance du gingembre (**Gupta et Sharma, 2014**).

## IV. Description botanique

Le gingembre est une plante vivace tropicale herbacée annuelle, à porte de roseau, qui mesure jusqu'à 3 m de haut. Son rhizome est nouveau et parfumé, avec une peau beige pâle et une chair jaune pâle Juteuse et parfumée (**Figure n°03**).

Il devient de plus en plus Fibreux avec l’âge , couvert de Feuilles écailleuses et pourvu a sa partie inférieure de racines cylindriques .Ses Feuilles sont persistantes bisériées , longues , étroites , Lancéolées , pointues et longues de 20cm.Cette plante possède deux sortes de tiges à savoir de tiges hautes stériles servant à l’assimilation chlorophyllienne et des tiges plus courtes ( 20 cm environ ) portant des Fleurs irrégulières en épi (**Faivre et al., 2006**).

Le gingembre à des Fleurs parfumées d'une couleur blanche \_ jaune, avec des traînées rouges sur les lèvres. La Floraison à lieu entre les mois d'août et novembre .Ses Fruits sont des capsules trivalves contenant des graines noires (**Faivre et al., 2006**).



**Figure n° 03:** L'espèce de *Zingiber officinale* (**Roscoe, 1807**)

### V. Utilisations de *Zingiber* dans la médecine traditionnelle

*Z. Officinale* est une plante médicinale qui a été largement utilisés dans les médicaments à base de plantes Chinoises partout dans le monde depuis l'Antiquité , pour un large éventail de maladies non liées qui incluent l'arthrite , les rhumatismes ,les entorses ,des douleurs musculaire ,des douleurs des maux de gorge ,des crampes , la constipation , l'indigestion ,les vomissement, l'hypertension , la fièvre ,les maladies infectieuses et les helminthiases (**Ghayur et Gilani, 2005 ; Ali et al., 2008**).

### 3. La famille *Apiaceae*

Les *Apiaceae* ont été largement étudiées, en raison notamment de leur importance économique, de nombreuses espèces étant utilisées dans l'alimentation. Citons par exemple *Anethum graveolens*, *Anthriscus cerefolium*, *Apium graveolens*, *Carum carvi*,

*Coriandrum sativum*, *Cuminum cyminum*, *Daucus carota*, *Foeniculum vulgare*, *Pastinaca sativa*, *Petroselinum crispum* ou encore *Pimpinella anisum*. Les *Apiaceae* sont également fréquemment utilisées en médecine traditionnelle pour certaines propriétés thérapeutiques. La diversité de leurs activités pharmacologiques, avec notamment une activité cytotoxique reconnue chez *Aethusa cynapium*, *Conium maculatum*, *Cicutavivida* ou *Oenanthe crocata*, ont suscité des recherches phytochimiques intensives .

### 3.1. Description botanique

Les *Apiaceae* sont généralement plante herbacée annuelle, bisannuelle ou vivace (Botineau, 2010). La famille a également des arbres et des arbustes.

- **La Tige** ; est creux et mène à l'extérieur des rainures dans le sens de la longueur. Les tiges sont creuses entre les nœuds et sont souvent striées dans le sens de la longueur (Quézel et Santa, 1963).
- **Les Feuilles** ; alternes divisées, pétioles élargis à leurs bases (Quézel et Santa, 1963). Ils sont alternes, sans stipules, et se composent souvent de brochures finement perforées Les feuilles des *Apiaceae* sont généralement composées, parfois simples, normalement alternes; elles ont parfois un air de fougère. Ces feuilles s'élargissent à leur base en une gaine enserrant la tige avec des feuilles divisées et indivisées.
  - ✓ **Les Feuilles indivisées**
    - a) marge entière ou dentée ou crénelée
    - b) lobées: feuilles dont l'échancrure n'atteint pas le milieu de chaque moitié du limbe
    - c) peltées: feuilles dont le pétiole est fixé approximativement au centre du limbe
    - d) palmées: feuilles dont la marge est découpée par des sinus qui n'atteignent pas la nervure principale de chaque lobe
  - ✓ **Feuilles divisées**: découpées une ou plusieurs fois jusqu' au rachis ou jusqu'à nervure principale.
    - a) **Pennées**: les segments, supérieurs à 3, ont le contour généralement allongé
    - b) **Ternées**: les segments, au nombre de 3, sont encore divisés une ou Deux fois, en troisparties.

**Plante 01 : *Cuminum cyminum*****I. Définition**

Le cumin est une petite plante annuelle, originaire du Turkestan, d'où elle fut rapidement propagée dans l'ensemble des pays méditerranéens puis jusqu'en Amérique latine (**Boullard, 2001**). Epice et plante médicinale très populaire dans l'Égypte ancienne, le cumin était prescrit contre les affections digestives et respiratoires, ainsi que pour soigner les caries dentaires. Le fruit du cumin est un ingrédient essentiel dans de nombreux mélanges d'épices : baharat arabe, poudre de curry Indienne, pâte de curry Thaïlandaise et condiment cajun (**Bremness, 2002**).

Le **tableau n° 04** illustre la classification de la plante *C.cyminum* la plante représentatif de la famille *Apiaceae* employé dans notre étude.

**Tableau n°04** : La taxonomie de *C.cyminum* selon (**Acimovic et al., 2015**)

|               |                        |
|---------------|------------------------|
| Règne         | <i>Plantae</i>         |
| Embranchement | <i>Spermaphyte</i>     |
| Classe        | <i>Dicotyledones</i>   |
| Ordre         | <i>Apiales</i>         |
| Famille       | <i>Apiaceae</i>        |
| Genre         | <i>Cuminum</i>         |
| Espèce        | <i>Cuminum cyminum</i> |

**II. Nom vernaculaire**

- Nom scientifique : *Cuminum cyminum* L.
- Synonymes : Cummin, green cumin
- Nom vernaculaire : kammoun
- Nom anglais :cumin

- Noms communs : cumin, anis âcre (Minakshi et al., 2003)

### III. Description botanique et Répartition géographique

Le *C. cyminum* est une plante mince (Figure n°04), herbacée, glabre, et annuelle. elle peut atteindre une hauteur de 20 jusqu'à 60cm (Singhe et al., 2017). Elle possède des feuilles vertes parfumées et des racines effilées ; finement divisées palmatiséquées à lanières longuement filiforme et des petites fleurs, 3 à 5 par ombellules ayant une couleur blanche ou rose (Behera et al., 2004). Le fruit du *C. cyminum* est un schizocarpe possédant une forme ovale ou fusiforme, de couleur brun clair ou grisâtre. Contenant deux méricarpes avec une seule graine; d'une odeur aromatique et un goût épicé et amer (sahara et al., 2011). D'une longueur comprise entre 5 et 6 mm, hérissés de longue soies dressées; la graine de *C. cyminum* est vert clair à gris brunâtre et de forme allongée portant 9 arêtes et 9 canaux sécréteurs (Acimovic et al., 2015). Sa culture et sa récolte sont assez simple, la floraison a lieu dans les premiers jours de Mai, et le fruit mûrit en juin. On coupe la plante à ras de terre, et on la suspend dans un lieu aéré, où la maturation s'achève ; si l'on attend que la graine soit complètement mûre, on s'exposerait à en perdre une partie. On n'effectue le battage que lorsque la plante est sèche (Divacara et al., 2013).



**Figure n°04** : Schéma descriptif de la Partie aérienne de la plante de *Cuminum* (Shivakumar et al., 2010).



Dans le monde, utiliser depuis des millénaires, le *C. Cuminum* est une épice ancestrale, se référant près de 5000 ans à l'ancienne civilisation égyptienne, où elle a été utilisée à la fois comme une épice et un conservateur dans la momification. Le monde occidental a appris à le connaître comme une épice d'Iran, le nom cumin a ses racines dans le mot Kerman, une ville en Iran autour de laquelle elle a été largement cultivé (**Divakara et al., 2013**). Localement appelé Kermun, serait devenu Kumun, puis cumin dans les langues européennes (**Shivakumar et al., 2010**). Au moyen âge, le *C. cuminum* fut rapidement propagé dans l'ensemble des pays européens en Grèce et à Rome, où il était utilisé comme une sorte de poivron, puis les explorateurs espagnol et portugais l'ont introduit jusqu'en Amérique latine. À ce jour, il est largement cultivé également en Ouzbékistan, Tadjikistan, Turquie, Maroc, Égypte, Inde, Syrie, Mexique et au Chili (**Parashar et al., 2014**). En Algérie, Il est généralement localisé dans les hauts plateaux Algérois, Oranais et Constantinois, l'Atlas saharien (**Shivakumar et al., 2010**)

#### IV. Utilisations de *Cumin* dans la médecine traditionnelle

Dans la médecine Iranienne ancienne, les fruits de la plante ont été utilisés pour le traitement du mal de dents et l'épilepsie (**Janahmadi et al., 2006**). Le cumin est utilisé largement dans la médecine Ayurvédique (l'ancienne médecine Indienne), pour le traitement de la dyspepsie, la diarrhée et de l'ictère. En outre, il est connu pour avoir des propriétés anti-oxydantes, diurétiques, astringentes et hypoglycémiantes (**Dhandapaniet al., 2002**). Lorsqu'il est combiné avec du jus d'oignon, il fait une pâte qui est utilisée pour traiter les piqûres de scorpion (**Vican, 2001**). Les fruits toniques et stimulants, facilitent la digestion et soulagent la flatulencescolique ou diarrhées (**Bremness, 2002**). Il est supposé augmenter la lactation et réduire les nausées pendant la grossesse. Utilisé dans une compresse pour soulager le gonflement du sein et des testicules (**Jalali-Heraviet al., 2007**). L'HE du cumin est meilleure que les antioxydants synthétiques conventionnels, montre une activité fongitoxique, ovicide (**Behera et al., 2004**) et antimicrobienne (**El-Sawi et Mohamed, 2002**). De plus elle utilisée dans la préparation des parfums et les compositions vétérinaires (**Bremness, 2002**).

Partout au Maroc, les graines de cumin en poudre ou en décoction, sont très utilisées dans le traitement des troubles gastro-intestinaux. Il est en effet recommandé comme stomachique, carminatif, antispasmodique et vermifuge. On emploie aussi sa décoction comme

emménagogue, En usage externe, le cumin est utilisé en cataplasmes sur la nuque contre les oreillons (**Bellakhdar, 1997**).

# *Chapitre II*

## *Les extraits bioactifs*

## I. Les huiles essentielles

### 1. Définition

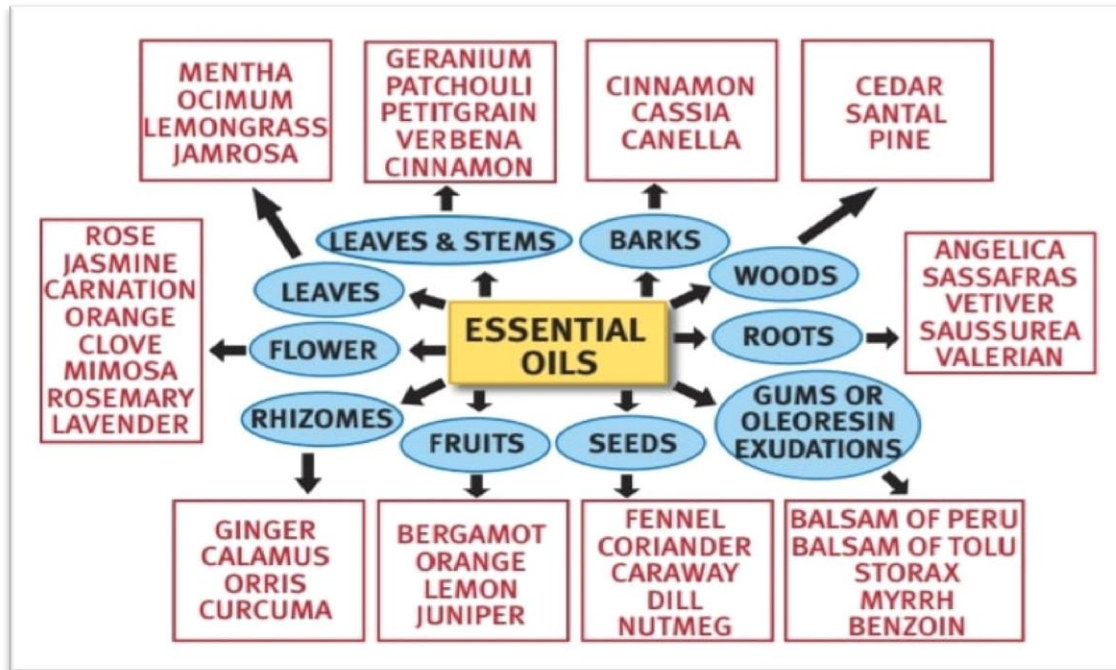
Pour la Pharmacopée européenne, une huile essentielle est un "produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage. Une HE est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement dans sa composition "(Laguerre, 2015).

### 2. Source naturelle d'huiles essentielles

Selon (Handa, 2008), les HEs sont généralement extraites à partir d'une ou de plusieurs parties de la plante. Ces différentes parties sont :

- Les fleurs (rose, jasmin, œillet, giroflier, mimosa, romarin, lavande) ;
- Les feuilles (menthe, Ocimum, Citronnelle, jamrosa , origan) ;
- Les feuilles et les tiges (géranium, patchouli, verveine, cannelle) ;
- L'écorce (cannelle, cassia) ;
- Le bois (cèdre, pin) ;
- Les racines (angélique, sassafras, vétiver, valériane) ;
- Les graines (fenouil, coriandre, carvi, aneth, muscade) ;
- Les fruits (bergamote, orange, citron, genévrier) ;
- Les rhizomes (gingembre, calamus, curcuma) ;
- Les gommés ou exsudats d'oléorésine (baumier du Pérou, baume de Tolu, styrax, myrrhe, benjoin).

Les organes végétaux contenant des huiles essentielles naturelles sont illustrés dans la (Figure n°05).



**Figure n°05** : Les organes végétaux contenant des huiles essentielles (Handa, 2008)

### 3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

La quantité d'HE contenue dans les plantes est toujours faible. Il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'HE.

L'extraction des HEs est la phase la plus délicate. Elle a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborées par le végétal. Il existe différents procédés d'extraction. L'entraînement par la vapeur ou l'hydro-distillation de la plante fraîche ou sèche reste la technique la plus utilisée (Lakhdar, 2015)

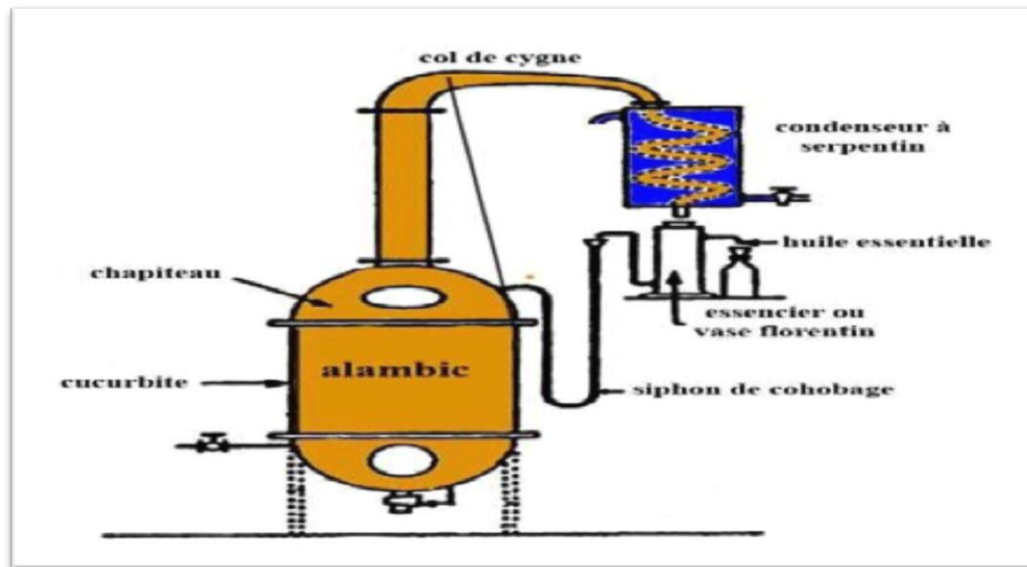
Parmi les méthodes d'extraction, on distingue les procédés suivants :

#### 3.1. Hydro-distillation ou distillation à l'eau

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée ;

- L'hydro-distillation ". Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur (**Figure n°06**). Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de

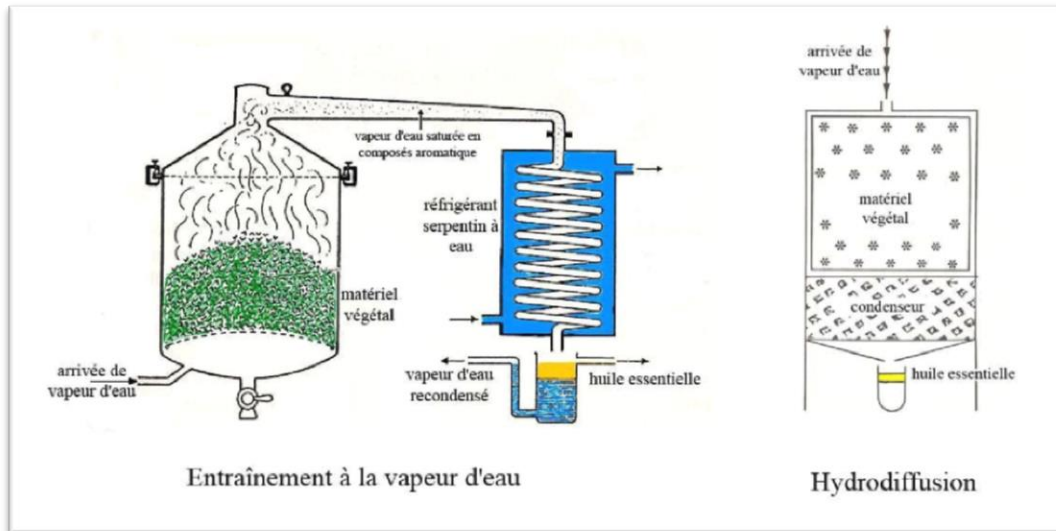
densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques puissante que les cétones. Diones Antispasmodique et anticoagulantes. Elles sont moins toxiques que les cétones rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat (**Madjour, 2014**).



**Figure n°06:** L'hydro-distillation traditionnelle

Et les méthodes récentes adaptées représentées dans la **Figure n°07** ;

- "La distillation par entraînement à la vapeur d'eau" (steam distillation). Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques: le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante (**Franchomme, 1990**).
- L'hydro diffusion« cette technique relativement récente est particulière. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils. Cependant, l'huile essentielle obtenue avec ce procédé contient des composés non volatils ce qui lui vaut une appellation spéciale : " essence de percolation (**Franchomme et al.,1990**)



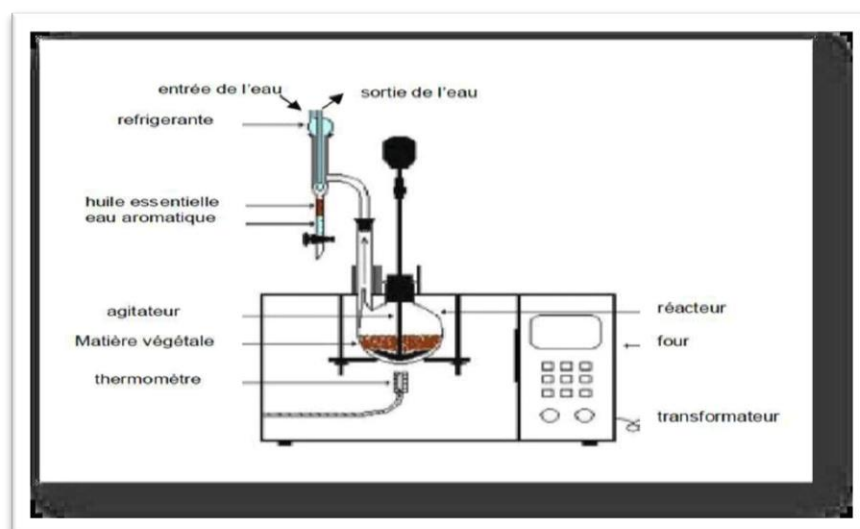
**Figure n°07 :** Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante.

### 3.2.Extraction par expression à froid

Il s'agit du procédé d'extraction le plus simple et le plus limité. C'est une méthode artisanale qui est totalement abandonnée. Les plantes sont pressées à froid (notamment les agrumes : citron, orange, etc.) de l'écorce ou des fruits. Cette technique consiste à briser mécaniquement les poches oléifères de zestes frais d'agrumes pour libérer leur contenu aromatique (Lakhdar, 2015).

### 3.3.Extraction par micro-ondes

L'extraction par micro-ondes consiste à chauffer l'extractant (eau ou solvant organique) mis en contact avec la plante sous l'énergie micro-ondes (Figure n°08) ce qui permet un chauffage homogène. Ce nouveau procédé d'extraction permet des gains de temps et d'énergie considérables (Rivera, 2006).



**Figure n°08** : Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation sous micro-ondes.

#### 4. Activité biologique

Les propriétés médicinales des HEs sont nombreuses : antispasmodiques, Expectorant, rafraîchissant, diurétique, antiseptique.... Cependant, dans ce travail, nous allons nous limiter à leurs propriétés antimicrobiennes qui Constitueront l'essentiel de notre étude de recherche.

Les vertus antimicrobiennes des HEs sont bien connues et bien documentées. En effet, de nombreux travaux de recherche ont mis en évidence leur puissante activité antiseptique agissant aussi bien sur les bactéries, les champignons pathogènes que les virus leur conférant ainsi diverses indications thérapeutiques (**Lakhdar, 2015**).

##### 4.1. Activité antibactérienne

La première mise en évidence de l'action des HEs contre les bactéries a été réalisée en 1881 (**Boyle, 1955**). Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactérienne (**Burt, 2004**). Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques.

Cette activité par ailleurs variable d'une HE à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (**Kalemba, 2003**). Les HEs agissent aussi bien sur les bactéries Gram positive que sur les bactéries Gram négative. Toutefois, les bactéries Gram négative paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la structure de leur paroi cellulaire (**Burt, 2004**).



## 4.2. Activité antioxydant

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation.

Les antioxydants les plus connus sont le  $\beta$ -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol, la quercétine, la rutine et le Picnogénol. La plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ( $\text{OH}\cdot$ ) et superoxydes ( $\text{O}_2\cdot$ ) (Burda et Oleszek, 2001; Antolovich et al., 2002 ;Bartosz, 2003). La capacité antioxydant des HEs est étroitement liée à tout le contenu phénol (Yanishlieva et al., 1999).

## 5. Utilisations des huiles essentielles

Le champ d'application des huiles essentielles est vaste, mais quatre principaux secteurs de leur utilisation à une échelle industrielle peuvent être retenus :

### ➤ Dans l'industrie alimentaire

Dans l'alimentation, les huiles essentielles sont utilisées comme aromates ou épices, c'est le cas des essences de girofle, de gingembre, de vanille, de basilic, etc. Aussi, elles sont utilisées dans la confiserie, les sirops et les biscuiteries (Ouamba, 1988).

### ➤ Dans l'industrie des parfums et cosmétiques

L'industrie de la parfumerie et de la cosmétologie est le principal débouché des huiles essentielles totales ou de certains de leurs constituants purs. C'est le cas des essences de rose, d'ylang-ylang, de lavande, de vétiver, de jasmin, de patchouli, etc. (Ouamba, 1988).

### ➤ Dans l'industrie pharmaceutique

La médecine et l'industrie pharmaceutique utilisent les huiles essentielles en raison de leurs diverses propriétés : bactériostatiques, bactéricides, vermicides, fongicides, antiseptiques, parasitocides (Ouamba, 1988).

### ➤ Dans l'industrie chimique

L'industrie chimique extrait de certaines huiles essentielles des matières premières (isolats) qu'elle transforme en produits chimiques plus élaborés ou directement utilisables

pour la synthèse de principes médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes, ..., c'est le cas par exemple de l'essence de pin, riche en  $\alpha$ -pinène, qui, en plus de son utilisation comme solvant, entre dans la synthèse du camphre (agent plastifiant) (**Ouamba,1988**).

## II. Les extraits

### 1. Les méthodes d'extraction des extraits d'origine Végétale

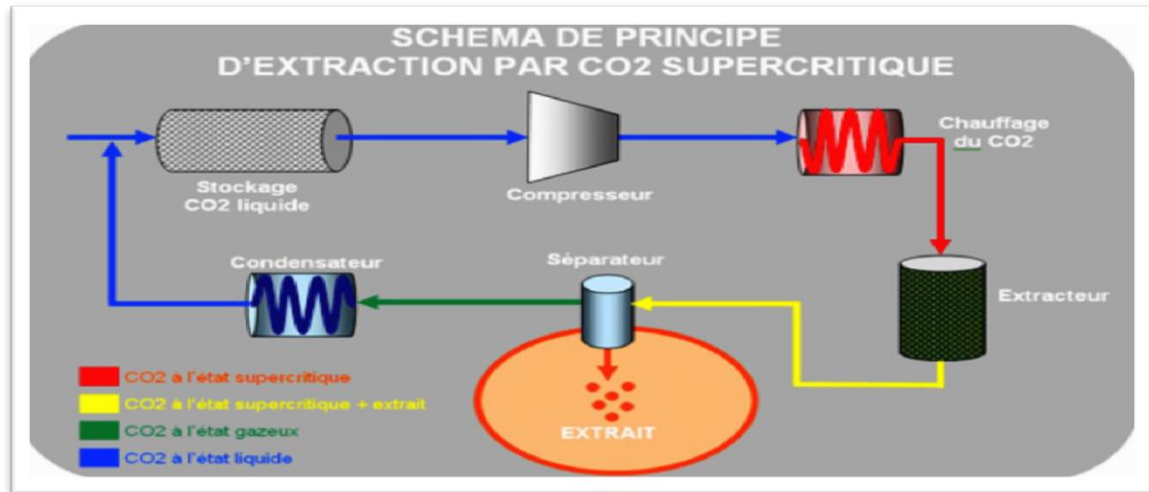
Plusieurs méthodes sont adaptées à l'extraction des extraits d'origines végétales, les plus fréquemment utilisées sont ;

#### 1.1. Extraction par les solvants organiques

Cette approche est utilisée pour les organes végétaux à faible concentration d'essence ou d'essences qui ne peuvent pas être extraites par distillation. Les essences sont solubles dans les solvants organiques en raison de leur nature huileuse. Les plantes sont épuisées à l'aide d'un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très pigmenté et aromatique appelé « béton ». Le solvant organique volatil utilisé est l'hexane, qui est actuellement le plus utilisé ; le benzène, largement utilisé dans le passé mais désormais interdit en raison de sa toxicité ; propane; toluène, etc. L'extraction se fait par phases, et le matériau est rincé avec le solvant deux à trois fois (**Lakhdar, 2015**).

#### 1.2.Extraction par le CO<sub>2</sub>

L'originalité de cette technique repose sur le solvant utilisé: il s'agit du CO<sub>2</sub> en phase supercritique. L'extraction consiste à comprimer le dioxyde de carbone à des pressions et à des températures au-delà de son point critique (P=72.8 bars et T= 31.1°C). A l'état supercritique, le CO<sub>2</sub> n'est ni liquide, ni gazeux, et cela lui confère un excellent pouvoir d'extraction, modulable à volonté en jouant sur la température de mise en œuvre. Les fluides supercritiques comme le CO<sub>2</sub> sont de bons solvants à l'état supercritique, et de mauvais solvants à l'état gazeux (**Lakhdar, 2015**). La **Figure n°09** illustre le principe de cette extraction.



**Figure n°09:** Schéma de principe d'extraction par CO2 supercritique (Madjour, 2014)

## 2. Les Principaux composants des extraits

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

- Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ces composés sont classés en quatre principaux groupes, les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques.
- Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures qui constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour leurs propriétés antioxydants, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anti carcinogènes ou mutagènes.

Les Métabolites secondaires se présentent dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués selon leurs rôles. Dans les extraits, ceux qui se trouvent principalement sont ;

Les composés phénoliques ; qui sont des substances présentes dans tous les végétaux et dans tous les organes de la plante et jouent un rôle essentiel dans la structure et la protection des plantes (Naczka et Shahidi, 2003).

Le terme "composés phénoliques végétaux" englobe divers termes parmi eux ; les flavonoïdes les membres de la grande famille des polyphénols, molécules connues pour leurs multiples activités biologiques. Les flavonoïdes sont omniprésents dans les plantes ; presque tous les tissus végétaux sont capables d'en synthétiser. Il existe également une grande variété naturelle. En effet, au début des années 90, le nombre de structures de flavonoïdes rapporté était d'environ 4000. La structure de base de ces composés regroupe un grand nombre de molécules (**Saidi, 2019**).

### **III. Les méthodes de détermination de la composition des extraits bioactifs d'origines végétale**

En raison des propriétés physicochimiques et biologiques intenses des extraits bioactives de plantes, des approches précises et fiables, telles que les méthodes chromatographiques et spectroscopiques, ont été développées pour permettre la séparation et l'identification de leurs composants.

#### **1. La chromatographie sur couche mince (CCM)**

La Chromatographie sur Couche mince ou CCM est une méthode analytique couramment utilisée dans les laboratoires de phytochimie pour la séparation et l'identification rapides des constituants d'un extrait donné. Elle repose principalement sur des phénomènes d'adsorption ; la phase mobile est un solvant ou un mélange des solvants ; qui progresse le long d'une phase stationnaire qui peut être soit une couche mince de gel de silice ; l'alumine ; ou cellulose. Celle-ci doit être uniformément étalée sur un support en aluminium, sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou sur une plaque de verre ( **Madjour, 2014** )

#### **2. La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)**

La CPG est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition ( **Arpino et al., 1995** ). C'est la technique de séparation la plus utilisée dans le domaine des HEs, car elle permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme. Les progrès technologiques réalisés dans le domaine des colonnes capillaires, des phases stationnaires et des détecteurs (FID) ont contribué à rendre la CPG incontournable pour l'analyse des HEs.

#### **3. La chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)**

L'avantage de cette méthode est la séparation automatique avec une grande vitesse. Elle est utilisée initialement pour la séparation des extraits ( **Stermitz and Thomas, 1973** ).

#### 4. La spectroscopie Infrarouge (IR)

La spectroscopie IR est utilisée en générale pour identifier les groupements fonctionnels d'une molécule, cette méthode est très employée dans les laboratoires de chimie, de manière plus simple et routinier sachant que le domaine de fréquence le plus couramment utilisé s'entend de 4000cm<sup>-1</sup> à 6000cm<sup>-1</sup> (**Madjour ,2014** ).

#### 5. Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (R. M. N)

Les techniques RMN ont été appliquées à la détermination structurale des coumarines naturelles. Par conséquent, il y a eu une tendance croissante de justifier des arguments structuraux, en utilisant en particulier les déplacements chimiques et les constantes de couplage, et plus récemment la spectroscopie <sup>13</sup>C RMN (**Al-Barwani et Eltayeb, 2004**). (**Steck et Mazurek, 1972**) ont élaboré des règles de corrélation spectre-structure, d'application simple et conduisant à une structure fiable pour pratiquement à n'importe quelle coumarine.

# Partie Expérimentale



## I. Objectif

Nous avons mené une enquête analytique avec un objectif principal ; évaluer les activités antibactériennes et antioxydants des HEs ainsi que des décoctions obtenues à partir de quatre plantes étudiées de la pharmacopée traditionnelle Algérienne.

Pour obtenir l'objectif principal, on a effectuée :

- L'évaluation de l'utilisation traditionnelle des plantes choisies par un questionnaire.
- L'identification botanique des espèces choisies.
- L'extraction des HEs et des extraits aqueux à partir de plantes ; *M.viridis*, *O.gratissimum*, *Z.officinal* et *C.cuminum*.
- La détermination qualitative de la composition de ces derniers par CCM.
- La quantification par dosage colorimétrique des polyphénols totaux et des flavonoïdes respectivement par le réactif du Folin-Ciocalteu et le trichlorure d'aluminium à partir de l'extrait aqueux des plantes.
- Le repiquage et la purification d'une collection des souches pathogènes y compris des multirésistantes aux ATB isolées de malades hospitaliers.
- L'évaluation de l'effet synergique entre les extraits bioactifs préparés par la méthode de microdilution en milieu liquide et la méthode de micro-atmosphère en milieu solide.





## II. Matériels d'étude

### 1. Matériel Végétal

Les plantes sélectionnées pour cette étude sont présentées dans (**Tableau n°05**). Il s'agit de plantes médicinales et alimentaires toujours disponibles dans le marché en raison de leur importance dans l'utilisation quotidienne de la cuisine Algérienne ainsi que le traitement de certaines infections d'origine microbienne.



Tableau n°05 : Données sur les plantes étudiées

| Plante                     | Méthodologie   | Partie utilisée | Morphologie de la plante   |
|----------------------------|--|-----------------|--|
| <i>Mentha viridis</i>      | Cette plante a été récoltée durant la période 28.11.2021 jusqu'à 30.11.2021 de la région Biskra ; la plante collectée a été séchée et conservée dans un endroit sec et aéré à Tm ambiante.   | Feuilles        |    |
| <i>Zingiber officinale</i> | Ces trois plantes ont été achetées auprès d'un herboriste de la ville de Tébessa. D'après l'herboriste, ces plantes ont été séchées à l'ombre et à température ambiante dans un endroit aéré. Le matériel végétal sec a été conservé | Rhizome         |   |
| <i>Camunum cuminum</i>     | dans des sachets en plastique jusqu'à son utilisation.   | Grains          |  |
| <i>Ocimum gratissimum</i>  |  | Feuilles        |  |

## 2. Milieux de cultures

Les milieux de culture utilisés pour les différents tests microbiologique sont les suivants : Bouillon Nutritif (B.N), Gélose Nutritif (G.N), Mac Conkey, Chapman, cétrimide et milieu Mueller Hinton (M.H).

## 3. Appareillage

Boite pétri ; Béchers ; pipettes et micropipettes ; tubes à essai stériles ; Bec bunsen ; Etuve ; Balance ; Autoclave ; Papier filtre ; Anse de platine.

## III. Méthodes de travail

### 1. Questionnaire

Cette méthode de recherche consiste en une étude transversale descriptive observationnelle et analytique pour collecter des informations et des données sur l'utilisation des plantes médicinales pour favoriser l'immunité.

Les informations sur l'utilisation des plantes médicinales (*M.viridis*, *O.gratissimum*, *Z.officinal* et *C.cuminum*) ont été obtenues à travers 40 feuilles de questionnaire (**Annexe n°01**). (Elles ont été réalisées durant la période du 11 novembre au 14 février. Les caractéristiques des répondants telles que l'âge, le sexe, la profession, le diplôme universitaire, la classe socioéconomique et l'état matrimonial ont été incluses dans ces dossiers, ainsi que les pièces utilisées, les techniques de préparation et la durée d'utilisation des plantes .

Un échantillonnage aléatoire simple a été utilisé. L'un des aspects les plus importants de cette recherche est de maintenir un contact constant avec les herboristes et les guérisseurs traditionnels. L'enquête de terrain se heurte à divers obstacles dont le plus important est le déni de communication de la part des détenteurs d'informations sur les plantes médicinales.

Après avoir obtenu les noms vernaculaires des enquêtés, nous avons identifié la nomenclature scientifique à l'aide de documents sur la végétation et les plantes médicinales, ainsi que l'aide de botanistes.

## 2. Extraction des extraites bioactives

### 2.1.Extraction des HEs

Pour extraire les HEs de quatre plantes choisis, on a utilisé un montage d'hydrodistillation de type Clevenger (**Figure n°10**). On a réalisé quatre extractions pour chaque plantes en utilisant 100g de la matière végétale pendant trois heures.

#### 2.1.1. Principe de l'hydrodistillation(Aburjai et *al.*, 2006).

L'hydrodistillation est la méthode la plus utilisée pour extraire les HEs. Elle consiste à entraîner les composés volatiles des produits naturels avec la vapeur d'eau. Cette technique constitue d'un chauffe ballon, qui permet la distribution homogène de la chaleur dans le ballon ; un ballon en verre pyrex, ou l'en place la matière végétale séchée et l'eau distillé et colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant).

L'hydrodistillation est basée sur L'immersion d'un échantillon solide dans l'eau portée à ébullition. La vapeur saturée en huiles essentielles traverse un serpentín ou elle se condense pour donner deux produits l'eau florale et l'HE.

#### 2.1.2. Protocole

L'opération consiste à introduire 100g de masse végétale séchée dans un ballon de 1 litre, on y ajoute une quantité d'eau distillée correspondant à 2/3 du volume du ballon. L'opération d'extraction est réalisée pendant 3 heures à partir du début d'ébullition.

A la fin de l'opération, L'HE de chaque plante a été récupéré selon le protocole suivant :

- Récupérer le condensat, résulte de la condensation des vapeurs dégagées qui en traversant le réfrigérant du Clevenger, dans des tubes à fond conique 50 ml et les HEs à l'aide d'une seringue et les mettre dans les tubes,

Deux phases obtenues dans chaque tube, une phase organique contenant les HEs et une autre aqueuse (hydrolat aromatique) contient une quantité non négligeable d'HE,

- Ajouter un déshydratant de sulfate de magnésium (MgSO<sub>4</sub>), afin d'éliminer toute trace d'eau qui pourraient encore rester dans la phase organique (les huiles essentielles),
- Calculer de rendement selon la formule suivant :

$$R (\%) = (M (\text{HE}) / M (\text{MV}) \times 100.$$

R(%) : rendement en huile essentielle (en g) pour 100g de matière sèche.

M(HE) : masse de l'huile essentielle obtenue (g).

M(MV) : masse de matière sèche utilisée en (g).

- Conserver les tubes contenant les HEs à l'abri de la lumière à 4°C jusqu'à leur utilisation.



**Figure n° 10 :** Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger

## 2.2.Extraction des extraits aqueux par décoction

La méthode d'extraction préconisée en médecine traditionnelle est la décoction, qui permet l'extraction des principes actifs d'une préparation généralement végétale par dissolution dans un solvant approprié (généralement l'eau) (Kalla, 2012).

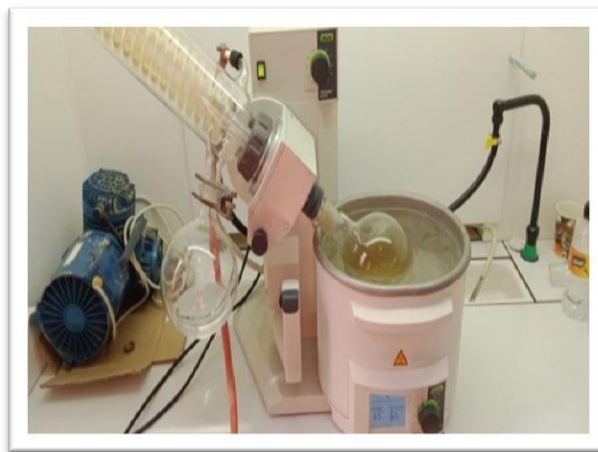
Le protocole décrit par (Konkon et al., 2006) a été employé dans notre enquête scientifique avec quelques modifications :

- Peser 10 gramme de feuilles séchées;

- Ajouter les feuilles séchées au 200 ml eau distillée puis agiter manuellement et doucement ;
- Chauffer le mélange dans un bain-marie 50°C bouillant pendant 30 minutes.
- Laisser le mélange refroidir à la température ambiante ;
- Filtrer sur un papier filtre Wathman n°1;
- Répéter la procédure cinq fois (fraction retenue par le filtre dans 200 ml eau distillée bouillante);
- Les cinq filtrats obtenus sont placés dans un seul récipient.

Les quatre solutions obtenues ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif, ou rotavap(**Figure n°11**), qui permet à éliminer le solvant sous vide, suivant :

- Placer la solution dans le ballon d'évaporation;
- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant ( $T^{\circ}=65^{\circ}\text{c}$  et le vitesse de rotation =27);
- Retirer le ballon du rotavap et attendre qu'il soit froid;
- Peser le ballon afin de calculer le rendement d'extraction;
- L'extrait brut de quatre plantes a été récupères dans des flacons en verre stérile.



**Figure n°11** :Appareil d'évaporation "Evaporateur rotatif"

- Calculer de rendement selon la formule suivant :

$$R\% = (Me/Mv) \times 100$$

R(%) : Rendement en%

Me : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant.

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction(**Harborne, 1998**).

### 3. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits bioactives des quatre plantes ont été testé par la méthode de diffusion en milieu gélosé (puits) contre dix-neuf isolats cliniques appartenant à des espèces à Gram positif et à Gram négatif et quatre souches de (**Tableau n° 06**).

#### 3.1.Souches indicatrices

Les isolats bactériens testés avaient déjà été identifiées au sein de l'espèce par l'Api 20 Eau laboratoire d'analyses médicales, mais nous avons procédé à une identification complémentaire pour confirmation et vérification de la pureté.

L'identification est basée sur les caractéristiques morphologiques suivantes:

- **Examen macroscopique** : la morphologie des colonies et leur dimension ont été étudiées à partir des cultures obtenues sur les milieux sélectifs de chaque souche.
- **Examen microscopique** : il a été effectué sur un frotti bactérienne ; préparé à partir des colonies suspectes en culture pures ; puis fixé et coloré par méthode de Gram.

##### 3.1.1. Revivification des isolats

La revivification des souches microbiennes étudiées a été effectuée par enrichissement. A partir des cultures conservées, des gouttes sont prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile puis ensemencées dans des tubes à essai contenant 5 ml de bouillon nutritif (B.N). Les tubes sont ensuite incubés pendant 24 h à 37 °C dans une étuve.

##### 3.1.2. Purification

Après l'enrichissement, la pureté des souches a été effectuée par ensemencement de chaque bactérie dans son milieu sélectif par méthode d'épuisement. Les milieux utilisés ont été : "Chapman, Hektoen, cytremide et Macconkey "–La composition des milieux de culture employé été mentionnée dans (**l'Annexe n°02**).

Tableau n°06 : Données des souches étudiées

| Souche | Espèce                              | L'origine    | Service                | Age    | Sexe  | Forme              | Gram    |
|--------|-------------------------------------|--------------|------------------------|--------|-------|--------------------|---------|
| SI01   | <i>Escherichia.coli</i>             | ECBU         | GHR                    | Adulte | Femme | Cocci              | Négatif |
| SI02   | <i>Escherichia.coli</i>             | ECBU         | GHR                    | Adulte | Femme | Bacille            | Négatif |
| SI10   | <i>Klebsiella<br/>Pneumoniae</i>    | ECBU         | PED « B »              | 05ans  | Femme | Bacille            | Négatif |
| SI09   | <i>Escherichia.coli</i>             | ECBU         | PED « B »              | 10 ans | Femme | Bacille<br>+ cocci | Négatif |
| SI08   | <i>(Pseudomonas<br/>Aeruginosa)</i> | ECBU         | Externe                | Adulte | Femme | Bacille            | Négatif |
| SI07   | <i>Escherichia.coli</i>             | ECBU         | Externe                | Adulte | Homme | Cocci              | Négatif |
| SI03   | <i>Escherichia.coli</i>             | COPRO        | Externe                | Adulte | Homme | Bacille            | Négatif |
| SI04   | <i>Enterobacter<br/>Spp</i>         | COPRO        | Externe                | Adulte | Femme | Bacille            | Négatif |
| SI11   | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i>    | ECBU         | Privé                  | Adulte | Homme | Bacille            | Négatif |
| SI12   | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i>    | ECBU         | Privé                  | Adulte | Homme | Bacille            | Négatif |
| SI05   | <i>(Klebsiella<br/>pneumoniae)</i>  | ECBU         | PED « B »              | 5ans   | Femme | Bacille            | Négatif |
| SI06   | <i>Pseudomonas<br/>Aeruginosa)</i>  | ECBU         | Externe                | Adulte | Femme | Bacille            | Négatif |
| /      | <i>Micrococcus<br/>luteus</i>       | ATCC         | /                      | /      | /     | Cocci              | Positif |
| /      | <i>Salmonella<br/>thypiques</i>     | Alimentaire  | /                      | /      | /     | Bacille            | Négatif |
| SI13   | <i>Pseudomonas<br/>Spp</i>          | /            | /                      | /      | /     | Bacille            | Négatif |
| /      | <i>Bacillus subtilis</i>            | ATCC         | /                      | /      | /     | Bacille            | Positif |
| /      | <i>Bacillus cereus</i>              | ATCC         | /                      | /      | /     | Bacille            | Positif |
| MR04   | <i>Escherichia.coli</i>             | ECBU         | Patient<br>hospitalisé | Adulte | femme | Cocci +<br>bacille | Négatif |
| MR03   | <i>Pseudomonas<br/>aeruginosa</i>   | Coproculture | externe                | Adulte | homme | Cocco<br>bacille   | Négatif |
| MR06   | <i>Escherichia.coli</i>             | ECBU         | externe                | Adulte | femme | Cocci              | Négatif |
| MR01   | <i>Klebsiella<br/>pneumonie</i>     | ECBU         | Patient<br>hospitalisé | Adulte | femme | Cocci              | Négatif |
| MR02   | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i>    | ECBU         | Patient<br>hospitalisé | Adulte | homme | Cocci              | Positif |
| MR05   | <i>Pseudomonas<br/>aeruginosa</i>   | ECBU         | Patient<br>hospitalisé | Adulte | homme | Bacille            | Négatif |

Après ensemencement les boîtes sont incubées pendant 24 h à 37 °C afin d'obtenir des colonies homogène en forme et couleur et bien isolées, qui font l'objet d'une coloration de Gram puis conservation à nouveau à court durée dans des tubes de gélose nutritif (GN).

### **3.1.3. Conservation**

A partir d'une culture pure, une colonie bien isolée est prise par anse de platine puis ensemencée par méthode de strie dans des tubes contenant de la gélose nutritive inclinée. La conservation des souches est effectuée après incubation des tubes pendant 18h à 37°C dans un réfrigérateur de 4°C.

## **3.2. Recherche de l'activité antibactérienne**

### **3.2.1. Préparation de la suspension bactérienne**

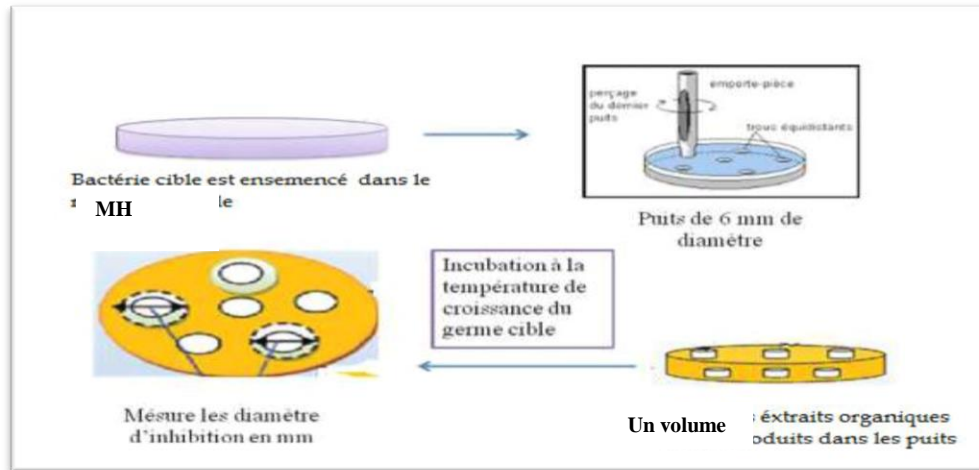
A partir d'une culture de 18 heures sur le milieu particulier de chaque souche indicatrice, en eau physiologique stérile une suspension de chaque bactérie test est créée de telle manière à obtenir une DO de 0,04 pour une longueur d'onde de 600 nm (**Cavalla et Eberlin, 1994**).

### **3.2.2. Technique de diffusion en puits**

L'activité antimicrobienne des extrais bioactives a été évaluée par la technique de diffusion sur gélose (**Sivropoulou et al., 1996**). La gélose de Muller -Hinton prête à l'usage été coulée avec une quantité équivalente à 13 ou 15 ml dans chaque boîtes de Pétrie stériles.

Dans les boîtes de Pétri, des puits de 6 mm de diamètre sont créés à l'emporte-pièce dans du milieu MH déjà coulé et ensemencé en surface avec les bactéries à tester -Quatre puits ont été créés pour chaque micro-organisme testé car deux volumes ont été utilisés avec deux répétitions de chaque volume - . Par la suite, un volume aliquote de chaque extrait organique est prélevé stérilement et injecté dans ces puits, les boîtes sont placées à 4°C pendant 4 heures pour faciliter la diffusion des composés actifs, et incubées à 37°C. Après 24 heures, les résultats sont lus en mesurant le diamètre des zones d'inhibition autour des puits (**Djinni, 2009**).





**Figure n°12 :** Mise en évidence de l'activité antibactérienne des extraits bioactifs des plantes sur milieu MH solide par la méthode des puits (Melouah, 2015).

### 3.3. Etude de la Synergie des extraits bioactifs

#### 3.3.1. Etude de la synergie des HEs

Les bactéries qui ont été sensibles au moins de deux HEs ont été soumises à l'étude de la synergie de ces HEs par les méthodes de la détermination de concentrations inhibitrices fractionnaires (CIF) et la méthode de micro-atmosphère.

##### 3.3.1.1. Détermination de concentrations inhibitrices fractionnaires (CIF)

L'activité antibactérienne synergique des combinaisons des HEs a été établie en comparant les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des HEs seules et en combinaison, ainsi qu'en calculant (si possible) la concentration inhibitrice fractionnaire (CIF) et l'indice de concentration inhibitrice fractionnaire (ICIF).

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des HEs seuls ont été déterminées à l'aide des microplaques à 96 puits stériles selon la méthode modifiée de (Khadir *et al.*, 2013). Une solution mère a été préparée préalablement, en faisant dissoudre l'HE de chaque plante et de tween 80 dans un volume aliquote d'eau distillé stérile pour réaliser des dilutions successives (Les concentrations des huiles sont décroissantes de 512 µg/ml à 16 µg/ml).

Les microplaques sont organisées en huit rangées de douze colonnes chacune. Nous avons versé 200 µL de bouillon dans la première colonne de chaque microplaque pour tester la contamination probable du milieu de culture. La deuxième colonne, avec 190 µL de bouillon,

a été utilisée après inoculation pour contrôler la qualité de la croissance de la souche bactérienne. La septième a été réservée au Tween 80 comme témoin négatif. 100 µl de chaque concentration de la gamme de dilution de l'HE produite ont été déposés dans chacun des puits d'inoculum contenant 90 µL de bouillon MH; par la suite, 10 µL d'inoculum ont été ajoutés au contenu de chaque puits. Après cela, les plaques sont recouvertes et incubées à 37°C. La CMI a été déterminée après 18 à 24 heures d'incubation à partir du premier puits de la matrice dépourvu de croissance bactérienne apparente.

Après la détermination de la CMI des HEs seuls, une nouvelle série de dilution en se basant sur la (1, 1/4 1/8) CMI de chaque HE ont été réalisés pour étudier l'effet combiné des HEs. Après incubation, les puits sont examinés à l'œil nu. Un milieu trouble indique une croissance bactérienne, tandis qu'un milieu clair indique une inhibition. Afin de confirmer les inhibitions obtenues, un prélèvement de chaque puits présentant un aspect clair est transféré dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose MH.

Par la suite, Les CIF ont été calculés à l'aide de la formule suivante ;

$$CIF(A) = \frac{CMI \text{ pour } (a) \text{ en combinaison avec } (b)}{CMI \text{ pour } (a) \text{ indépendamment}}$$

$$CIF(B) = \frac{CMI \text{ pour } (b) \text{ en combinaison avec } (a)}{CMI \text{ pour } (b) \text{ indépendamment, et}}$$

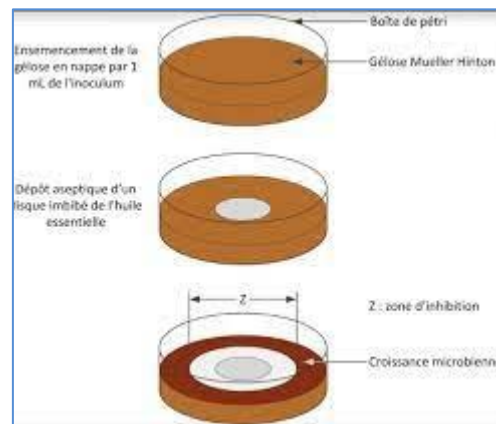
Et pour discuter la nature de la combinaison, les ICIF qui étaient les sommes des valeurs CIF de chaque HE ont été calculés. La synergie a été définie par  $ICIF \leq 0,5$ , la synergie partielle par  $0,5 < ICIF < 1,0$ , indifférence par  $1,0 \leq ICIF \leq 4,0$  et antagonisme par  $ICIF > 4,0$  (Messick et Pendland, 1997 ; Moody, 1992).

### 3.3.1.2. Application de la méthode micro-atmosphère

Cette technique consiste à cultiver le germe à tester sur une gélose appropriée puis un disque imprégné avec une quantité donnée des HEs en combinaison est déposée au centre géométrique de la boîte de Pétri (Figure n°13), l'opération a été réalisée avec duplication et les

boîtes de Pétriensemencées ont immédiatement fermée avec le parafilm et placée renversée (El-Houiti, 2010).

Après incubation l'HE s'évapore dans l'atmosphère de la boîte et les résultats sont présentés par la croissance ou non de l'inoculum puis mesurées par un pied à coulisse.



**Figure n°13 :** Mise en évidence de l'activité antibactérienne des HEs combinées sur milieu MH solide par la méthode micro-atmosphère

### 3.3.2. Etude de la synergie des extraits bioactifs

Pour l'évaluation de l'effet synergétique des extraits bioactives, les mêmes protocoles effectués pour la détermination de la synergie d'huiles essentielles ont été employés.

### 3.3.3. Etude de la synergie entre les HEs et les antibiotiques

La récente approche sur l'utilisation des plantes en synergie avec les antibiotiques constitue une nouvelle stratégie pour concernant le problème de résistance des bactéries aux antibiotiques (Khaddar, 2018)

La synergie entre les HEs et les antibiotiques (ATB) a été rapportée dans plusieurs études, c'est une interaction positive créée quand l'association des deux agents, provoquent un effet inhibiteur supérieur à la somme de leurs effets individuel (Chouhan et al., 2017). Elle est employée pour augmenter le spectre d'activité antimicrobienne, empêche l'apparition des mutants résistants et pour augmenter la vitesse de l'effet bactéricide selon (Denes et Hidri, 2009). Peut sembler être une bonne stratégie pour dépasser le problème de la résistance bactérienne et ainsi améliorer l'efficacité de ces deux agents.

Dans cet travail ont a étudié la synergie d'action des HEs issue de trois plantes "*O.gratissimum*,*Z.officinal* et *C.cyminum*"et les ATBstandard(Céfazoline et Ampicilline ) contre trois isolats cliniques multi résistants aux ATB par le même protocole expérimentale réalisé dans la détermination de la synergie des extraits bioactifs avec mineurs modification :

- Les solutions mères des ATB ont été préparées à 1000 µg/mL, puis une série de dilution de raison 2 allant de 0,0012 à 2,5 mg/mL a été réalisée.
- Dans la méthode de micro-atmosphère, des disques des ATB résevoire une quantité de HE cible utilisées (Ahmad *et al.*, 2007).

#### 4. Activité antioxydant

L'activité antioxydante a été évaluée par la détermination du pouvoir réducteur. Le pouvoir réducteur des HEs et extraits aqueux est déterminé selon la méthode FRAP (Le pouvoir réducteur du fer (Fe<sup>3+</sup>))(Bassène, 2012) avec certaines modifications. Ainsi, 1ml de chaque extrait bioactif est associé à 2,5ml de tampon phosphate (0,2M ; pH=6,6) et 2,5ml d'hexacyanoferrate de potassium [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] à 1%. Après 30 minutes d'incubation à 50°C, 2,5 ml d'acide trichloroacétique à 10 % ont été ajoutés au mélange, et les tubes ont été centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 minutes. Ensuite, 1 ml de surnageant de chaque tube est combiné avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution de FeCl<sub>3</sub> à 0,1 % et laissé reposer dans l'obscurité pendant 30 minutes avant de mesurer les absorbances à 700 nm.

L'activité antioxydante liée au pouvoir réducteur des extraits est exprimée en Pouvoir Réducteur (PR) à l'aide de la formulesuivante :

$$PR = 100(Aa - Ab) / Aa$$

Aa : absorbance de l'extrait Ab : absorbance du blanc

#### 5. Détection de la composition des extrais bioactifs

##### 5.1.Détermination de la composition par la chromatographie sur couche mince (CCM)

Dans notre étude, la séparation et la mise en évidence de la composition des HEs etdes composésphénoliques et flavonoïdes présents dans les extraits issus de la décoction a été examiné par la CCM.

### 5.1.1. Principe

Le principe de la CCM repose sur l'entraînement d'un échantillon dissous par une phase mobile à travers une phase stationnaire. Cette technique a été réalisée sur des plaques prè-étalées de gel de silice sur plaque d'aluminium (Aouiche, 2010).

### 5.1.2. Mode opératoire

Les extraits bioactifs ont été déposés sur la phase stationnaire à l'aide de pipettepasteur à des points repères situés à 1,5 cm du bord inférieur de la plaque après le suivi du protocole décrit par (Rihane et Benlahreche, 2013) :

- Introduire le système solvant choisi dans la cuve à chromatographie ;
- Fermer la cuve (la cuve doit être saturée de vapeur de solvant ;
- Tracer la ligne de dépôt à environ 1.5cm du bord de la plaque ;
- À l'aide d'une micropipette ; déposer environ 15 µl de chaque échantillon, le diamètre de la tache environ 2mm ;
- Placer la plaque dans la cuve à chromatographie contenant le système solvant ; Recouvrir la cuve et suivre le développement du chromatogramme ; Arrêter la chromatographie, lorsque le front du solvant se trouve à environ de 1cm de l'extrémité supérieur ; séché le chromatogramme à l'air libre
- Sécher le chromatogramme à l'air libre.

La CCM est déterminée lorsque la révélation et le calcul de rapport frontal (RF) ont été réalisés.

- Pour les HEs ; La révélation été à la fois une révélation physique à l'aide d'une lampe UV à 254 nm et une autre chimique à l'aide du lugol.
- Pour les extrais ;  
Pour révéler le polyphénolun révélateur chimique chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) été nécessaire et pour révéler le flavonoïde le ALCL<sub>3</sub> été le révélateur chimique nécessaire.
- Pour le calcul du RF ;  $R_f = d / D$

d : distance parcourue par le constituant.

D : distance parcourue par l'éluant

## **5.2.Détection de la présence des composés polyphénoliques et des flavonoïdes dans les extraits aqueux**

### **5.2.1. Dosage des composés polyphénoliques**

La teneur en composés polyphénoliques dans les extraits des quatre plantes étudiées est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par (Le et al., 2007).

#### **5.2.1.1.Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lors de l'oxydation, il est réduit en un mélange d'oxyde bleu. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait analysé.

#### **5.2.1.2.Protocole**

Un volume de 200 µl des solutions des extraits à différentes concentrations est ajouté à 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué dans l'eau distillée. Après incubation de 5 min à température ambiante, 800 µl de carbonates de sodium (à 7.5%) sont additionnés. Le mélange final a été mélangé soigneusement par un vortex ; puis incubé pendant 30mn à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 765 nm sur un Spectrophotomètre.

L'acide gallique est le standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux des extraits est calculée et donc différentes concentrations en l'utiliser (0 à 1000 µg/ml) ont été réalisées en parallèle dans les mêmes conditions opératoires.

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g extrait sec).

### **5.2.2. Dosage de flavonoïdes totaux**

La quantification de la teneur totale en flavonoïdes a été réalisée par la méthode de trichlorure d'aluminium décrite par (Turkoglu et al., 2007).

### **5.2.2.1.Principe**

En présence de trichlorure d'aluminium, les flavonoïdes sont capables de former un complexe acide stable de couleur jaunâtre qui absorbe dans le visible à 510 nm. Ce complexe est dosé spectrophotométriquement à 430 nm.

### **5.2.2.2.Protocole**

Dans un tube à hémolyse en verre, 400 µl d'extrait, ou d'étalon, ou de l'eau distillée pour le témoin, ont été ajoutés à 120 µl de NaNO<sub>2</sub> à 5 %. 120 µl d'ALCL<sub>3</sub> (10%) a été ajouté ; le mélange a été vigoureusement agité à l'aide d'un vortex, laisser le mélange 06 min à température ambiante; après 800µL de NAOH 1M a été additionné ; le mélange a été agité à l'aide d'un vortex et l'absorbance lue à 510 nm.

Une solution méthanolique de quercétineest le standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage à partir de laquelle la concentration des flavonoïdes totaux des extraits est calculée et donc différentes concentrations en l'utiliser (0 à 1000 µg/ml) ont été réalisées en parallèle dans les mêmes conditions opératoires.

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalents de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g extrait sec).

# Résultats et discussion





## Résultats et Discussion

Dans le présent chapitre, nous traiterons tous les résultats obtenus au cours de ce travail, à partir des quatre plantes investiguées : *M.viridis*, *C.cuminum*, *Z.officinale* et *O.gratissimum* dès l'extraction de leur HEs et extraits aqueux jusqu'à l'évaluation de leur pouvoir biologique.

D'après les résultats obtenues sur 40 volontaires (herboristes, guérissons, ....etc) des deux sexes, dont les âges étaient compris entre 25 ans et 70 ans ; l'HE de rhizome de la plante *Z.Officinale*

Administré par la voie orale chez l'homme montre une activité contre la diarrhée, fièvre et contre les infections urinaire, réduit le vertige expérimentale chez les personnes volontaires, HE de gingembre très efficace contre les rhumatismes et les douleurs musculaires, les crampes par application cutanée.

Contre la bronchite ; on conseille de faire cuire sous la cendre chaud un morceau de gingembre qu'ont écrasé et qu'on laisse ensuite macérer dans une grande tasse de rhum pendant 15 min , absorber ce liquide au coucher et sucrer les morceaux écrasés

On a été constaté que l'HE de la plante *M.viridis* extrait des feuilles sec a un effet diurétiques administré par voie orale , très efficace aussi contre les infection pulmonaires ;soulage les douleurs liées aux piqûres d'insectes par application cutanée , contre les douleurs musculaires par massage cutanée ; l'extrait des feuilles de *M. viridis* dans l'eau chaude utilisée comme calmans

L'HE de la plante *C.cuminum* d'après l'herboriste utilisée pour guérir les trouble gastrique telle que la gastrite, réduit les nausées par voie orale, stimule aussi la digestion ; l'extrait de *C.cuminum* utilisé dans une compresse pour soulager le gonflement du sein et des testicules, selon une femme a l'âge de 70 ans le cumin est utilisé en cataplasmes sur la nuque contre les oreillons (décoction)

Les feuilles de la plante *O.gratissimum* utilisées par décoction contre les douleurs abdominales ;et Contre la toux administré comme tisane selon plusieurs volontaires ; l'HE de *O.gratissimum* d'après un guérison et utilisée comme un remède contre le prolapsus du rectum.

## I. Extraction des extraits bioactifs

Les HEs ont été extraite à partir des quatre plantes séchées à l'air libre, et ceci par hydro-distillation dans un appareil de type Clevenger. Nous avons obtenu une HE de couleur jaune pâle et odeur accentuée pour les deux plantes *M.viridis* et *O.gratissimum* alors que pour l'HE de *Z.officinale* une couleur jaunâtre plus foncée a été enregistré et pour cet de *C.cuminum* lors de l'extraction une couleur blanchâtre a été observé mais se a été transformé rapidement au stockage a une couleur jaunâtre (**Figure n°14**).

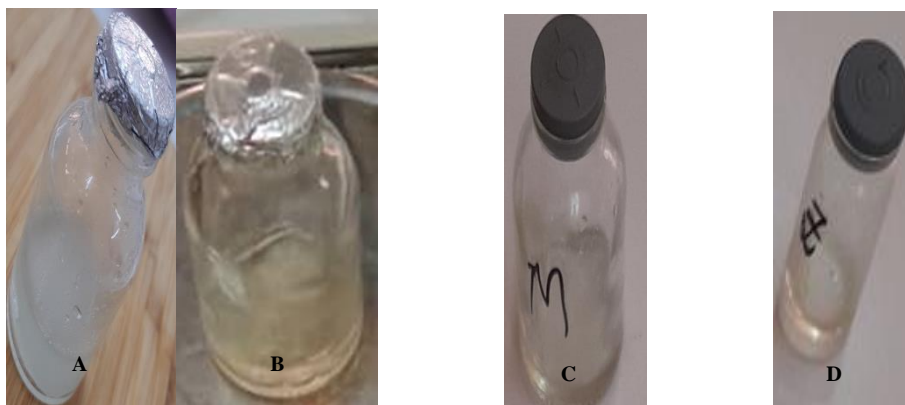
Les résultats de calcule des rendements obtenus lors des extractions par hydrodistilation des HEs durant 3 heures sont reportés dans le (**Tableau n°07**). Les Résultats sont exprimés par la moyenne de quatre extraction± l'écart type.

**Tableau n°07 : Rendements des HEs de quatre plantes étudiées**

| <b>Huile essentielle</b> | <b>Rendement</b> |
|--------------------------|------------------|
| <i>M.viridis</i>         | 1,65 ± 0,64      |
| <i>O. gratissimum</i>    | 2.14± 1,73       |
| <i>C.cuminum</i>         | 3.06± 1,73       |
| <i>Z. officinale</i>     | 1,96±2,78        |

D'après le tableau ci-dessus, on remarque qu'il existe une différence remarquable entre les rendements d'extraction. Le rendement le plus important a été enregistré pour l'huile de *C.cuminum*, avec une quantité de 3.06± 1,73 ; le rendement d'HE de *C. cuminum* trouvés en Inde (2,0%) (**Wangetal.,2009**), suivi d'*O.gratissimum* avec un rendement de 2.14± 1,73 alors que *M.viridis* a représenté le plus faible rendement en HE tandis que le plus faible est celui de Sétif (0.9%) (**Boukhebti et al., 2011**).

Les différences des rendements en HE sont dues à plusieurs facteurs : l'origine géographique, les facteurs écologiques notamment climatiques (la température et l'humidité), l'espèce végétal elle-même, le stade de la croissance, la période de cueillette, la conservation du matériel végétal (**Haddouchi et al., 2009**).



**Figure n°14** : Echantillon de l'HE de **A** : *C.cyminum*, **B** : *O. gratissimum*, **C** : *M.viridis*,  
**D** : *Z. officinale*

Les extrais aqueux ont été extraite à partir des quatre plantes séchées à l'air libre, et ceci par décoction et vaporisation dans un appareil de type rotavape. Les résultats de calcul des rendements obtenus lors des extractions ont été exprimé dans le (**Tableau n°08**). Les Résultats sont exprimés par la moyenne de cinq extraction  $\pm$  l'écart type.

**Tableau n°08** : Rendements des extrais aqueux de quatre plantes étudiées

| Extrait aqueux        | Rendement        |
|-----------------------|------------------|
| <i>M.viridis</i>      | 20.20 $\pm$ 9,01 |
| <i>O. gratissimum</i> | 11.56 $\pm$ 00   |
| <i>C.cyminum</i>      | 12.57 $\pm$ 1,09 |
| <i>Z. officinale</i>  | 6,84 $\pm$ 0,78  |

Le rendement le plus élevé en extrait a été obtenu avec *M.viridis* et le plus faible avec *Z.officinale*. Nous expliquons cette variation du rendement entre les extraits de notre travail selon l'espèce végétale, les propriétés génétiques des plantes, l'origine géographique des plantes, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, la durée d'extraction, (**Ben Amor, 2008 ; Michel, 2011 ; Bergheul, 2018**).

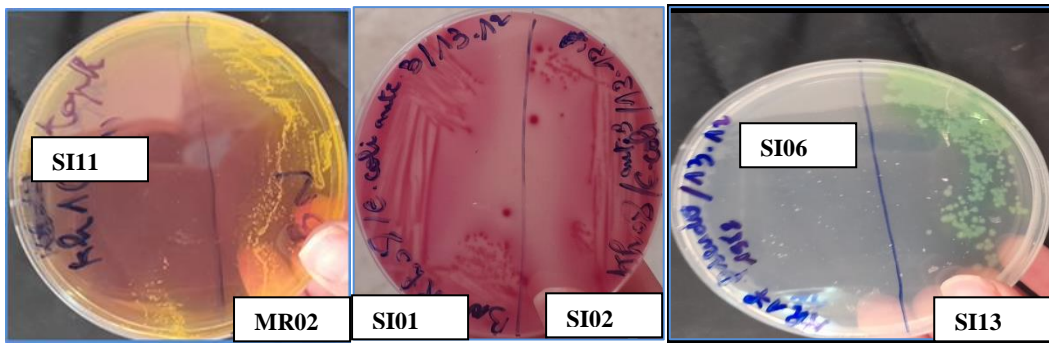
## II. Activité antibactérienne

### 1. Souches indicatrices

Des colonies pures des isolats cliniques et des souches de référence sont obtenues après un repiquage successif sur les milieux sélectifs de chacune par la méthode d'épuisement. Le **Tableau n°09** et la **Figure n°15** illustrent l'aspect macroscopique de ces isolats. Chaque isolat pur est caractérisé par un mode de croissance représentatif de son espèce.

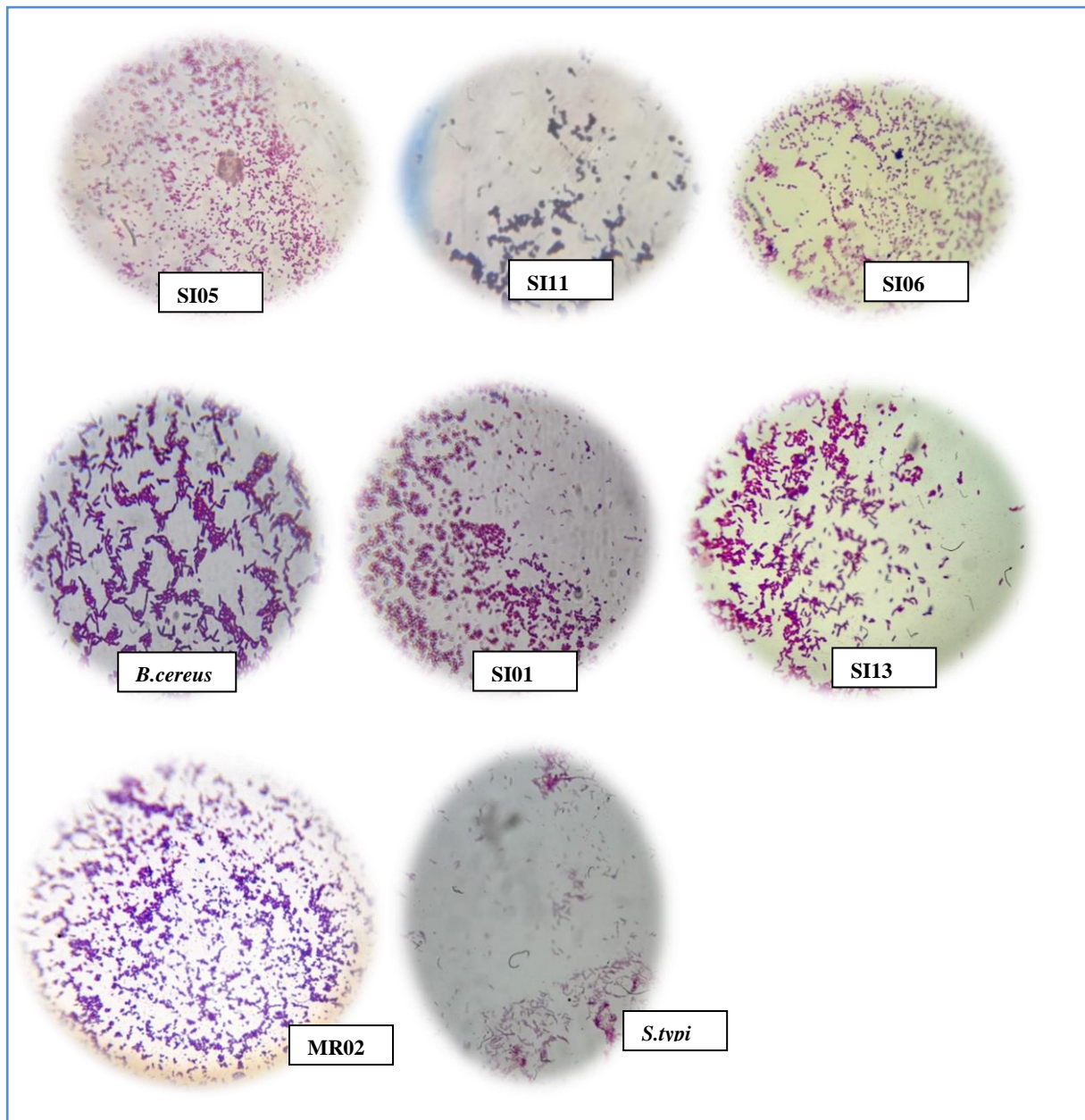
**Tableau n°09** : Caractères macroscopiques des souches indicatrices

| Souches                                       | Caractères                                 |
|---|--|
| <b>SI01</b> ( <i>Escherichia coli</i> )       | Ronde, à plat, régulier,                   |
| <b>SI02</b> ( <i>Escherichia coli</i> )       | Ronde, à plat                              |
| <b>SI10</b> ( <i>Klebsiella pneumoniae</i> )  | Ronde, bombée                              |
| <b>SI09</b> ( <i>Escherichia coli</i> )       | Ronde, bombée                              |
| <b>SI08</b> ( <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> ) | Ronde, à plat, virage de couleur (vert)    |
| <b>SI07</b> ( <i>Escherichia coli</i> )       | Ronde, à plat, régulier,                   |
| <b>SI03</b> ( <i>Escherichia coli</i> )       | Ronde, à plat, régulier,                   |
| <b>SI04</b> ( <i>Entèrobacter spp</i> )       | Ronde, à plat,                             |
| <b>SI11</b> ( <i>Staphylococcus aureus</i> )  | Ronde, régulier, virage de couleur (jaune) |
| <b>SI12</b> ( <i>Staphylococcus aureus</i> )  | Ronde, régulier, virage de couleur (jaune) |
| <b>SI05</b> ( <i>Klebsiella pneumoniae</i> )  | Ronde, à plat, régulier,                   |
| <b>SI06</b> ( <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> ) | Ronde, bombée                              |
| <b>Micrococcus luteus DSM 1790</b>            | Ronde, bombée                              |
| <b>Salmonella thypiques</b>                   | Ronde, à plat, régulier,                   |
| <b>SI13</b> ( <i>Pseudomonas spp</i> )        | Ronde, à plat, virage de couleur (vert)    |
| <b>Bacillus subtilis ATCC6633</b>             | Ronde, à plat, régulier,                   |
| <b>Bacillus cereus PCM 482</b>                | Ronde, à plat, régulier,                   |
| <b>MR04</b> ( <i>Escherichia coli</i> )       | Ronde, à plat                              |
| <b>MR03</b> ( <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> ) | Ronde,                                     |
| <b>MR06</b> ( <i>Escherichia coli</i> )       | Ronde, à plat,                             |
| <b>MR01</b> ( <i>Klebsiella pneumoniae</i> )  | Ronde, à plat                              |
| <b>MR02</b> ( <i>Staphylococcus aureus</i> )  | Ronde,                                     |
| <b>MR05</b> ( <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> ) | Ronde, à plat,                             |



**Figure n°15 :** Photos représentatif de l’aspect macroscopique de quelques souches indicatrices

La coloration de Gram permet d’étudier la morphologie des microorganismes, leur mode de regroupement, ainsi que la détermination de leur classification, cette technique a été employée dans notre étude dans l’examen microscopique des bactéries-test. Cet examen microscopique a permis à son tour de confirmé la pureté des souches indicatrices d’un part et leur identification d’autre part. La **Figure n°16** présente quelques photos des frottis des souches indicatrices colorées par la coloration de Gram.



**Figure n°16** : photos représentatif de la coloration de Gram de quelques isolats

## 2. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des HEs et des extraits de *M. viridis*, *C. cymum*, *O. gratissimim* et de *Z. officinale* a été testée vis-à-vis 23 souches bactériennes via la méthode de diffusion des puits. L'activité des plantes étudiées a été évaluée par la présence ou l'absence des zones d'inhibition et par conséquent la croissance ou non des bactéries.

Le diamètre des zones d'inhibition varient en fonction de la souche testée, la nature et la dose de la substance active présente dans les extraits.

Le traitement des données trouvées dans notre investigation nous a permis d'obtenir des histogrammes, qui montrent les zones d'inhibition (mm) des 23 souches indicatrices avec deux volumes différents.

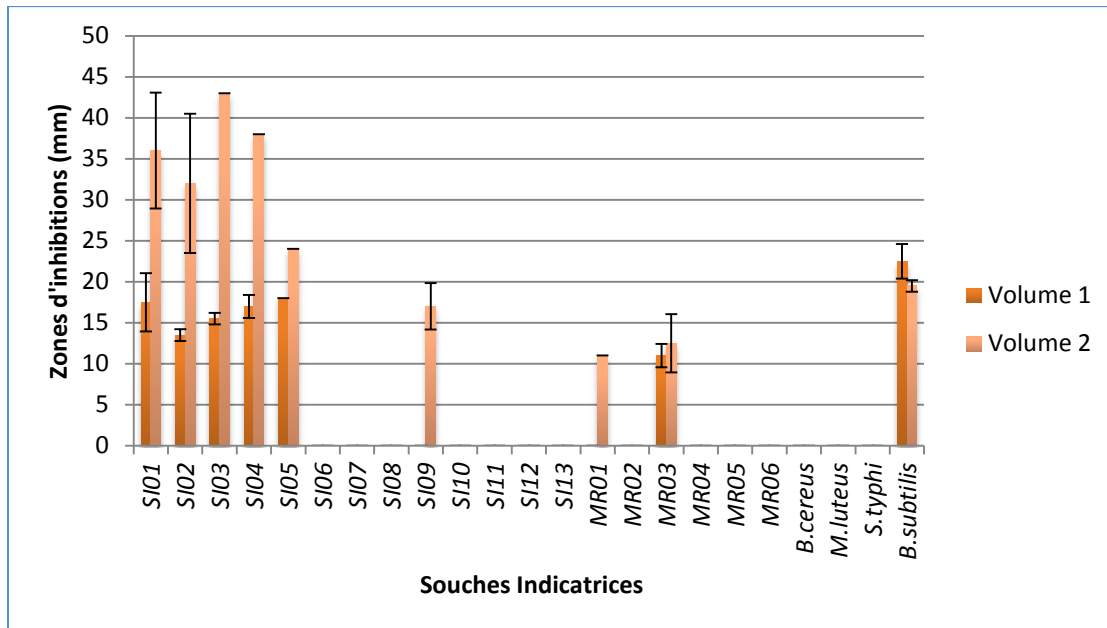
### 2.1. Activité antibactérienne de *M. viridis*

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'HE de *M. viridis* a été appliquée sur plusieurs bactéries ; que ce soit à Gram positives ou à Gram négatives, les résultats d'étude sont mentionnées dans la **Figure n°17**, une variation des diamètres des zones d'inhibition allant de 11mm à 43 mm contre les bactéries à Gram + et à Gram- a été observée. L'activité la plus élevée a été remarquée contre la souche *E. coli* codée SI03 dont la valeur moyenne de l'auréole d'inhibition a été de 43mm, dans le même line une activité positive de *M. viridis* a été signalé par (**Saba et Anwar, 2018**) dans leur étude contre une bactérie à Gram positif "*B. subtilis*" codée par (ATCC6633).

Les quatre souches à Gram négatives *E. coli* codée (**SI01**) et *E. coli* codée (**SI02**) d'origine urinaire de service GHR *Entèrobacter* spp codée (**SI04**) d'origine fécale et *Klebsiella pneumoniae* codée (SI05) d'origine urinaire, à la suite de la souche **SI03** se sont avérées extrêmement sensibles à l'action de l'HE *M. viridis* ; Ceux-ci est en corrélation avec plusieurs travaux tels de que **Saba et Anwar (2018)** et **Laggoune et al., (2016)** qui ont mentionnée respectivement que les souches testées appartenant aux *E. Coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis* et *klebsiella pneumoniae* ont été sensible à l'action antagonisme de l'HE de cette plante avec des zones d'inhibition atteint le 24mm de diamètre.

Concernant les bactéries Gram positives la plus grande valeur a été enregistrée avec 22.5 mm contre la souche de référence *B. subtilis* codée par ATCC6633, une même zone d'inhibition a été enregistré contre la bactérie à Gram+ *Listeria monocytogenes* dans les travaux de (**Shahbazi, 2015**).

L'HE de *M. viridis* a réussi également d'altérer la croissance des souches multirésistance aux ATB **MR01** et **MR03** mais avec de diamètre de lyse de 11mm et 12.5 mm respectivement.



**Figure n°17** : L'activité antibactérienne de l'HE *M.viridis* par la méthode de puits

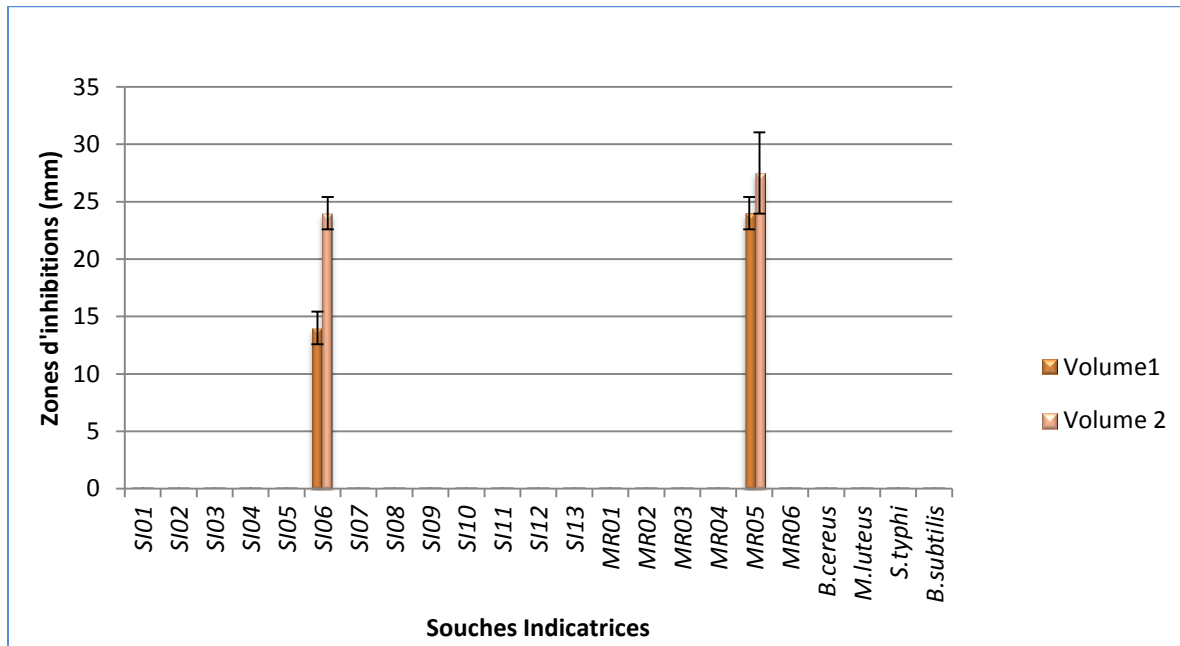
Selon les données, les bactéries à Gram négatif semblent être plus sensibles à l'action de l'HE de *M.viridis* que les bactéries à Gram positif, ce qui peut être dû à la structure de la paroi cellulaire et à la richesse de cette HE en Carvone (acétone). De fortes concentrations de ce dernier peuvent être utilisées pour expliquer l'usage traditionnel de cet extrait bioactif de *Mentha spp* dans le traitement de maladies bactériennes (**Boukhebti, 2011**).

L'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de *M.viridis* issu de la décoction a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé et a révélé des zones d'inhibition plutôt faibles par rapport à l'HE de la même plante, avec un spectre d'activité étroit où une activité inhibitrice a été mise en évidence uniquement contre les souches de *P.aeruginosa* codées **SI06** et **MR05** (**Figure n°18**) avec des diamètres d'inhibition de 27,5 et 24 mm respectivement.

La résistance bactérienne à l'effet antagoniste de l'extrait de *M.viridis* est due à la complexité de leur membrane (**Hogg, 2005**), en particulier les Gram-négatifs avec la présence de lipopolysaccharides hydrophobes présents dans la membrane externe de la bactérie, qui assure une protection contre divers agents antimicrobiens (**Nikaido et Vaara, 1985**). Cette théorie est étayée par une étude de (**Sidi Mohammed et al., 2018**), qui a révélé qu'un extrait



de *M. spicata* était incapable de tuer les "*E. coli*" à Gram négatif en raison de sa membrane externe.



**Figure n°18** : L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *M.viridis* par la méthode de puits

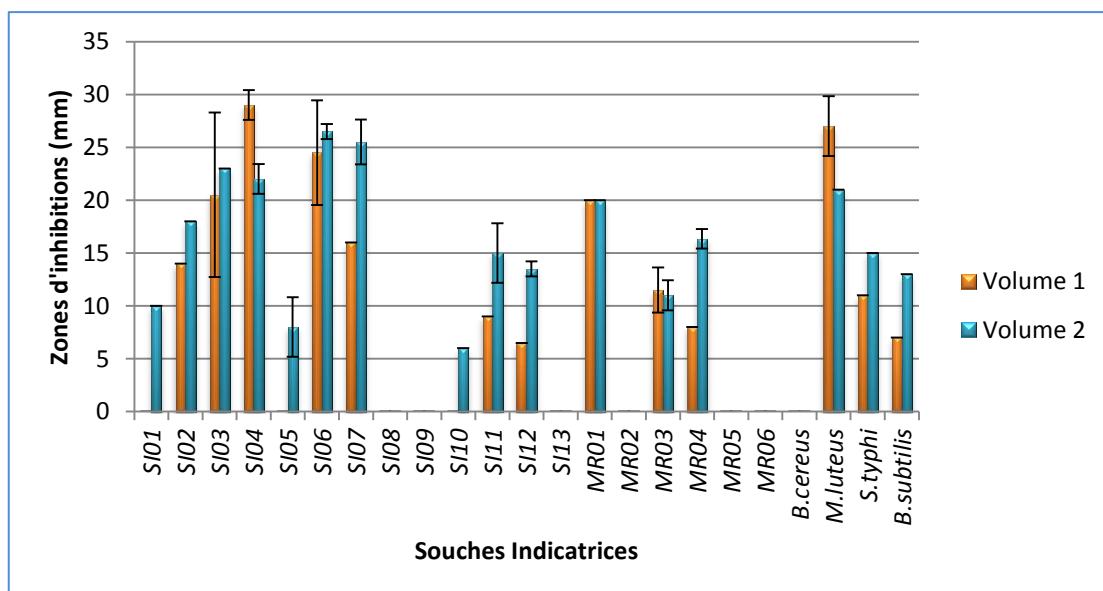
### 2.2. Activité antibactérienne d'*O.gratissimim*

L'évaluation de l'activité antimicrobiennes de l'HE d'*O.gratissimim* par la méthode de diffusion en milieu gélosé a révélé une activité positif avec un large spectre contre les Gram+ et les Gram- avec des zones d'inhibition entre 06mm et 29mm et une intensité d'activité illustré dans le deuxième volume utilisé (15µl) (**Figure n°19**), ces résultats sont en comparaison avec ceux de (**Shafique et al., 2011**) ; qui ont étudié l'activité de l'HE d'*O.basilicum* contre six souches bactériennes Gram+ et Gram- "*B.subtilis* , *K.pneumoniae* , *S.typhimurium* , *S.aureus* ,*E.coli* et*E.faecalis*" et ont révélé une résultat positif.

L'activité antimicrobienne maximale de cette HE a été observée chez les Gram- contre la souche *Entèrobacter Spp* d'origine fécale codée (**SI04**), avec un anneau d'inhibition moyen de 29 mm. Suivi de 26,5 mm contre la souche(*Pseudomonas Aeruginosa* codée (**SI06**) isolée d'infections urinaires, 25,5 mm contre la souche *E. coli* codée (**SI07**) d'origine urinaire, 23mm contre la souche *E.coli* pus d'origine fécale codée (**SI03**). Ces souches se sont révélées extrêmement sensibles (+++) à l'action de l'HE d'*O.gratissimum* en les comparant avec les

Gram+, le diamètre obtenue (**Figure n°19**) contre *S.aureus* (SI11) et *S.aureus*(SI12) varie entre 09 et 15 mm. Ces données sont en accord avec(Adeola et al., 2012), dans leur étude sur *O.basilicum* L de Nigeria où ont montré que le diamètre d'inhibition le plus grand est enregistré contre la souche Gram- "*P.aeruginosa*" et le plus petit est donné pour la Gram+ "*S.aureus*", et en désaccord avec (Elhoussine et al., 2010), dans leur recherche l'HE d'*O.vulgarea* affichés des diamètres des zones d'inhibition plus importantes chez les Gram+ "43 mm pour *S.aureus* et 38 mm pour *B.subtilis* ".

Les deux souches multirésistantes aux ATB *E.coli* codée (MR01) et *K.pneumoniae* codée (MR04) ont également révélé sensible à l'HE produit par l'hydrodistillation des parties aériennes de la plante *O.gratissimum* avec des zones de lyse comprises entre 16,35mm et 20 mm. Ce résultat est en accord avec de nombreuses études menées sur la même espèce et aussi sur d'autres espèces d'*Ocimum* comme celui de (Hussain et al.,2008).



**Figure n°19** : L'activité antibactérienne de l'HE d'*O.gratissimum* par la méthode de puits

L'HE d'*O.gratissimum* présente une forte activité antimicrobienne contre les microorganismes testés, les zones d'inhibition obtenues par les deux volumes employés n'ont pas été très différentes. Selon (Ulanowska et al., 2006), l'efficacité de l'HE des feuilles d'*O.gratissimum* contre les bactéries est probablement due à la présence de composés phénoliques avec des teneurs importantes dans cette plante.

L'effet antibactérien des huiles essentielles est lié à l'attaque des phospholipides présents dans les membranes cellulaires (**Paparella et al., 2008**). L'HE d'*O.gratissimum* testée sur différentes bactéries Gram-positives et Gram-négatives a révélé une action variable, semblant être préférentiellement plus active sur les Gram-négatifs ; cela peut se traduire par la présence de composés ressemblant au caracole, ou au thymol car les deux composants sont capables de désintégrer la membrane externe des bactéries Gram-négatives ; en libérant des lipopolysaccharides, ce qui augmente la perméabilité de la membrane cytoplasmique et la mort de la bactérie par la suite (**Burt, 2004**).

L'activité antibactérienne de l'extrait d'*O.gratissimum* a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, qui présentait des zones d'inhibition allant de 06 mm à 14,7 mm (**Figure 20**).

L'extrait aqueux d'*O.gratissimum* montre la plus efficace activité antimicrobienne contre la souche *E.coli* codée (**SI03**) d'origine fécale (14,7 mm), suivie de la souche *S.aureus* (**SI12**) (11 mm), tandis que les souches restantes étaient les moins sensibles, avec zones d'inhibition n'excédant pas 10 mm (**Figure n°20**). Les résultats montrent que les bactéries Gram-négatives ont une sensibilité plus élevée que les bactéries Gram-positives ; cette découverte pourrait s'expliquer par la nature ou la complexité de la structure de la bactérie. En se comparant ces résultats avec celles de l'extrait de la plante *M.viridis* qui fait partie de la même famille *Lamiaceae*, un large spectre d'activité a été observé.

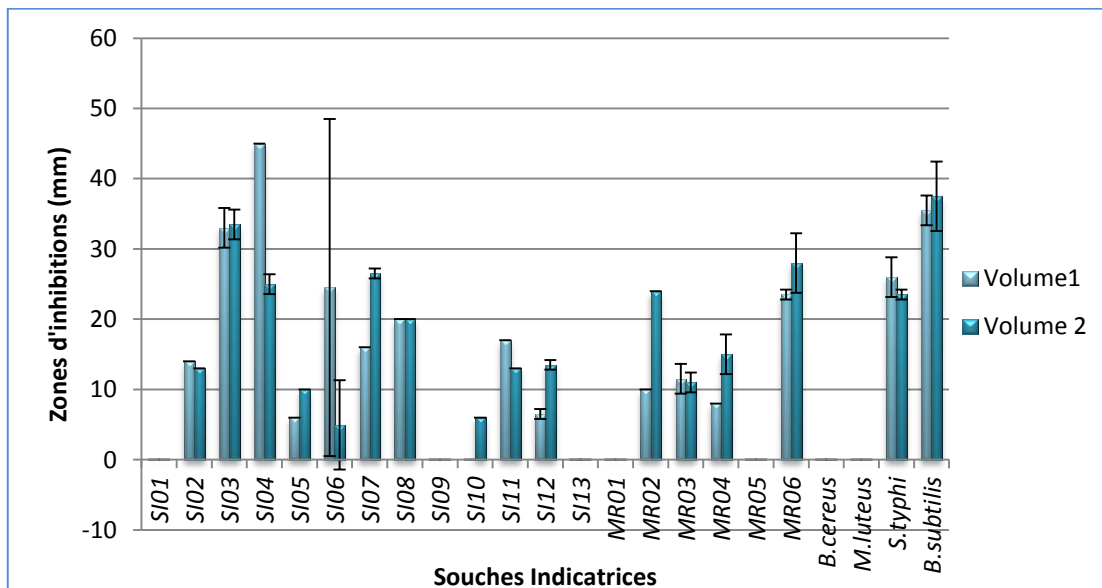


**Figure n°20** : L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux d'*O.gratissimum* par la méthode de puits

### 2.3. Activité antibactérienne de *C.cyminum*

L'évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé (puits) de l'HE *C.cyminum* a révélé des zones d'inhibition entre 6mm et 45 mm de diamètre contre les souches a Gram + et Gram – étudiées (**Figure n°21**).

La plus grande zone d'inhibition a été observée contre la souche *Entèrobacter* Spp codé (**SI04**) d'origine fécale, suivie d'une zone de 37,5 mm contre la souche *B.subtilus*, 33,5 mm contre la souche *E.coli* codé (**SI03**) d'origine fécale, et 28 mm de diamètre contre la souche multi-résistance aux ATB codée **MR06**. Le large spectre d'activité de cette HE est démontré dans diverses recherches, notamment (**Hinou et al., 1989 ; Gachkar et al., 2007**), où son effet inhibiteur contre les bactéries Gram positives et négatives est démontré.



**Figure n°21** : L'activité antibactérienne de l'HE de *C.cyminum* par la méthode de puits

L'activité antimicrobienne contre les Gram positives peut s'expliquer par l'absence de la membrane externe ce qui permet un contact direct de constituant hydrophobes des HEs avec la double couche de phospholipides de la membrane ; ce qui provoque une augmentation de la perméabilité des ions et la fuite des constituants intracellulaires (**Garcia et al., 2011**).

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait de *C.cyminum* par la méthode de diffusion en milieu gélosé révèle des zones d'inhibition entre 7mm et 17mm selon les souches microbienne testées et les volumes de l'extrait employé (**Figure n°22**).

Selon les résultats enregistrées ; l'extrait est doté d'un pouvoir antimicrobien avec un large spectre avec un optimum d'activité contre la souche (*Pseudomonas Aeruginosa*) codée (SI06).

La manifestation de la grande sensibilité des bactéries Gram- a l'extrait de *C.cyminum* peut être expliquée par la richesse de cet dernier avec les agents chimiques antimicrobiens tels que les acides phénoliques, flavonoïdes et les tannins qui servent de mécanisme de défense important des plantes contre les micro-organismes (Shan et al., 2007 ; Falleh et al., 2008 ; Askun et al., 2009).

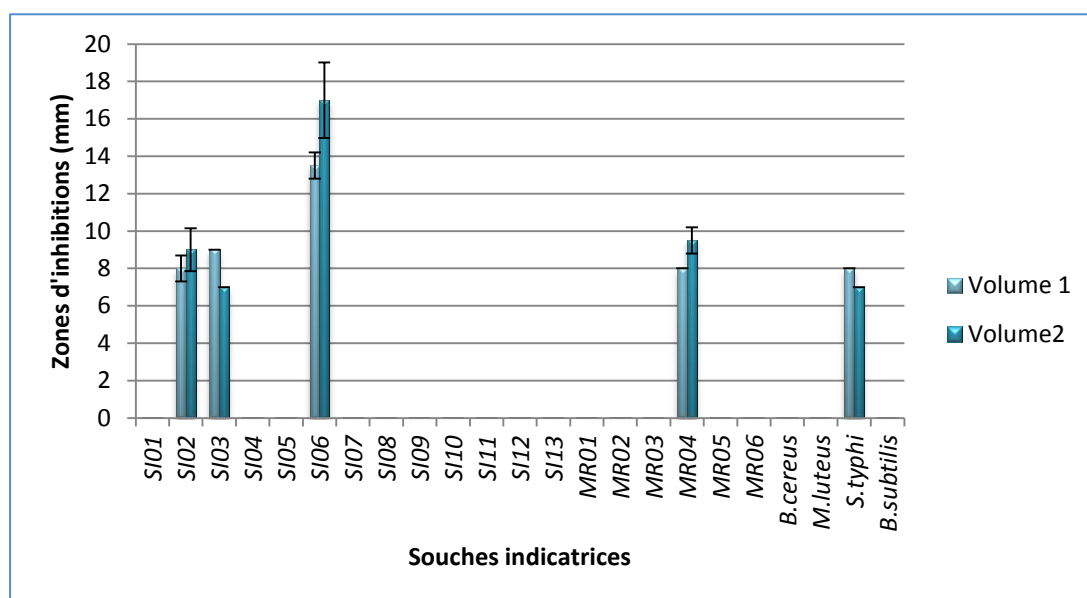


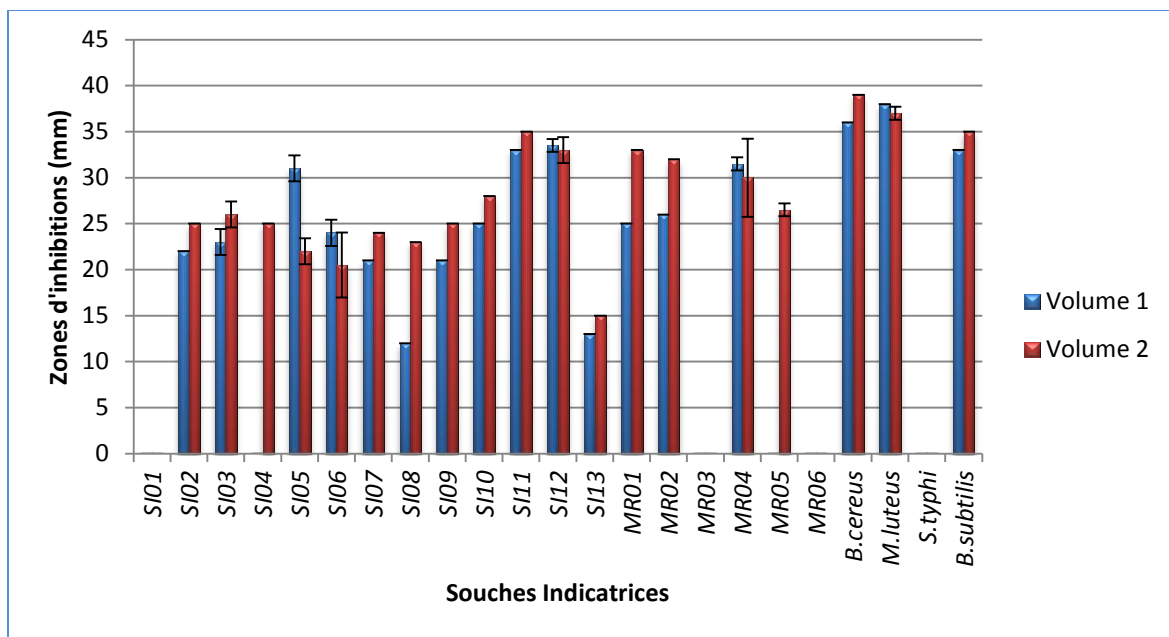
Figure n°22 : L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *C.cyminum* par la méthode de puits

#### 2.4. Activité antibactérienne de *Z.officinale*

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE de *Z.Officinale* par la méthode de diffusion en milieu gélosé a révélé des zones d'inhibition entre 12mm et 39mm pour les souches Gram + et Gram – testées (Figure n°23). Les souches extrêmement sensibles (+++) à l'HE issue de l'hydrodistillation des rhizomes de la plante étudiée ont été *B cereus*, *M luteus*, *B subtilis*, (*Staphylococcus aureus*), SI11 SI12 d'origine urinaire et les souches multirésistance MR04 et MR02 avec des valeurs de lyse de l'ordre de 31, 33, 35, 37 et 39 mm respectivement. Une action antibactérienne modérée (++) a été observée chez les souches

de (*Pseudomonas Aeruginosa*)(SI08) et (SI13) d'origine urinaire avec des diamètres de lyse de 12 et 13 mm.

L'HE de cette espèce examinée est plus puissante que celle de *Z.cassumunar*, qui a été signalée comme étant inactive contre *P.aeruginosa* et *S.aureus*, et avec une activité modeste contre *E.coli*, dont la zone inhibitrice a un diamètre de l'ordre de 7,5 mm dans l'investigation de **Kamazeri et al., (2012)**. L'huile volatile *Zingiber spp*, en revanche, a eu un effet négligeable sur les bactéries Gram + et Gram – dans l'étude de **Sabulal et al., (2006)**.

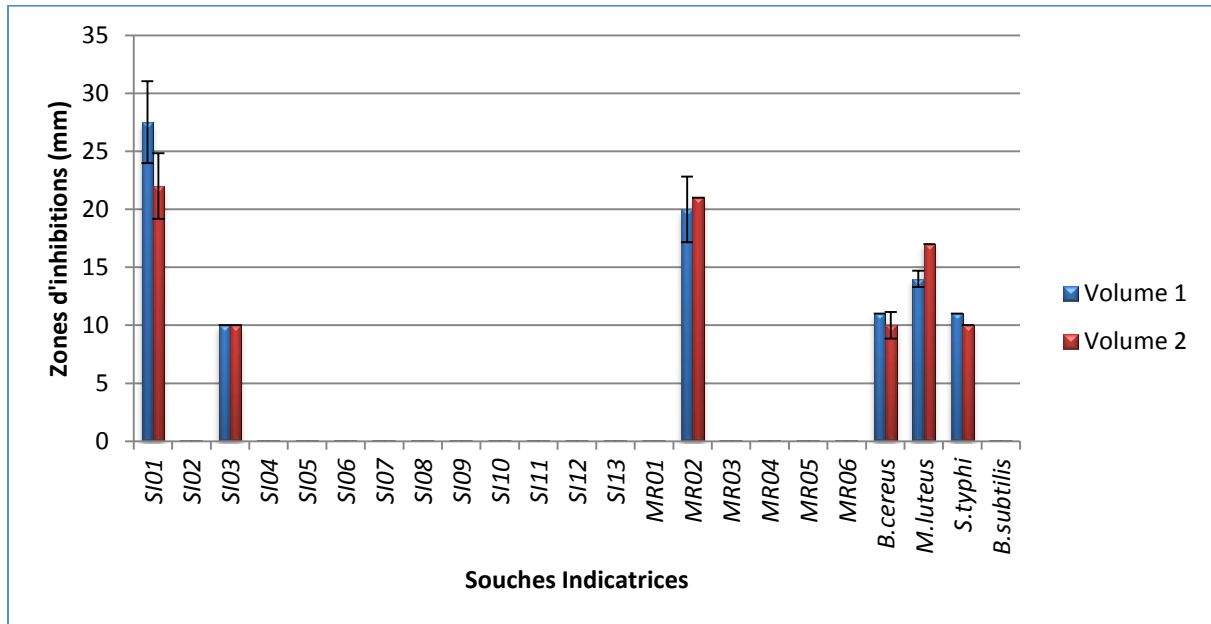


**Figure n°23** : L'activité antibactérienne de l'HE de *Z.officinale* par la méthode de puits

L'extrait de *Z.officinale* a exercé également un effet inhibiteur sur les bactéries-test à Gram+ et à Gram- avec des zones d'inhibition entre 10mm et 27mm (**Figure n°24**). Les souches les plus sensibles ont été *E. coli* d'origine urinaire codée (SI01), *E.coli* d'origine fécale codée (SI03) et *M. luteus*.

La majorité des recherches sur les propriétés antibactériennes du gingembre ont été menées sur des extraits organiques ; les extraits aqueux n'ont pas été étudiés. En effet, des extraits méthanoliques et à l'acétate d'éthyle de *Z.myoga*, une espèce de gingembre, ont été trouvés dans des expériences et ont induire une large zone d'inhibition chez *B.cereus*, une activité attribuée à la présence de miogadial(**Abe et al., 2004**).

Selon les résultats de cette étude, les extraits aqueux de gingembre ont un faible effet inhibiteur sur la croissance de pratiquement toutes les souches bactériennes examinées, cependant l'huile essentielle à un potentiel bactérien plus élevé. Malgré cela, l'extrait a montré une action inhibitrice dans la souche multirésistante **MR02**.



**Figure n°24** : L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *Z.officinale* par la méthode de puits

Par rapport aux extraits de plantes étudiés, les HEs avaient une très forte activité antibactérienne ; les plus grands diamètres ont été enregistrés contre les souches évaluées en fonction de l'HE (*Z.officinale*).

Les HEs peuvent être bactériostatiques (empêchent la prolifération des cellules bactériennes) ou bactéricides (tuent les bactéries) (**Alessandra, 2008**). Le mode d'action est déterminé sur le type de microbe. Les bactéries Gram négatives sont souvent plus résistantes que les bactéries Gram positives car leur membrane externe est riche en lipopolysaccharides (LPS), ce qui les rend plus hydrophile et empêche les substances hydrophobes des HEs de s'y fixer (**Cristiani et al., 2007**).

La **Figure n°25** présente des photos de l'activité antimicrobienne des HEs des quatre plantes étudiées contre quelques souches-test.

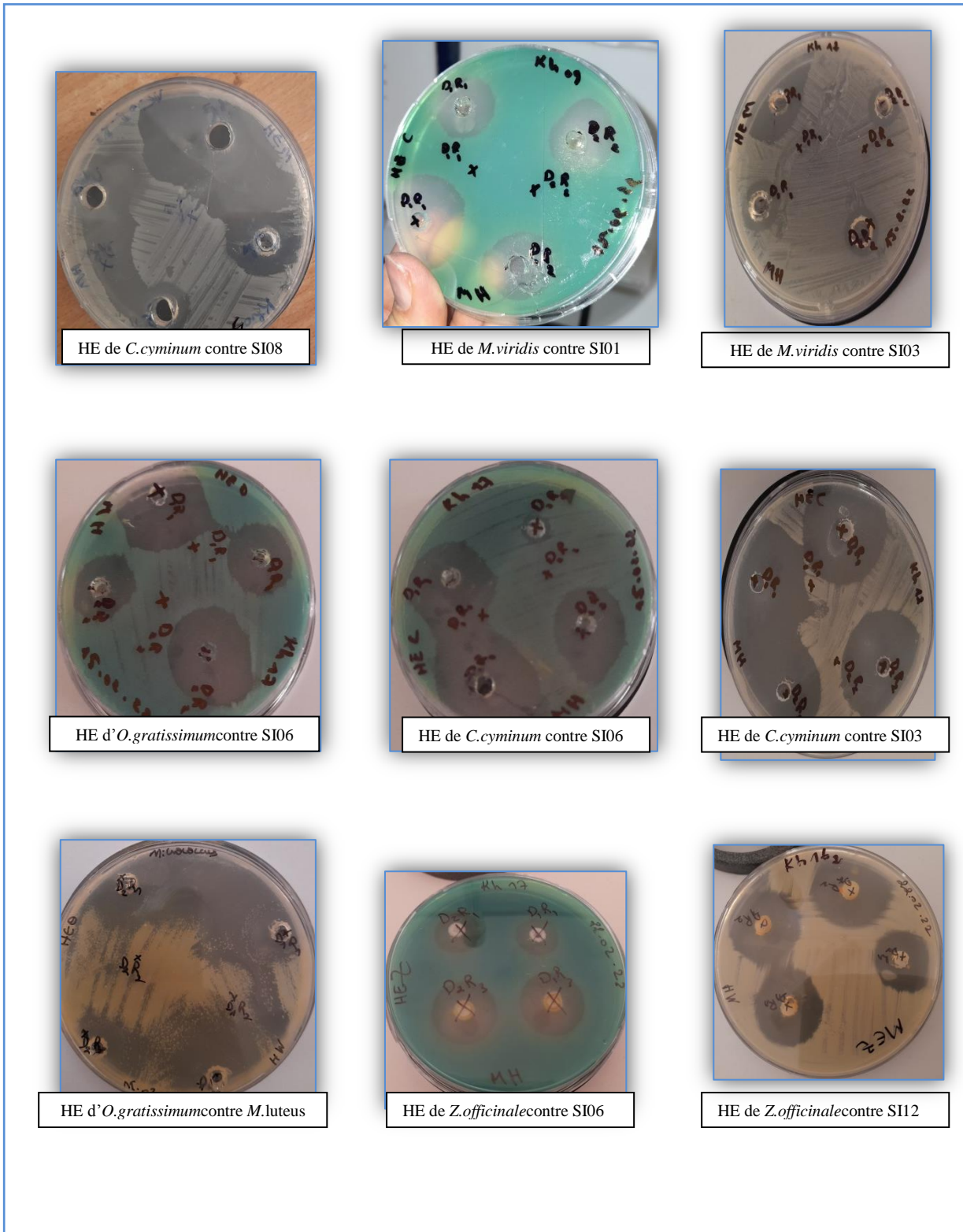


Figure n°25 : Photos représentatifs de l'activité antimicrobienne des HEs des quatre plantes étudiées contre quelque souches-test



### III. Etude de la synergie

#### 1. Etude de la synergie des extraits bioactifs

L'étude de la synergie des HEs et des extraits avec les bactéries sélectionnée a été évaluée par deux méthodes dans le milieu solide et liquide à la fois " par micro-atmosphère et par détermination de la CMI et CIF ".

##### 1.1.Détermination de la CMI et CIF

Les résultats montraient dans les **Tableau n°10** et **n°11** présentent un bon pouvoir inhibiteur combiné où des CMI des HE ou des extraits combinées ont été signalé inférieurs par rapport à les CMI des HE ou des extraits seuls contre les même souches cibles dans la plupart des cas. A titre d'exemple, l'évaluation de la CMI des HEs de *M.viridis* et *C.cyminum* seuls permet de constater des valeurs contre la souche Gram négatif "SI02" de l'ordre de 64µg/ml±00, la valeur de la CMI de ces HEs en combinaison a été 56µg/ml±0,06. Dans le même ordre d'idée, la CMI de l'HE d'*O.gratissimum* était 256µg/ml±1,18 contre la souche "SI05", une diminution très importante de la CMI a été illustré lorsque cette HE et en combinée avec les autre HE employées.

La faible dose des HEs nécessaire pour tuer ou inhiber la croissance d'un germe est un facteur de choix pour éviter la cytotoxicité de ces derniers (**Sinha et al.,2014**).

**Tableau n°10** : Les concentrations minimales inhibitrices des HEs seuls ou combinées contre les souches indicatrices sélectionnées

| Souches Bactériennes | <i>M.viridis</i> | <i>O.gratissimum</i> | <i>C.cyminum</i> | <i>Z.officinale</i> | HE combinées |
|----------------------|------------------|----------------------|------------------|---------------------|--------------|
| SI01                 | 32µg/ml±1,84     | 64µg/ml±00           |                  |                     | 12µg/ml±00   |
| SI02                 | 64µg/ml±00       | 64µg/ml±00           | 64µg/ml±00       | 32µg/ml±00          | 56µg/ml±0,06 |
| SI03                 | 16µg/ml±00       | 32µg/ml±00           | 16µg/ml±00       | 32µg/ml±00          | 36µg/ml±00   |
| SI04                 | 128µg/ml±1,14    | 16µg/ml±00           | 32µg/ml±0,07     | 32µg/ml±00          | 40µg/ml±00   |
| SI05                 | 32µg/ml±0,07     | 256µg/ml±1,18        | 128µg/ml±0,07    | 64µg/ml±00          | 60µg/ml±00   |
| SI10                 |                  | >512µg/ml±00         | 64µg/ml±00       | 64µg/ml±00          | 224µg/ml±00  |
| SI11                 |                  | 128µg/ml±00          | 128µg/ml±00      | 32µg/ml±00          | 52µg/ml±00   |
| <i>B.subtilis</i>    | 64µg/ml±00       | 128µg/ml±00          | 32µg/ml±00       | 16µg/ml±00          | 38µg/ml±00   |

En plus du concept d'effet combiné, le **Tableau n°10** illustre des valeurs significatives des CMI de HE seul (**Figure n°26**) où, par rapport aux résultats de (**Laggoune et al., 2016**), des CMI plus élevées ont été montrées entre les souches Gram négatif testées et en ligne avec le trait de (**Shabazi, 2015**) où les CMI contre Gram positif étaient presque égales à nos résultats contre ce même genre bactérien.



**Figure n°26:** Photos représentatives de résultats des CMI dans la microplaque à 96 puits

**Tableau n°11 :** Les concentrations minimales inhibitrices des extraits aqueux seuls ou combinées contre les souches indicatrices sélectionnées

| Souches Bactériennes | <i>M.viridis</i> | <i>O.gratissimum</i> | <i>C.cyminum</i> | <i>Z.officinale</i> | Extraits combinées |
|----------------------|------------------|----------------------|------------------|---------------------|--------------------|
| SI11                 | 256µg/ml±1,14    | 128µg/ml±00          | 128µg/ml±00      |                     | 304µg/ml±00        |
| SI04                 |                  | 128µg/ml±00          | 64µg/ml±00       | 64µg/ml±00          | 32µg/ml±00         |
| <i>B.subtilis</i>    |                  | 64µg/ml±00           |                  | 32µg/ml±00          | 10µg/ml±00         |

Lors de la comparaison des extraits aux HEs de la même plante, la première observation a donné des valeurs de CMI élevées. Concernant *M.viridis*, la CMI est égale à 256 µg/ml pour la souche **SI11**, ce résultat obtenu par la méthode de microdilution montre qu'il n'est pas corrélé avec celui obtenu par la méthode du puits où des bonnes zones de lyse reflètent à une CMI faible ont été signalés, pour la extraits de *O.gratissimum*, et *C. cyminum*, la CMI est comprise entre 64µg/ml à 128µg/ml pour les souches Gram positif et Gram négatif sélectionnées. La détermination de la CMI pour *Z. officinale* montre que le résultat est compris entre 32 µg/ml et 64 µg/ml pour les souches **SI04** et *B subtilis* ; l'activité de cet extrait est plus efficace que les autres.

Il a été observé que les produits chimiques responsables de l'effet antibactérien des extraits sont très probablement des diterpénoïdes de composés phénoliques, qui sont les principaux constituants de la fraction apolaire des extraits de plantes (**Fernandez-Lopez et al., 2005**). Cela pourrait expliquer la faible activité de nos extraits polaires.

Pour les extraits combinés les CMI vont de 10 µg/ml à 304 µg/ml pour les trois souches sensibles. Cette sensibilité se manifeste dans la variété moléculaire des extraits, qui ne réagissent pas de la même manière, ainsi que dans la composition et la concentration des extraits combinés.

Dans les cas où l'évaluation a été réalisée en combinant deux extraits, le CIF a été calculé pour juger de la nature de l'activité synergique.

Dans le cas de l'association d'HE de *M.viridis* et *O.gratissimum* contre la souche *E.coliSI01*, et d'extraits de *O.gratissimum* et *Z.officinale* contre *B.subtilis*, l'Indice de Concentration Inhibitrice Fractionnelle (ICIF) était de 0,56 et 0,47, respectivement, indiquant que les extraits agissaient de manière synergique où pour les HE une synergie partielle a été donné et une autre total a été signalé pour la combinaison des extraits.

## 1.2.Méthode de Micro-atmosphère

La méthode de micro-atmosphère a été utilisée pour évaluer en milieu solide l'activité combinée des HEs et des extraits contre les bactéries-tests triées (**Tableau n°12**).

**Tableau°12:** Diamètres des zones d'inhibition des souches testés vis-à-vis de l'HE combiné et l'extrait combiné par la méthode de micro-atmosphère

| Souches Bactériennes | HE combinées | Extraits combinées |
|----------------------|--------------|--------------------|
| SI01                 | 65±1,14      |                    |
| SI02                 | 57,5±3,35    |                    |
| SI03                 | 55±00        |                    |
| SI04                 | 69±1,14      | 15,5±1,14          |
| SI05                 | 73,5±2,12    |                    |
| SI10                 | 25±00        |                    |
| SI11                 | 78,5±4       | 13±00              |
| <i>B.subtilis</i>    | 80±00        | 18,5±2,12          |

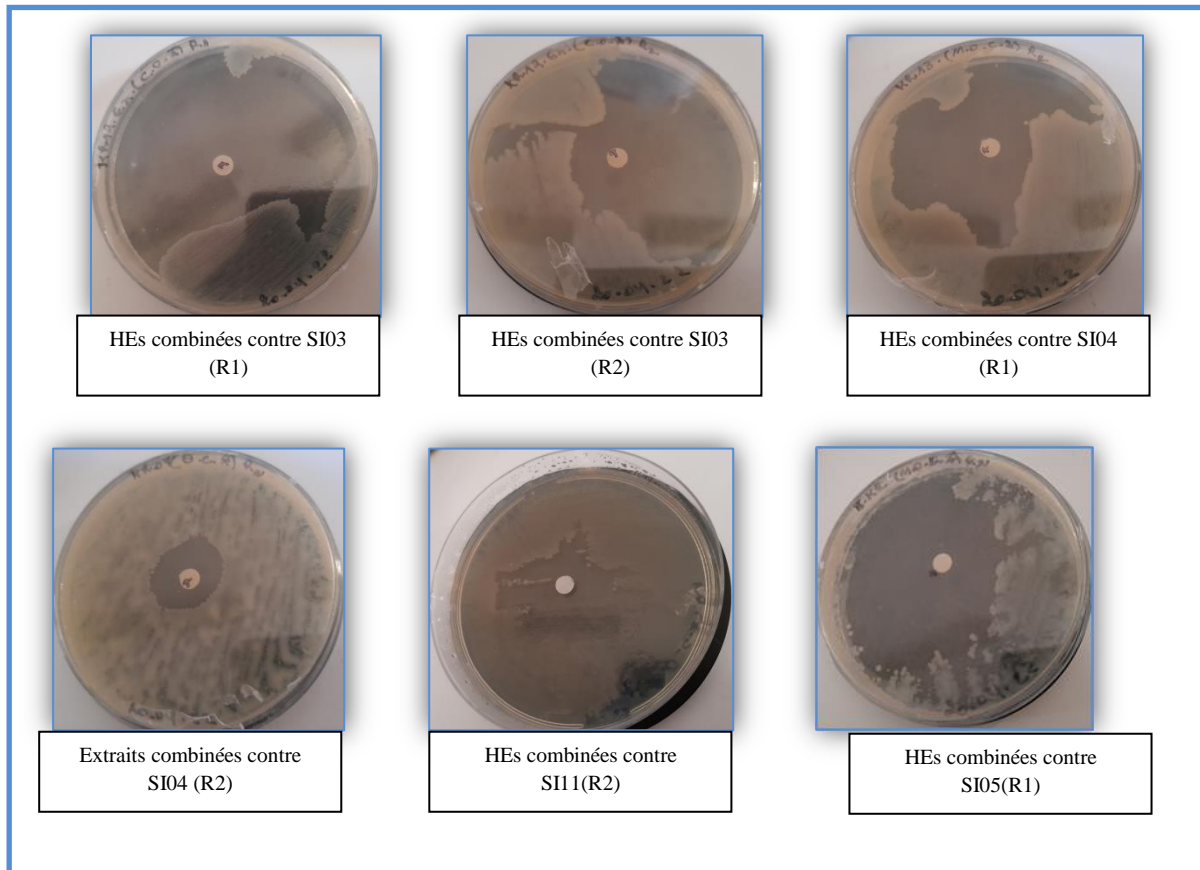
L'activité inhibitrice des extraits varie selon le milieu solide ou liquide et peut être décrite en termes de diffusion, de volatilité et d'oxydation des molécules bioactives. En réalité, il est conservé dans un milieu hermétique en milieu liquide, ce qui limite les événements d'oxydation (Mnayer, 2014).

Les résultats du Tableau montrent que les HEs et les extraits inhibent un large éventail de bactéries Gram-positives et Gram-négatives ; cependant, la sensibilité de ce dernier diffère selon l'HE et l'extrait qui sont combinés.

On a enregistré que les diamètres des zones d'inhibition pour toutes les souches sont très grandes notamment pour les souches : *B.subtilis*, **SI11**, **SI05**, **SI04**, **SI03**, **SI02** et **SI07** avec des diamètres de zone d'inhibition considérables telles que 80mm, 78,5mm, 73,5mm, 69mm et 57,5mm (**Figure n°27**). Tandis que les HEs (*O.gratissimum*, *C.cyminum* et *Z.officinale*) combinées à maintenir un effet antibactérien modéré par rapport à les autres résultats sur la souche **SI10** avec un diamètre de 25mm. Les données mentionnées indiquent que toutes les bactéries citées sont particulièrement sensibles aux extraits combinées. Les souches Gram-positives et Gram-négatives qui ont inhiber avec des largeurs de zone inhibitrice supérieures à 20 mm sont extrêmement sensibles à l'effet antagonisme de l'agent antimicrobien (**Haadouch et al., 2019**). Alors que les extraits combinés ont montré une activité antibactérienne contre toutes les souches testées avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 18,5 mm (**Figure n°27**).

L'adaptation des HEs mieux aux extraits a la méthode de micro-atmosphère peut s'explique par que l'approche micro-atmosphère a été utilisée pour mettre en évidence

l'activité antibactérienne de la fraction volatile des essentiellement des HEs en milieu solide ; en milieu solide, le principe actif se volatilise facilement à l'extérieur de la boîte de Pétri, ce qui est facilité par la température de l'étuve. (Hmiri et al., 2011).



**Figure n°27 :** Photos représentatif de l'activité antibactérienne des extraits bioactifs combinées contre quelques souches-test

## 2. Etude de la synergie des HEs et des ATB

L'étude de la synergie des HEs et des ATB a été évaluée également par les deux méthodes "micro-atmosphère et détermination de la CMI et CIF " contre les bactéries-test multirésistante aux ATB sensibles à un ou deux HEs.

## 2.1.Détermination de la CMI et CIF

Les bactéries multirésistantes aux ATB choisies pour le test de synergie étaient *S.aureus* MR02, *E.coli* MR04 et *P.aerugenosa* MR05. Malgré leur multi-résistance, les HE ont démontré une large gamme antibactérienne entre eux avec des CMI exceptionnelles (Tableau n° 13). Alors que pour les ATB standard (cefazoline, ampicilline) les CMI étaient supérieures à 512 µg/mL (1250µg/ml, >2500µg/ml). L'HE de *Z.officinale* avait la CMI la plus basse (variant de 32 à 64 µg/mL). Des résultats similaires sur l'efficacité de cette huile volatile de *Z.officinale* ont été publiés par (Puri et Germany, 2000). Dans leurs recherches, ces auteurs ont découvert de faibles valeurs de CMI de HE de *Z.officinale* ont été trouvés contre une large gamme des bactéries, y compris contre le SARM.

**Tableau n°13** : Les concentrations minimales inhibitrices des HEs et des ATB contre les souches indicatrices multirésistance aux ATB sélectionnées

| Souches Bactériennes | <i>O.gratissimum</i> | <i>C.cyminum</i> | <i>Z.officinale</i> | Cefazoline     | Ampicilline    |
|----------------------|----------------------|------------------|---------------------|----------------|----------------|
| MR02                 |                      | 128µg/ml±0,14    | 64µg/ml±00          | 625µg/ml±0,16  | 1250µg/ml±0,06 |
| MR04                 | 128µg/ml±00          |                  | 32µg/ml±00          | 1250µg/ml±0,00 | >2500µg/ml     |
| MR05                 |                      |                  | 64µg/ml±00          | 1250µg/ml±0,06 | 1250µg/ml±0,00 |

En se basant sur les résultats obtenus avec les HEs de (*Z.officinale*, *O.gratissimum*, *C.cyminum*), leur synergie avec des ATB standards a été étudiée (Tableau n°14 et Tableau n°15).

**Tableau n°14** : la CMI des HEs combinées avec les ATB contre les souches indicatrices MR sélectionnées

|                                   | MR02             | MR04            | MR05             |
|-----------------------------------|------------------|-----------------|------------------|
| <i>O.gratissimum</i> +cefazoline  |                  | 328,5µg/ml±0,16 |                  |
| <i>O.gratissimum</i> +ampicilline |                  | ND              |                  |
| <i>C.cyminum</i> + cefazoline     | 47,0625µg/ml±00  |                 |                  |
| <i>C.cyminum</i> +ampicilline     | 172,25µg/ml±0,16 |                 |                  |
| <i>Z.officinale</i> + cefazoline  | 172,25µg/ml±00   | ND              | 160,25µg/ml±0,14 |
| <i>Z.officinale</i> +ampicilline  | 19,625µg/ml±0,16 | 314,5µg/ml±0,41 | 82,125µg/ml±00   |

ND : non déterminé

L'association des HEs testées avec les ATB a donné une activité synergique différentielle en fonction des souches testées, tandis que diminution dans les CMI des ATB en combinaison a été noté dans la totalité des cas.

A titre d'exemple, l'association d'HE de *Z.officinale* et d'ampicilline a démontré une action synergique avec des CMI allant de  $19,625\mu\text{g/ml}\pm 0,16$  à  $314,5\mu\text{g/ml}\pm 0,41$ , des valeurs très faible à les CMI des ATB seuls. De plus, la CMI de la combinaison la (cefazoline + *O.gratissimum*) était  $328,5\mu\text{g/ml}\pm 0,16$  contre *E.coli* **MR04**, une valeur négligeable par rapport à  $1250\mu\text{g/ml}\pm 0,00$  la CMI de l'ATB seul. En effet, (Toure, 2015) a montré des phénomènes synergiques positive de l'association huile/antibiotique (ceftazidime) particulièrement contre les Gram positif en particulier *S. aureus* avec des CMI passe de 64 à  $16\mu\text{g/mL}$ . Par conséquent, les quantités de ceftazidime nécessaires à l'inhibition de la souche sont considérablement réduites avec cette association, tout comme la concentration d'huile essentielle, qui n'était que très modestement active lorsqu'elle était utilisée seule. Selon ces résultats, l'association des ATB à des HEs renforce l'efficacité des traitements antibactériens et aide à prévenir l'établissement de résistances bactériennes (Xian Fei, et al., 2007).

A partir de dix combinaisons testées entre les huiles essentielles d'*O.gratissimum*, *C.cyminum* et *Z.officinale* et les deux antibiotiques (cefazoline et ampicilline) (Tableau n°15), deux des combinaisons ont montré une synergie totale, trois ont montré un effet antagonisme et deux des combinaisons n'ont pas d'effet synergique.

**Tableau n°15:** l'indice de Concentration inhibitrice fractionnaire des HEs combinée avec des ATB contre les souches indicatrices MR sélectionnées

|                                   | MR02 | MR04 | MR05  |
|-----------------------------------|------|------|-------|
| <i>O.gratissimum</i> +cefazoline  |      | 3,88 |       |
| <i>O.gratissimum</i> +ampicilline |      | ND   |       |
| <i>C.cyminum</i> + cefazoline     | 0,44 |      |       |
| <i>C.cyminum</i> +ampicilline     | 1,48 |      |       |
| <i>Z.officinale</i> + cefazoline  | 2,97 | ND   | 2,628 |
| <i>Z.officinale</i> +ampicilline  | 0,32 | ND   | 1,34  |

L'effet synergique le plus fort a été obtenu avec la combinaison de l'HE *C.cyminum* et le cefazoline et le HE *Z.officinale* et l'ATB ampicilline, avec ICIF

respectivement de 0,44 et 0,32 contre **MR02** (une synergie totale lorsque ICIF  $\leq$  0,5), alors que un autre différentielle ( $1 < \text{ICIF} > 4$ ) a été observé pour les autres combinaisons comme dans le cas de (*Z.officinale*+ cefazoline) contre les souches **MR02** et **MR05** et (*O.gratissimum*+cefazoline) contre la souche **MR04**. En effet, l'activité inhibitrice d'une HE est le résultat d'un jeu complexe entre ses éléments, qui produit des effets additifs, synergiques ou antagonistes même à faible dose, et ceux-ci peut facilement modifier lors de la présence d'un autre agent antimicrobien (**Xianfei et al., 2007**), parallèlement, l'activité d'indifférence de la combinaison peut s'expliquer par l'interaction des différents produits chimiques, ce qui peut entraîner des changements conformationnels structurels au niveau de la paroi cellulaire bactérienne, entraînant une réduction de l'activité inhibitrice (**Arrigo et al., 2010**).

## 2.2.Méthode de Micro-atmosphère

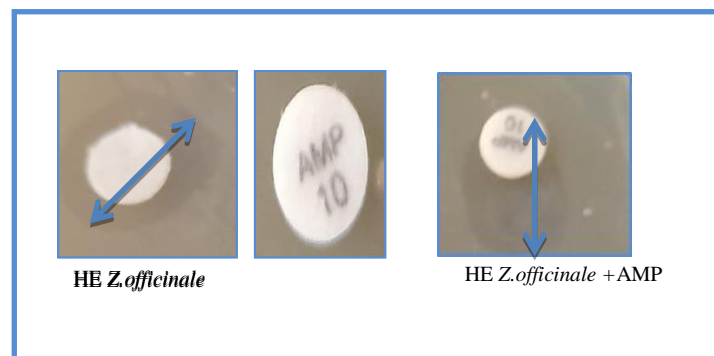
L'activité inhibitrice des HEs combiné avec les deux ATB par la méthode micro-atmosphère a révélé des données très actives sur les souches testées en donnant un diamètre d'inhibition variant entre  $07 \pm 0,70$  et  $34,5 \pm 0,70$  mm. L'activité était similaire et comparables à l'exception de combiné (*O.gratissimum*+ampicilline) contre *E.coli* **MR04**, cependant, ce résultat est reflété à la détermination de la CMI et l'ICIF.

La souche **MR04** est marquée comme la souche la plus résistante. Une souche bactérienne est résistante à un ATB si elle contient un mécanisme de résistance qui augmente la valeur de la concentration minimale inhibitrice des agents antimicrobien, ou si la thérapie est inefficace (**Afssa, 2006**). Ces résultats sont cohérents avec des recherches antérieures (**Haichour et al., 2021**) qui ont révélé que la combinaison d'huile d'*Ocimumspp.*, et de gentamicine avait des effets synergiques contre les Gram-positifs *B. cereus*, *B. subtilis* et *S. aureus*, mais pas contre les Gram-négatif ; La combinaison avec la gentamicine était moins efficace contre *E coli* et *Acinetobacterbaumannii*. Alors que, lorsque l'HE de *Z.officinale* est associé au même ATB (ampicilline), une augmentation significative de l'action bactérienne et des zones d'inhibition ont été détecté contre les Gram-positif et les Gram-négatif testés (**Figure n°28**).



**Tableau n°16:** Diamètres des zones d'inhibition (en mm) des souches testés vis-à-vis de l'HE combiné avec ATB par la méthode de micro-atmosphère

|                                   | MR02      | MR04      | MR05      |
|-----------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| <i>O.gratissimum</i> +cefazoline  |           | 24,1±0,70 |           |
| <i>O.gratissimum</i> +ampicilline |           | 07±0,70   |           |
| <i>C.cyminum</i> + cefazoline     | 10,5±0,70 |           |           |
| <i>C.cyminum</i> +ampicilline     | 15,7±1,70 |           |           |
| <i>Z.officinale</i> + cefazoline  | 10,5±0,70 | ND        | 10,25 ±00 |
| <i>Z.officinale</i> +ampicilline  | 34,5±0,70 | 13,5±0,70 | 23,5±0,70 |



**Figure n°28 :** activité antibactérienne de HE de *Z.officinale* et AMP seul et en combinaison contre *E.coli* MR04

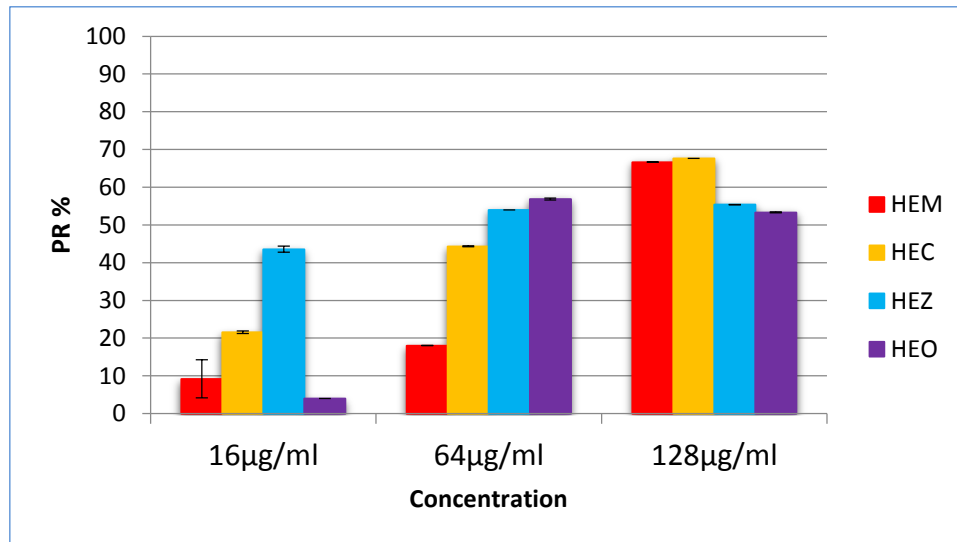
En général, l'efficacité antibactérienne de diverse combinaison ATB-HEs varie en fonction des souches testées, des types d'ATB employés et des HEs utilisées, mais certaines combinaisons ont montré des résultats favorables et fascinants à exploiter.

#### IV. Activité antioxydante

Les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et des inactivateurs d'oxydants (**Bougandoura et Bendimerad, 2012**). L'activité antioxydante des extraits bioactifs des plantes étudiées a été réalisé par l'étude de pouvoir réducteur "test FRAP" (*Ferric Reducing antioxidant Power*). Le test de pouvoir réducteur met en évidence la capacité d'une molécule à réduire un oxydant (le fer ferrique Fe<sup>3+</sup>) en lui cédant un électron pour former le fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>), c'est une technique rapide, simple, facile et reproductible (**Mouffouk, 2019**). De ce fait, le pouvoir réducteur est considéré comme un indicateur significatif de l'activité antioxydante potentielle des composés. De nombreuses études ont montré

précédemment que le pouvoir réducteur des HEs et des extraits des plantes pourrait être fortement corrélé avec leurs activités antioxydantes.

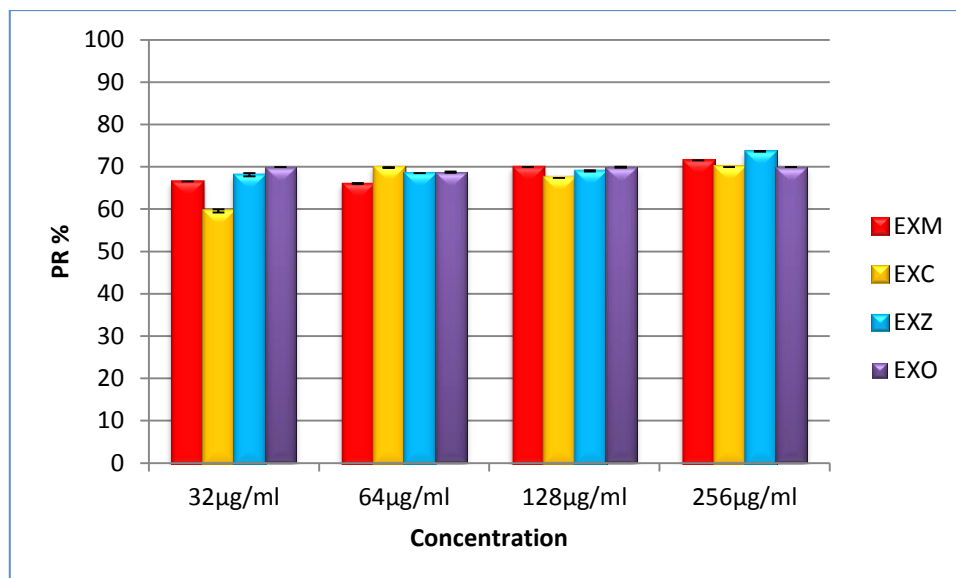
Le test de pouvoir réducteur des HEs et des extraits de quatre plantes a été réalisé *in vitro* à partir des concentrations différentes. Les pourcentages de ces pouvoirs nous ont permis de tracer un histogramme exponentiel pour chaque huile volatile et de chaque extrait aqueux (Figure n°29 et Figure n°30).



**Figure n°29** : Pouvoir réducteur des HEs de quatre plantes étudiées

D'après les résultats obtenus, on a noté que le pourcentage de pouvoir réducteur augmente avec l'augmentation de la concentration pour les différentes HEs de quatre plantes à autre terme la capacité de réduction de fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des HEs. En concentration de 16 µg/ml, le pouvoir réducteur le plus élevée pour les huiles était de HE de *Z.officinale* et de *C.cyminum* avec des pourcentages de réduction (PR%) de 42% et 21%, alors que le plus faible été enregistré pour l'HE d'*O.gratissimum* et du *M.viridis* avec des pourcentages de 3% et 9,50%.

En concentration de 64 µg/ml, le pourcentage du pouvoir réducteur était très élevé pour les quatre HEs avec des pourcentages différents de 18%, 40% et 50%. Tandis que, pour la concentration de 128 µg/ml le pourcentage de pouvoir réducteur de quatre HEs était très important et très proche.



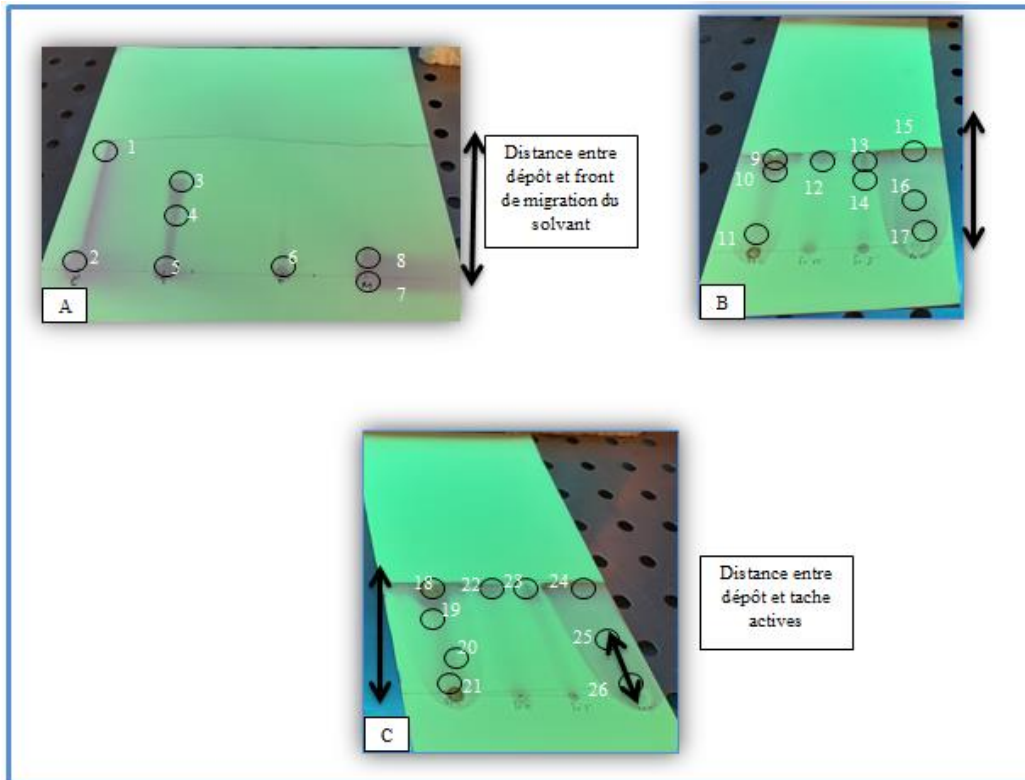
**Figure n°30** : Pouvoir réducteur des HEs de quatre plantes étudiées

D'après les résultats (**Figure n°30**), le pouvoir réducteur des extraits végétaux des plantes (*M.viridis*, *Z.officinale*, *O.gratissimum* et *C.cyminum*) au point de 32 µg/ml ; 64 µg/ml ; 128 µg/ml ; 256 µg/ml été signalé très élevé et proche de la moyenne de 72 %. Le pouvoir réducteur élevé des quatre extraits de plantes par rapport à le pouvoir réducteur des HEs de même plantes est probablement dû à la présence dans ces extraits de groupes hydroxyles dans les composés phénoliques, qui peuvent agir comme donneurs d'électrons. Les recherches de (**Vancent et al., 2008**) sur la chélation des ions fer par des flavonoïdes spécifiques ont révélé des sites critiques pour la chélation des ions métalliques.

## V. Détermination de la composition des extraits bioactifs

### 1. Criblage chromatographique des composées

Les résultats la détermination de la composition des composées des HEs et des extraits sont représentés dans la **Figure n°31** et dans les **Tableau n°17** et **n°18**.



**Figure n°31** :Résultat de chromatographie sur couche mince **A** : des HEs, **B** : des polyphénols, **C** : des flavonoïdes

Après une révélation chimique spécifique et autre physiques par la visualisation sous UV à 254 nm, de nombreuses taches colorées surtout violetes pour les HEs et en jaune et orange pour les extraits ont été observés. Les nombres et la coloration des taches donne une vue sur le nombre et la nature des composés bioactifs présentes dans les échantillons et confirment la présence des composés phénoliques et de flavonoïdes(Dohou *et al.*, 2003 ; Mamyrbekova-Bekro *et al.*, 2012).

**Tableau n°17 : Résultats de la CCM des HEs de quatre plantes**

| <b>Système de migration (Eau salée- Ethanol5/1, V/V)</b> |                 |         |
|--|-----------------|---------|
| Les taches   | Rapport frontal | Couleur |
| <b>1</b>   | 0,95            | Violet  |
| <b>2</b>   | 0,15            | Bleu    |
| <b>3</b>   | 0,74            | Violet  |
| <b>4</b>   | 0,53            | Violet  |
| <b>5</b>   | 0,21            | Violet  |
| <b>6</b>   | 0,24            | Violet  |
| <b>7</b>   | 0,17            | Violet  |
| <b>8</b>   | 0,29            | Violet  |

Chaque spot détecté après séparation des composantes sur la base du coefficient de partage entre la phase stationnaire et la phase mobile est identifié par un Rf déterminé. La valeur de Rf reflète directement l'affinité entre la molécule et le système solvant de migration polaire utilisé dans les trois CCM, ainsi que la nature polaire ou apolaire de la molécule.

En utilisant les numéros des taches visualisées dans la séparation de l'HE de *C.cyminum* comme exemple, deux taches ont été remarquées ; ces deux spots (1 et 2) se distinguent par deux Rf différents à deux couleurs. D'après Rf1 (0,95), une très forte affinité pour la phase mobile est découverte, impliquant que la nature de la molécule est probablement polaire, contrairement à la tache 2 (0,15), ou une forte affinité est enregistrée pour la phase stationnaire, impliquant que cette molécule a un caractère apolaire.

**Tableau n°18** : Résultats de la CCM des extraits de quatre plantes

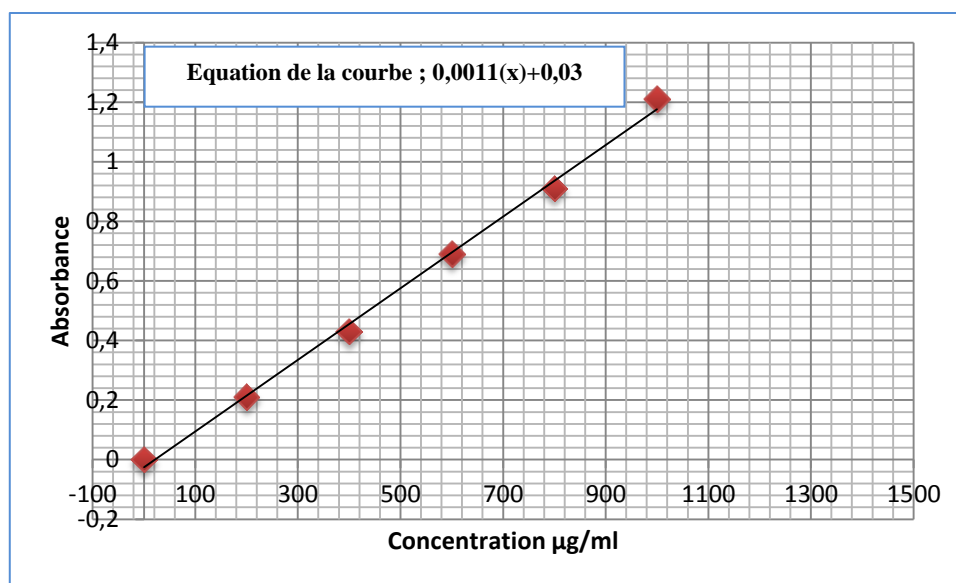
| <b>Système de migration (Acétate d'éthyle- Méthanol-Eau distillé<br/>7/2,3/0,3, V/V)</b> |      |        |
|--|------|--------|
| <b>9</b>   | 0,97 | Orange |
| <b>10</b>  | 0,83 | Orange |
| <b>11</b>  | 0,37 | Jaune  |
| <b>12</b>  | 0,84 | Violet |
| <b>13</b>  | 0,87 | Bleu   |
| <b>14</b>  | 0,75 | Jaune  |
| <b>15</b>  | 0,98 | Orang  |
| <b>16</b>  | 0,63 | Jaune  |
| <b>17</b>  | 0,31 | Jaune  |
| <b>18</b>  | 0,92 | Jaune  |
| <b>19</b>  | 0,72 | Jaune  |
| <b>20</b>  | 0,43 | Bleu   |
| <b>21</b>  | 0,23 | Orang  |
| <b>22</b>  | 0,97 | Bleu   |
| <b>23</b>  | 0,98 | Bleu   |
| <b>24</b>  | 0,97 | Orange |
| <b>25</b>  | 0,57 | Orange |
| <b>26</b>  | 0,13 | Orange |

Les résultats de la CCM des extraits corroborent l'existence des composés phénoliques et des flavonoïdes des quatre plantes étudiées, la quantité et l'intensité de la couleur des taches variant selon la plante mise en jeu.

## 2. Dosage des composés poly-phénoliques et des flavonoïdes

Le taux de composés poly-phénoliques et des flavonoïdes dans les extraits aqueux des feuilles, des graines et des rhizomes des quatre plantes utilisées dans notre enquête scientifique (*M.viridis*, *O.gratissimum*, *C.cyminum*, et *Z.officinale*) est présenté dans les **Tableaux n°19** et **n°20** et les **Figure n°33** et **n°35** ci-dessous.

La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols, des plantes médicinales et des nourritures (**Abdel-Hameed, 2009**). Selon (**Maisuthisakulet al., 2008**). L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans la méthode de Folin-Ciocalteu (**Figure n°32**). L'acide gallique s'est avéré être un piègeur de radicaux libres et un inducteur de différenciation et de mort dans les lignées cellulaires de leucémie, de cancer du poumon et d'adénocarcinome du côlon, ainsi que dans les cellules lymphocytaires normales. (**Kechar et Hellal, 2017**)

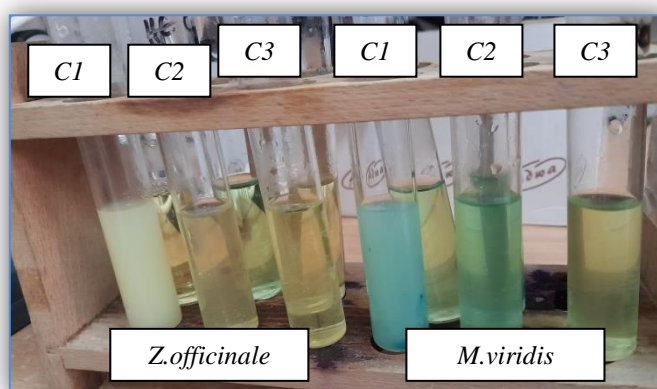


**Figure n°32** : courbe d'étalonnage d'acide gallique

**Tableau n°19:** Résultats du dosage des polyphénols des extraits aqueux de quatre plantes étudiées

| Extrait              | Quantité des polyphénols totaux (mg EAG/g ES) |
|----------------------|---|
| <i>M.viridis</i>     | 1,715±0,041                                   |
| <i>Z.officinale</i>  | 0,717±0,081                                   |
| <i>C.cuminum</i>     | 0,982±0,518                                   |
| <i>O.gratissimum</i> | 0,952±0,246                                   |

Le **Tableau n°19** montre que les concentrations totales de polyphénols des extraits de feuilles de *M. viridis* et d'*O. gratissimum* et des graines de *C.cuminum* étaient supérieures à celles des rhizomes de *Z.officinale* (**Figure n°33**). (**Gharib et Silva 2013**) et (**Nickavar et al., 2013**) ont observé des résultats similaires. Dans le même concept, (**Derakhshani et al., 2012**) ont déclaré que la menthe verte a la concentration la plus élevée en polyphénols parmi les espèces de menthe. Alors que, (**Dorman et al., 2003**) ont mené une autre étude, qui a révélé que l'extrait aqueux de la section aérienne de *Menthaspicata.L* donnait une valeur de 214 mg EAG/g d'extrait. Ces résultats sont également cohérents avec ceux de (**Chen et al., 2008**), qui ont découvert que les concentrations totales de polyphénols des extraits de rhizomes de *Z.kawagooi* Hayata et *Z.oligophyllum* sont d'environ 28 et 20 mg EAG g<sup>-1</sup> MS, respectivement.

**Figure n°33 :** Résultats de dosage des polyphénols des extraits de *M.viridis* et *Z.officinale*

Les différences de teneurs des polyphénols peuvent être provoquées par la faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu, c'est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le



réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines (Vuorela, 2005 ; Gomez-Caravaca et al., 2006).

Dans les Résultats de la détermination des flavonoïdes totaux (méthode du trichlorure d'aluminium) où le quercétine est parmi les standards le plus souvent employé dans cette méthode (Figure n°34), le Tableau n°20 montre que à l'exception de l'extrait d'*O. gratissimum* qui a donné une faible teneur de flavonoïdes totaux de l'ordre de 0,0677 mg EQ/g ES, des teneurs totales importantes semblent des extraits de *Z.officinale* et de *C.cyminum* suivi par l'extrait de *M.viridis* ont été observé (Figure n°35).

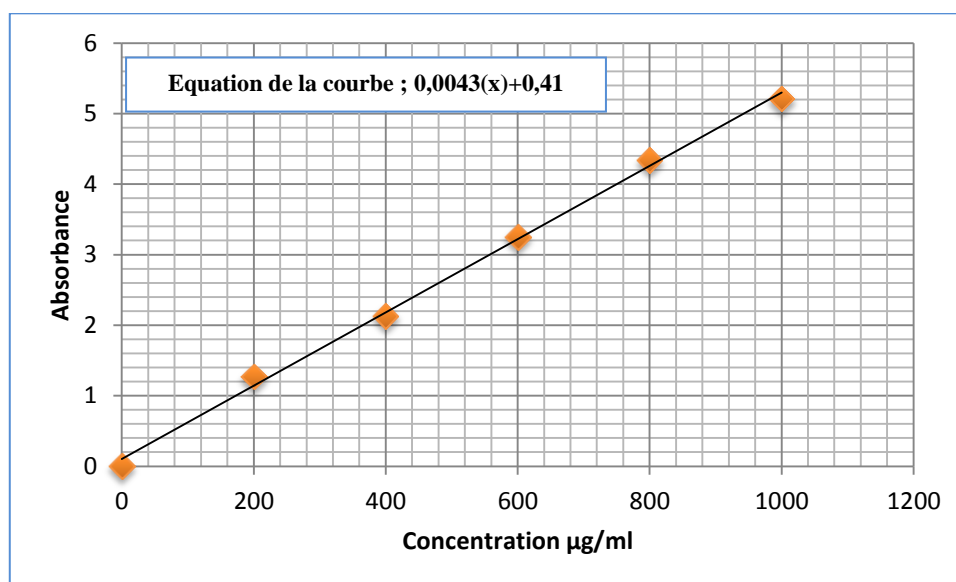
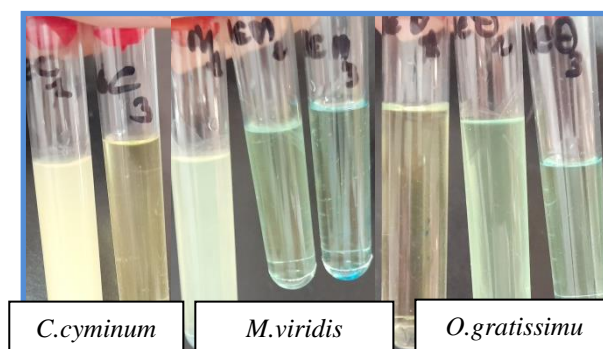


Figure n°34 : Courbe d'étalonnage de Quercétine

Tableau n°20 : Résultats du dosage des flavonoïdes des extraits aqueux de quatre plantes étudiées

| Extrait              | Quantité des flavonoïdes totaux (mg EQ/g ES) |
|----------------------|--|
| <i>M.viridis</i>     | 0,327±0,018                                  |
| <i>Z.officinale</i>  | 0,926±0,005                                  |
| <i>C.cyminum</i>     | 0,927±0,00                                   |
| <i>O.gratissimum</i> | 0,0677±0,250                                 |

Les découvertes sont similaires à celles obtenues par (Grayer *et al.*, 2004), qui ont découvert que les teneurs en flavonoïdes d'*O.basilicum* varient de 0,08 à 3 mg/g, de plus, (Essien *et al.*, 2012) ont un niveau faible de flavonoïdes à partir de l'extraction d'*O.basilicum* du Nigeria a été trouvée.



**Figure n°35** : Résultats de dosage des flavonoïdes des extraits de *M.viridis*, *C.cyminum* et *O.gratissimum*

Plusieurs études ont révélé que les teneurs en composés phénoliques varient significativement entre les espèces et au sein d'une même espèce (Ksouri *et al.*, 2009), liées à des variables extrinsèques (Ksouri *et al.*, 2008), et génétiques (Ebrahimzadeh *et al.*, 2008). En effet selon (Podsedeck, 2007 ; Falleh *et al.*, 2008), le contenu phénolique d'une plante est affecté par une variété de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (circonstances climatiques, pratiques culturelles, maturité à la récolte et conditions de stockage).

Des recherches antérieures ont révélé que les composants flavonoïdes tels que la quercétine ont des propriétés anticancéreuses et peuvent empêcher la prolifération des cellules cancéreuses. Aussi il a été proposé que l'AG, comme la quercétine, joue un rôle important dans la prévention de la transformation maligne (Bouamira *et al.*, 2021). En conséquence, les résultats de cette étude ont révélé que les flavonoïdes sont des composants clés de ces plantes et que certains de leurs effets pharmacologiques pourraient être attribuables à leur existence.

# conclusion



## Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales ont été employées en tant que traitements traditionnels pour de nombreuses maladies humaines depuis des milliers d'années. D'autre part, le recours au traitement par les plantes ainsi que la recherche des nouvelles substances à activbiologiques constituent une des grandes préoccupations scientifiques.

Au cours de ce mémoire ; nous avons étudié quatre plantes médicinales *M.viridis* ; *Z.officinale* ; *O.gratissimum* ; *C. cyminum* , plantes très utilisées en pharmacopée traditionnelle pour ses vertus thérapeutique. Ce travail nous a permis de mettre en évidence le rendement des huiles essentielles et des extraits, les teneurs des composés phénoliques et de flavonoïdes ; ainsi que l'activitéantibactériennes et antioxydant des huiles essentielles et des extraits.

L'extraction des huiles essentielles, par la technique d'hydro distillation ; a révélé différent rendement des HEs . Le rendement le plus important a été enregistré pour l'huile de *C.cyminum* ( $3.06 \pm 1,73$ ) ; par contre la plus faible rendement en huile essentielle pour *M.viridis* ( $1,65 \pm 0,64$ ) .

Tandis que l'extraction des extraits aqueuses par la évaporation dans un appareil de type rotavape révèle que le rendement le plus élevé a été enregistrées pour *M.viridis* ( $20.20 \pm 9,01$ ) et la plus faible rendement avec *Z.officinale* ( $6,84 \pm 0,78$ ) ; Les variations des rendements et des compositions chimiques des huiles essentielles constatées, sont probablement dues aux conditions environnementales (le climat, la photopériode, l'origine géographique, les propriétés physico-chimiques du sol...etc.), d'une part, et aux conditions agronomiques (la plantation, la densité des cultures, les périodes de récolte, de séchage et de stockage), ainsi qu'à la méthode d'extraction employée, au génotype de la plante, aux parties végétales utilisées et leur états de fraîcheur.

L'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles par la méthode de diffusion des puits sur milieu gélosé vis-à-vis dessouches étudiées a révélé une action inhibitrice contre la plupart des germes testés et surtout sur le Gram - ; L'HE de *Z.Officinal* a montré une bonne activité antimicrobienne avec des zones d'inhibitions plus élevées contre les bactéries Ggram + et Gram -.La plus grande valeur a été marquée contre la souche *B.cereus* avec un diamètre 39 mm.

L'activité la plus forte d'HE *O.gratissimum* a été observé chez les Gram - ; contre la souche SI04 avec un diamètre d'inhibition moyen de 29 mm ; tandis que HE *C.cyminum* a montré son optimum d'activité contre la souche codée avec une zone d'inhibition (45mm).

Le HE *M.viridis* a montré son optimum d'activité contre la souche codée SI03 dont la valeur moyenne de l'auréole d'inhibition a été de 43mm . L'HE de *M.viridis* a inhibé la croissance des souches multi résistantes aux ATB **MR01** et **MR03** avec des diamètres d'inhibitions de 11mm et 12.5 mm

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait de *Z.officinale* par la méthode de diffusion en milieu gélosé signale que la plus grande valeur a été marquée contre la souche *E.Coli*(27mm) les extraits aqueux de gingembre ont un faible effet inhibiteur ; a montré une action inhibitrice dans la souche multi résistante **MR02**.

L'extrait aqueux d'*O.gratissimum* a montré que l'activité antimicrobienne la plus efficace a été enregistré contre la souche codée (**SI03**) (14,7 mm), l'extrait de *C.cyminum*, est doté d'un pouvoir antimicrobien avec un large spectre avec un optimum d'activité contre la souche *Pseudomonas* (**SI06**).(17mm ).La souche SI06 révèle sensible à l'extrait *M.viridis* avec un diamètre 27.5 mm

A vu des résultats la synergie obtenues des HES et des extraits avec les souches bactériennes sélectionnées a été évaluée par la méthode de micro-atmosphère et par détermination de la CMI et CIF ; Les résultats présentent un bon pouvoir inhibiteur par exemple l'évaluation de la CMI des HES *O.gratissimum* et *C.cyminum* seuls permet de constater des valeurs contre la souche Gram négatif SI11 de l'ordre de 128µg/ml±00 ; la valeur de la CMI de ces HES en combinaison a été 52µg/ml±00

La méthode de micro-atmosphère a été utilisée pour évaluer en milieu solide l'activité combinée des HES et des extraits contre les bactéries-testée ; la plus grande valeur a été observée contre la souche *B.subtilis* avec un zone d'inhibition de 80 mm de diamètre

L'étude synergétique des HES et des ATB par la méthode de détermination de la CMI et CIF montre que les CMI étaient supérieures à 512 µg/ml pour les ATB (cèfazoline ;Ampicilline).

L'analyse qualitative, après séparation par CCM, révélation chimique et visualisation sous UV à 254 nm ; à permis de mettre en évidence de nombreuses taches (spots) ; ces taches qui sont colorées principalement en violets pour les huiles essentielles ; jaune et orange pour les extraits aqueuses

Le dosage quantitatif des polyphénols totaux ; par le réactif de FolinCiocalteu à révélerque l'extrait de *M.viridis* et plus riche en polyphénols (1.715mg/g) ; le dosage quantitatif des flavonoïdes par la méthode d'ALCL3 à révéler que l'extrait de *C.cyminum* est plus riche en flavonoïdes (0.927mg /g ).

L'activité anti oxydante est aussi étudiée avec la méthode de réduction de fer ; à montrer que le pouvoir antioxydant est proportionnel à l'augmentation de la concentration de l'extrait ; le pouvoir réducteur le plus élevée pour les huiles était d'HE de *Z.officinale* et de *C.cyminum* avec des pourcentages de réduction (PR %) de 42% et 21%.

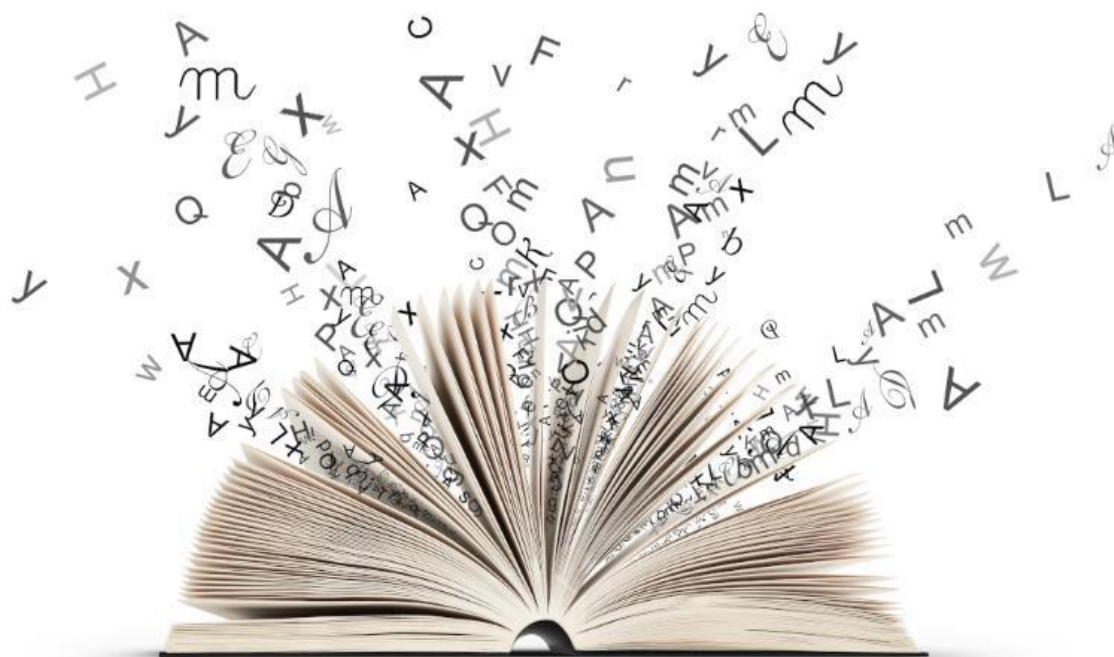
Enfin ces huiles essentielles peuvent donc servir dans la prévention et le traitement de certaine maladie infectieuse et combattre des bactéries multi résistantes aux antibiotiques usuels

#### **En perspectives :**

Il serait intéressant d'approfondir les études sur :

- Les constituants d'huile essentielle et les extraits aqueux en caractérisant la ou les molécules responsables de l'activité observée et d'étudier leur mode d'action.
- Elargir la gamme des microorganismes et tester d'autre activité biologique.

# *Références bibliographiques*



## Références Bibliographie

### A

- Abdel-Hameed, E. S. S. (2009). Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian Ficus species leaf samples. *Food chemistry*, 114(4), 1271-1277.
- Abe, M., Ozawa, Y., Uda, Y., Yamada, F., Morimitsu, Y., Nakamura, Y., & Osawa, T. (2004). Antimicrobial activities of diterpene dialdehydes, constituents from myoga (*Zingiber mioga* Roscoe), and their quantitative analysis. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 68(7), 1601-1604.
- Aburjai, T., Hudaib, M., & Cavrini, V. (2006). Composition of the essential oil from Jordanian germander (*Teucrium polium* L.). *Journal of essential oil research*, 18(1), 97-99.
- Aćimović, M. G., Kostadinović, L. M., Popović, S. J., & Dojčinović, N. S. (2015). Apiaceae seeds as functional food. *Journal of Agricultural Sciences (Belgrade)*, 60(3), 237-246.
- Adeola, S. A., Folorunso, O. S., & Amisu, K. O. (2012). Antimicrobial activity of ocimum basilicum and its inhibition on the characterized and partially purified extracellular protease of *Salmonella typhimurium*. *Research Journal of Biology*, 2(5), 138-144.
- AFSSA, A. (2006). Evaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives
- Ahmad I. & F. Aqil., (2007). - In vitro efficacy of bioactive extracts of 15 Medicinal plants against ESBL-producing multidrug-resistant enteric bacteria. *Microbiological Research*, 162: 264-275.
- Al khaddar, R., Abdulredha, M., Jordan, D., Kot, P., Abdulridha, A., & Hashim, K. (2018). Estimating solid waste generation by hospitality industry during major festivals: A quantification model based on multiple regression. *Waste Management*, 77, 388-400
- Al-Barwani, F. M., & Eltayeb, E. A. (2004). Antifungal compounds from induced *Conium maculatum* L. plants. *Biochemical systematics and ecology*, 32(12), 1097-1108.



- Alessandra M B., (2008):(Grande Guide Des Huiles Essentielles Santé Beauté Bien-etre) hachette pratique France.Pp:205-10-23
- Ali, B. H., Blunden, G., Tanira, M. O., & Nemmar, A. (2008). Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a review of recent research. *Food and chemical Toxicology*, 46(2), 409-420. doi:10.1016/j.fct.2007.09.085.
- Angèle, M. F. (2017). Les Zingiberaceae en phytothérapie :l'exemple du gingembre.thèseantioxydante des extraits de *Ballota hirsuta* Benth. du Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 15(4), 217-221.
- Aouiche, A. (2010). Recherche sur les actinomycètes des sols de Ghardaïa antagonistes de microorganismes pathogènes et toxigènes pour l'homme : isolement, taxonomie et caractérisation des molécules actives. *Mémoire de Magister en microbiologie, Université de Sidi Bel-Abbes*.
- Aourahoum, K., Aissaoui, M., Fazouane, F., Larit, F., Chalard, P., Chalchat, J. C., Figueredo, G, Benayache, F., & Benayache, S. (2013). Essential oil of *Cytisus triflorus* L'Her. *Der Pharmacia Lettre*, 5(5), 276-279.
- Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A., Witier P., Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, Masson, Paris, 1995.
- Arrigo M, Ginestra G, Mandalari G, Furneri PM, et Bisignano G.(2010). Synergism and post antibiotic effect of tobramycin and *Melaleuca alternifolia* (teatree) oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Phytomedicine*. 17,317–322.
- Askun, T., Tumen, G., Satil, F., & Ates, M. (2009). In vitro activity of methanol extracts of plants used as spices against *Mycobacterium tuberculosis* and other bacteria. *Food Chemistry*, 116(1), 289-294.
- Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., & Khebri, S. (2010). Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese science journal*, 11(1), 69-81.

## **B**

- Baran, J. M. (2000). Daturas: plantes magiques, hallucinogènes et médicinales à l'île de la Réunion et dans le monde (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).

- Behera, S., Nagarajan, S., & Rao, L. J. M. (2004). Microwave heating and conventional roasting of cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.) and effect on chemical composition of volatiles. *Food chemistry*, 87(1), 25-29.
- Bellakhdar, J. (1997). *La pharmacopée marocaine traditionnelle : Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*. Paris : Ibis.
- Beloued, A. (1998). *Plantes médicinales d'Algérie* (2ème Ed.). Alger : Office des publications Universitaires.
- Ben Amor, B. (2008). Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs: texturation par détente instantanée contrôlée (DIC) (Doctoral dissertation, La Rochelle).
- Benayad, N. (2008). *Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : Moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées*. Projet de thèse de Doctorat de l'Université Mohammed V–Agdal.
- Bensabah, F., Houbairi, S., Essahli, M., Lamiri, A., & Naja, J. (2013). Chemical composition and inhibitory effect of the essential oil from *mentha spicata* irrigated by wastewater on the corrosion of aluminum in 1 molar hydrochloric acid. *Electrochim. Acta*, 31, 195-206.
- BERGHEUL, S. Etude de l'activité antimicrobienne et bioinsecticide de *Ruta chalepensis* L., *R. angustifolia* Pers. et *Haplophyllum tuberculatum* (Forsk.) A. Juss. vis-à-vis de quelques bioagresseurs de la culture de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) (Doctoral dissertation, Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis).
- Bézanger-Beauquesne, L., Pinkas, M., & Torck, M. (1975). *Les plantes dans la thérapeutique moderne*. Maloine.
- Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*, (9), 14-19.
- Boukhebti, H., Chaker, A. N., Belhadj, H., Sahli, F., Ramdhani, M., Laouer, H., & Harzallah, D. (2011). Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. and *Mentha spicata* L. essential oils. *Der Pharmacia Lettre*, 3(4), 267-275.
- Boulade, C. (2018). *Lamiaceae: caractéristiques et intérêts thérapeutiques à l'officine* (Thèse de doctorat) Université Toulouse III-Paul Sabatier.

- Boyle, W. (1955). Spices and essential oils as preservatives. *The American Perfumer and Essential Oil Review*, 66(1), 25-28.
- Bremness, L., Fletcher, N., Ward, M., Griggs, P., & Desgranges, T. (2002). *Plantes aromatiques et médicinales*. Paris : Bordas.
- Burda, S., & Oleszek, W. (2001). Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(6), 2774-2779.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.

## C

- Carlier-Loy, P. (2015). *Mentha spicata: description et utilisations en thérapeutique et en agriculture comme antigerminatif sur la pomme de terre*. (Thèse de doctorat), Université Picardie.
- Chaachouay, N., Douira, A., Hassikou, R., Brhadda, N., Dahmani, J., Belahbib, N., ... & Zidane, L. (2020). Mr Chaachouay Noureddine Sous le thème " Etude floristique et ethnomédicinale des plantes aromatiques et médicinales dans le Rif (Nord du Maroc)" (Doctoral dissertation, Département de Biologie-Université Ibn Tofail-Kénitra).
- Chabrier, J. Y. (2010). *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie* (Thèse de doctorat), UHP-Université Henri Poincaré.
- Chabrier, J. Y. (2010). *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
- Chen, I. N., Chang, C. C., Ng, C. C., Wang, C. Y., Shyu, Y. T., & Chang, T. L. (2008). Antioxidant and antimicrobial activity of Zingiberaceae plants in Taiwan. *Plant foods for human Nutrition*, 63(1), 15-20.
- Cristani, M., D'Arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Micieli, D., ... & Trombetta, D. (2007). Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(15), 6300-6308.

## D

- Dhandapani, S., Subramanian, V. R., Rajagopal, S., & Namasivayam, N. (2002). Hypolipidemic effect of *Cuminum cyminum* L. on alloxan-induced diabetic rats. *Pharmacological research*, 46(3), 251-255.
- Divakara, S. E., & Anandara, J. M. (2013). Cumin, fennel and fenugreek, soils, plant growth and crop production. *Encyclopedia of life support systems*, 1-10.
- Djamilia, H. A. D. D. O. U. C. H., & Chahira, N. N. B. (2019). Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Mentha spicata* de la région de Ain Defla.
- Dorman, H. D., Koşar, M., Kahlos, K., Holm, Y., & Hiltunen, R. (2003). Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(16), 4563-4569.
- Dupont, F., & Guignard, J. L. (2015). *Botanique : les familles de plantes*. Issy-les-Moulineux Cedex : Elsevier Masson SAS.

## E

- Ebrahimzadeh, M. A., Pourmorad, F., & Bekhradnia, A. R. (2008). Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. *African Journal of Biotechnology*, 7(18), 3188-3192.
- Elhoussine, B., Naima, T., Abdellah, Y. (2010). Integration of the rules of associations to improve research of, information. *International Journal of Computational Intelligence Research*, 6(4), 661-674.
- El-Sawi, S. A., & Mohamed, M. A. (2002). Cumin herb as a new source of essential oils and its response to foliar spray with some micro-elements. *Food Chemistry*, 77(1), 75-80.
- Essien, E. B., Onyeike, E. N., Ugbeyide, D. E., & Eneke, I. C. (2012). Effect of aqueous extract of *Occimum basilicum* leaves on some haematological and biochemical parameters of Wistar albino rats. *Canadian Journal on Scientific and Industrial Research*, 3, 256-264. et ocimum basilicum sur escherichia coli et staphylococcus aureus. Mémoire

## F

- Faivre, C., Lejeune, R., Staub, H., & Goetz, P. (2006). Zingiber officinale Roscoe. *Phytothérapie*, 4(2), 99-102.
- Faivre, R. Lejeune, Staub, H. (2006). Phytotherapie Zingiber officinale Roscoe CI
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372-379.
- Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., & Guo, Z. (1986). Place des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin of the World Health Organization*, 64(2), 159.
- Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A.S., Soejarto, D. D., & Guo Z. (1986). Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé*, 64(2), 159-164.
- Fernandez, X., Chemat, F., & Do, T. (2014). *Les huiles essentielles : Vertus et applications*. Paris : Vuibert. flavonoïdes d'extraits à partir deux plantes médicinales : artémisia herba alba
- Fournier, P., & Leclerc, H. (1947). *Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France : 1500 espèces par le texte et par l'image d'après l'ensemble de nos connaissances actuelles*. Paris : P. Lechevalier.
- Franchomme, P., Jollois, R., Pénoël, D., Mars, J., & Mars, J. (1990). *L'aromathérapie exactement : encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles: fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle*. Limoges : Roger Jollois.

## G

- Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I. (2007). Chemical and biological characteristics of Cuminum cyminum and Rosmarinus officinalis essential oils. *Food chemistry*, 102(3), 898-904.
- García- García, R., López- Malo, A., & Palou, E. (2011). Bactericidal action of binary and ternary mixtures of carvacrol, thymol, and eugenol against *Listeria innocua*. *Journal of food science*, 76(2), M95-M100.

- Ghayur, M. N., & Gilani, A. H. (2005). Pharmacological basis for the medicinal use of ginger in gastrointestinal disorders. *Digestive diseases and sciences*, 50(10), 1889-1897.
- Gigon, F. (2012). Le gingembre, une épice contre la nausée. *Phytothérapie*, 10(2), 87-91.
- Grayer, R. J., Vieira, R. F., Price, A. M., Kite, G. C., Simon, J. E., & Paton, A. J. (2004). Characterization of cultivars within species of *Ocimum* by exudate flavonoid profiles. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32(10), 901-913.
- Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine*, 27(1), 1-93.

## *H*

- Haddouchi, F., Lazouni, H. A., Meziane, A., & Benmansour, A. (2009). Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique Science: Revue Internationale Des Sciences Et Technologie*, 5(2).
- Haddouchi, F., Lazouni, H. A., Meziane, A., & Benmansour, A. (2009). Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique Science: Revue Internationale Des Sciences Et Technologie*, 5(2).
- Haichour, N., Mezaache-Aichour, S., Khenchouche, A., Melouli, H., Natrah, F. M. I., & Zerroug, M. M. (2021). Antiviral, Antibacterial and Anti-Quorum Sensing Activities of a Lyophilized Aqueous Pine Resin Extract. *Phytothérapie*
- Handa, S., Khanuja, S.P., Longo, G. and Rakesh, D.D. (2008) *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology.
- Hmiri, S., Rahouti, M., Habib, Z., Satrani, B., Ghanmi, M., & El Ajjouri, M. (2011). Évaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et d'*Eucalyptus Camaldulensis* dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. *Bulletin de la société royale des sciences de liège*. 80., 824–836.
- Hogg, S. (2005). *Essential Microbiology*. West Sussex: John Wiley and Sons.

- Hussain, A. I., Anwar, F., Sherazi, S. T. H., & Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food chemistry*, 108(3), 986-995.

## J

- Jalali-Heravi, M., Zekavat, B., & Sereshti, H. (2007). Use of gas chromatography–mass spectrometry combined with resolution methods to characterize the essential oil components of Iranian cumin and caraway. *Journal of Chromatography A*, 1143(1-2), 215-226.
- Jedidi, S., Aloui, F., Selmi, H., Rtibi, K., Dallali, S., & SEBAI, C. A. E. H. (2018). Ethnobotanical survey on the traditional use of officinal sage (*Salvia officinalis* L.) in Tabarka and Aïn Draham (Northwestern of Tunisia). *Journal of New Sciences*,
- Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., & Stevens, P. (1999). *Botanique systématique: une perspective phylogénétique*. Paris : De Boeck Supérieur.

## K

- Kalemba, D. A. A. K., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10(10), 813-829.
- Kalla Ali, (2012). *Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : Pituranthos scoparius, Rantherium adpressum et Traganum nudatum*. (Thèse de Doctorat) Université de Constantine.
- Kalla, A. (2012). Étude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien.
- Kamazeri, T. S. A. T., Abd Samah, O., Taher, M., Susanti, D., & Qaralleh, H. (2012). Antimicrobial activity and essential oils of *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga*, and *Zingiber cassumunar* from Malaysia. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 5(3), 202-209.
- Kechar, K., & Hellal, B. (2017). Évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Ballota hirsuta* Benth. du Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 15(4), 217-221.
- Khadir, A., Abu-Farha, M., Tiss, A., Abubaker, J., Al-Ghimlas, F., Al-Khairi, I., ... & Dehbi, M. (2013). Proteomics analysis of human obesity reveals the epigenetic factor HDAC4 as a potential target for obesity. *PloS one*, 8(9), e75342.

- Konkon, N. G., Simaga, D., Adjoungova, A. L., N'Guessan, K. E., Zirihi, G. N., & Kone, B. D. (2006). Etude Phytochimique de *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Ktze (Rubiaceae), plante à feuille antidiabétique. *Pharm. Méd. Trad. Afr*, 14, 73-80.
- Kpètèhoto, W. H., Hessou, S., Dougnon, V. T., Johnson, R. C., Boni, G., Houéto, E. E., ... & Gbénou, J. (2017). Étude ethnobotanique, phytochimique et écotoxicologique de *Ocimum gratissimum* Linn (Lamiaceae) à Cotonou. *Journal of Applied Biosciences*, 109, 10609-10617.
- Ksouri, R., Falleh, H., Megdiche, W., Trabelsi, N., Mhamdi, B., Chaieb, K., ... & Abdelly, C. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents. *Food and Chemical toxicology*, 47(8), 2083-2091.
- Ksouri, R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Smaoui, A., & Abdelly, C. (2008). Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Comptes Rendus Biologies*, 331(11), 865-873.
- Kumar Gupta, S., & Sharma, A. (2014). Medicinal properties of *Zingiber officinale* Roscoe-A review. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)*, 9, 124-129.
- Kurhara, T., & Kikuchi, M. (1980). Studies of the constituents of flowers. XIII. On the components of the flower of *Cytisus scoparius* Link.

### L

- Laggoune, S., Öztürk, M., Erol, E. B. R. U., Duru, M. E., Abaza, I., Kabouche, A., & Kabouche, Z. (2016). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oil of *Mentha spicata* L. from Algeria. *Journal of Materials and Environmental Science*, 7(11), 4205-4213.
- LAGHOUATI, F., HARRATH, L., & CHAREF, N. E. (2020). Enquête sur l'utilisation de la sauge dans le traitement des maladies infectieuses (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi Tébéssa).
- Laguerre, V. (2015). Huiles essentielles et 1, 8-cinéole (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- Lakhdar, L. (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans*: Etude in vitro (Doctoral dissertation).



## M

- M Jalali-Heravi, B Zekavat, H Sereshti - Journal of Chromatography A, 2007 - Elsevier
- M Janahmadi, F Niazi, S Danyali... - Journal of ..., 2006 - Elsevier
- Madjour, S. (2014). *Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée rosamarinus officinalis*. (Thèse de doctorat) Université de Biskra.
- Maisuthisakul, P., Pasuk, S., & Ritthiruangdej, P. (2008). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(3), 229-240.
- Mata, A. T., Proença, C., Ferreira, A. R., Serralheiro, M. L. M., Nogueira, J. M. F., & Araújo, M. E. M. (2007). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food chemistry*, 103(3), 778-786.
- Mehalaine, S. (2017). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de quelques plantes médicinales et amélioration de leur production en culture in vitro.
- Melouah,k. ,Magni, P., Draredja, B., & Como, S. (2015). Patterns of seasonal variation in lagoonal macrozoobenthic assemblages (Mellah lagoon, Algeria). *Marine Environmental Research*, 109, 168-176.
- MOUFFOUK, C. (2019). Evaluation des activités biologiques et étude de la composition chimique de la plante *Scabiosa stellata* L (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).
- Mouffouk, S.,Mokhtari, M., Chabani, S., Aberkane, M. C., Dibi, A., Benkhaled, M., & Haba, H. (2021). Phytochemicals, Antihemolytic, Anti-inflammatory, Antioxidant, and Antibacterial Activities from *Thymus Algeriensis*. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 27(3), 253-266.
- Mshana, N. R. (2000). Traditional medicine and pharmacopoeia: contribution to the revision of ethnobotanical and floristic studies in Ghana. Organization of African Unity/Scientific, Technical & Research Commission.

## N

- Naczk M.,Shahidi, F., . (2003). Phenolics in food and nutraceuticals. CRC press.2:99-102\_9. Doi: 10.1007/s10298-006-0162x.

- Nanekarani, S., Goodarzi, M., & Heidari, M. (2012). The effect of different levels of spearmint (*Mentha Spicata*) extract on immune system and blood parameters of broiler chickens. *Apcbee Procedia*, 4, 135-139.
- Nickavar, B., Alinaghi, A., & Kamalinejad, M. (2008). Evaluation of the antioxidant properties of five *Mentha* species. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 203-209.
- Nikaido, H., & Vaara, M. (1985). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiological reviews*, 49(1), 1-32.

## O

- Omino, E. A., & Kokwaro, J. O. (1993). Ethnobotany of Apocynaceae species in Kenya. *Journal of ethnopharmacology*, 40(3), 167-180.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Simons, A. (2009). Agroforestry Database: a tree reference and selection guide. Version 4. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide. Version 4.
- Ouamba, J. M. (1991). *Valorisation Chimique des Plantes Aromatiques du Congo : Extraction et analyse des huiles essentielles, Oximation des aldéhydes naturels*. (Thèse de Doctorat) Université de Montpellier II.

## P

- Paparella, A., Taccogna, L., Aguzzi, I., Chaves-Lopez, C., Serio, A., Marsilio, F., & Suzzi, G. (2008). Flow cytometric assessment of the antimicrobial activity of essential oils against *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 19(12), 1174-1182.
- Parashar, U. Ahmed, S. M., Hall, A. J., Robinson, A. E., Verhoef, L., Premkumar, P. D. & Lopman, B. A. (2014). Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet infectious diseases*, 14(8), 725-730.
- Podsędek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT-Food Science and Technology*, 40(1), 1-11.
- Prabhu, J. C., Tellis, G. J., & Chandy, R. K. (2009). Radical innovation across nations: The preeminence of corporate culture. *Journal of marketing*, 73(1), 3-23.

## Q

- Quezel, P., & Santa, S. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1.* (2<sup>ème</sup> ed.). Paris : Centre National de la Recherche Scientifique.

## R

- Rihane K et Benlaharche R. (2013) activité antibactérienne des polyphénols et
- Rivera, J., & Gilfillan, A. M. (2006). Molecular regulation of mast cell activation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117(6), 1214-1225.
- Robiolle, S., Perrin-Guyomard, A., & Soumet, C. (2012). *Sensibilité aux désinfectants des Escherichia coli porteurs d'une résistance aux céphalosporines de 3ème génération de type CTX-M.* (Thèse de Doctorat), Université Paris Diderot.

## S

- Saba, I., & Anwar, F. (2018). Effect of harvesting regions on physico-chemical and biological attributes of supercritical fluid-extracted spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(2), 400-419.
- Sabulal, B., Dan, M., Kurup, R., Pradeep, N. S., Valsamma, R. K., & George, V. (2006). Caryophyllene-rich rhizome oil of *Zingiber nimmonii* from South India: Chemical characterization and antimicrobial activity. *Phytochemistry*, 67(22), 2469-2473.
- Sahana, K., Nagarajan, S., & Rao, L. J. M. (2011). Cumin (*Cuminum cyminum* L.) seed volatile oil: Chemistry and role in health and disease prevention. In *Nuts and seeds in health and disease prevention* (pp. 417-427). London : Academic Press. DOI : 10.1016/B978-0-12-375688-6.10050-7
- SAIDI, I. (2019). Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae: *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès: Extraction des substances bioactives (Doctoral dissertation).
- Shafique, M., Khan, S. J., & Khan, N. H. (2011). Study of antioxidant and antimicrobial activity of sweet basil (*Ocimum basilicum*) essential oil. *Pharmacologyonline*, 1, 105-111.

- Shahbazi, Y. (2015). Chemical composition and in vitro antibacterial activity of *Mentha spicata* essential oil against common food-borne pathogenic bacteria. *Journal of pathogens*, 2015.
- Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D., & Corke, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of food microbiology*, 117(1), 112-119.
- Shivakumar, S. I., Shahapurkar, A. A., Kalmath, K. V., & Shivakumar, B. (2010). Antiinflammatory activity of fruits of *Cuminum cyminum* Linn. *Der Pharmacia Lettre*, 2(1), 22-24.
- Sidi, M. (2018). Assessment of Knowledge and Practices of Quality Assurance Tests for Computed Tomography among Radiographers in North-West of Nigeria. *Nigerian Journal of Medical Imaging and Radiation Therapy*, 6(1), 6-11
- Singh, R. P., Gangadharappa, H. V., & Mruthunjaya, K. (2017). *Cuminum cyminum*—A popular spice: An updated review. *Pharmacognosy Journal*, 9(3), 292-301.
- Singh, T., Sharma, S., & Nagesh, S. (2017). Socio-economic status scales updated for 2017. *Int J Res Med Sci*, 5(7), 3264-7.
- Sinha, S., Jothiramajayam, M., Ghosh, M., & Mukherjee, A. (2014). Evaluation of toxicity of essential oils palmarosa, citronella, lemongrass and vetiver in human lymphocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 68, 71-77.
- Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T., & Arsenakis, M. (1996). Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 44(5), 1202-1205
- Steck, W., & Mazurek, M. (1972). Identification of natural coumarins by NMR spectroscopy. *Lloydia*, 35(4), 418-439

## *T*

- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Batista, I., Serrano, C., Matos, O., & Nunes, M. L. (2012). European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: Chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. *Industrial Crops and Products*, 36(1), 81-87.
- Toure, D. (2015). *Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques medicinales de côte d'ivoire* (Thèse de doctorat) Université Felix Houphoeut Boigny, Côte d'Ivoire.

- Tucker, A. O., & Naczi, R. F. (2007). *Mentha*: an overview of its classification and relationships. In : *Mint: The genus Mentha*. (pp. 1-39). Boca Raton : CRC Press.
- Turkoglu, A., Duru, M. E., Mercan, N., Kivrak, I., & Gezer, K. (2007). Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. *Food chemistry*, 101(1), 267-273.

## U

- Ulanowska, K., Tkaczyk, A., Konopa, G., & Węgrzyn, G. (2006). Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DNA, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Archives of microbiology*, 184(5), 271-278.
- Ultee, A., Bennik, M. H. J., & Moezelaar, R. J. A. E. M. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and environmental microbiology*, 68(4), 1561-1568.
- United Nations Industrial Development Organization, Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., & Rakesh, D. D. (2008). Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. *Earth, Environmental and Marine Sciences and Technologies*.

## V

- Vanier P., Gigleux I., Deslandes M., Corneau L., Cyr J. (2006). *Le basilic, une herbe aromatique antioxydante*. Institut des Nutraceutiques et aliments Fonctionnels, Université Laval. 15 pages.
- Vincent, P., Larochelle, H., Bengio, Y., & Manzagol, P. A. (2008, July). Extracting and composing robust features with denoising autoencoders. In *Proceedings of the 25th international conference on Machine learning* (pp. 1096-1103).
- Vuorela, S. (2005). Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics.

## W

- Wang, R., Wang, R., & Yang, B. (2009). Extraction of essential oils from five cinnamon leaves and identification of their volatile compound compositions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(2), 289-292.
- Wichtl M., Anton R. (2003). *Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*.

- Wichtl, M., & Anton, R. (2003). *Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique* (2<sup>ème</sup> Ed.). Paris : TEC & DOC. Lavoisier.

## X

- Xianfei, X., Xiaoqiang, C., Shunying, Z., & Guolin, Z. (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Chaenomeles speciosa* from China. *Food Chemistry*, 100(4), 1312-1315.

## Y

- Yanishlieva, N. V., Marinova, E. M., Gordon, M. H., & Raneva, V. G. (1999). Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*, 64(1), 59-66.
- Yano, Y., Satomi, M., & Oikawa, H. (2006). Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *International journal of food microbiology*, 111(1), 6-11.

# Annexes



## Annexe 01 : Fiche questionnaire

- Daïra :
- Age :
- Niveau d'étude : Analphabète  Primaire  Secondaire  Universitaire
- Herboriste  Guérisseur  Commun
- Statut matrimonial : Célibataire  Marié
- Origine : Rural  Urbain
- ▶ Plante 01 :
- Nom vernaculaire :
- Maladies traités :
- État de la plante : Frais  Sec
- Partie utilisée : Tige  Fleurs  Feuilles  Plante entière  Autres
- Usage pour : Adulte  Enfant  homme  femme
- Mode de préparation : Infusion  Décoction  Macération  huiles essentielles  Autres
- Mode d'administration : Ingestion orale  Application local  Autres
- Etat d'utilisation : Frais  Sec
- Fréquence d'utilisation : Peu fréquent  Modéré  Très fréquent
- Degré de satisfaction : Peu satisfaisant  Satisfaisant  Très satisfaisant  Déçu.
- ▶ Plante 02 :
- Nom vernaculaire :
- Maladies traités :
- État de la plante : Frais  Sec
- Partie utilisée : Tige  Fleurs  Feuilles  Plante entière  Autres
- Usage pour : Adulte  Enfant  homme  femme
- Mode de préparation : Infusion  Décoction  Macération  huiles essentielles  Autres
- Mode d'administration : Ingestion orale  Application local  Autres



- Etat d'utilisation : Frais  Sec
- Fréquence d'utilisation : Peu fréquent  Modéré  Très fréquent
- Degré de satisfaction : Peu satisfaisant  Satisfaisant  Très satisfaisant  Déçu.

► Plante 03 :

- Nom vernaculaire :
- Maladies traités :
- État de la plante : Frais  Sec
- Partie utilisée : Tige  Fleurs  Feuilles  Plante entière  Autres
- Usage pour : Adulte       Enfant       homme       femme
- Mode de préparation : Infusion  Décoction  Macération  huiles essentielles  Autres
- Mode d'administration : Ingestion orale  Application local  Autres
- Etat d'utilisation : Frais  Sec
- Fréquence d'utilisation : Peu fréquent  Modéré  Très fréquent
- Degré de satisfaction : Peu satisfaisant  Satisfaisant  Très satisfaisant  Déçu.

► Plante 04 :

- Nom vernaculaire :
- Maladies traités :
- État de la plante : Frais  Sec
- Partie utilisée : Tige  Fleurs  Feuilles  Plante entière  Autres
- Usage pour : Adulte       Enfant       homme       femme
- Mode de préparation : Infusion  Décoction  Macération  huiles essentielles  Autres
- Mode d'administration : Ingestion orale  Application local  Autres
- Etat d'utilisation : Frais  Sec
- Fréquence d'utilisation : Peu fréquent  Modéré  Très fréquent
- Degré de satisfaction : Peu satisfaisant  Satisfaisant  Très satisfaisant  Déçu.

## **Annexe 02 :**

### **1-Composition chimique du Milieux de culture utilisés**

#### **1) Bouillon nutritif**

- **Composition**

- Tryptone .....10g
- Extrait de viande..... 5g
- Chlorure de sodium .....5g

pH = 7,2

- **Préparation**

25g par litre. Autoclaver 20 minutes à 120°C.

#### **2) Gélose nutritive**

- **Composition**

- Extrait de viande .....1g
- Extrait de levure .....2.5g
- Peptone..... 5,0g
- Chlorure de sodium .....5,0g
- Agar .....15g

pH = 7

- **Préparation**

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

#### **3) Gélose Mac Conkey**

- **Composition**

- Peptone de caséine..... 7g
- Peptone de viande..... 3g
- Lactose..... 10g
- Mélange de sels biliaires .....1.5g
- Chlorure de sodium .....5.0g
- Rouge neutre..... 0.03g
- Cristal violet..... 0.001g

- Agar agar..... 13.5g

PH = 7

#### 4) Gélose Mueller-Hinton

- **Composition :**

- Infusion de viande de boeuf ...300g

- Hydrolysate de caséine..... 17.5g

- Amidon .....1.5g

- Gélose .....17g

pH = 7,4

#### 5) Gélose au cétrimide

- **Composition**

- Peptone..... 20 g

- Sulfate de potassium .....10 g

- Chlorure de magnésium.....03 g

- Phosphate di-potassique .....0,3 g

- Cétrimide .....0,3 g

- Glycérol .....10ml

- Agar..... 13,5 g

pH = 7,2

## 2-les étapes de coloration de gram

- La première étape consiste à préparer des frottis par l'ajoute suivie par un étalement d'une goutte de suspension bactérienne sur une lame propre.
- Les frottis sont fixés à l'aide de la flamme du bec bunsen puis utilisés pour la coloration de Gram.
- Recouvre le frotti avec du violet de gentiane ;
- Laisser agir 01mn on rince à l'eau distillée ;
- Verser du lugol et le laisse agir pendant 01min ;
- Décolorer à l'alcool entre 15 et 30 sec ; rincer à l'eau distillée
- Fixer avec la Fuchsine pendant 10 à 30sec ;
- Rincer à l'eau distillée
- Sècher au-dessus de la flamme d'un bec bunsen ;

- Observation au microscope optique à l'objectif x100 à immersion, les Gram + se colorent en violet, tandis que les gram – apparaissent colorés en rose.