



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS - MOSTAGANEM



UNIVERSITE
Abdelhamid Ibn Bâ
MOSTAGANEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Domaine : S.N.V

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie fondamentale

Mémoire

PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE Master 2

Par BAHRI Youcef

THEME

**Etude phytochimique et effet antimicrobien de l'extrait hydro-alcoolique
de *Calamintha nepeta* de l'Ouest Algérie**

<u>Membres de jury :</u>			
Ait chaabane Ouiza	MCA	Université de Mostaganem	Président
Arabi Abed	MCB	Université de Mostaganem	Examineur
Chiali Fatima Zohra	MCA	Université de Mostaganem	Directrice de thèse
Zaoui Somia	Doctorante	Université de Mostaganem	Co-Encadreur

Année universitaire 2022/2023

Remerciement

Au terme de ce travail, je dois remercier tout d'abord dieu qui ma a donné la force et le courage de suivre mes études et d'arriver à ce stade et à mes parents qui m'ont beaucoup soutenus pendant tous le long de mon parcours.

Un grand mercîment à mon encadreur Chiali fatima zohra qui m'a beaucoup aidée, soutenue, conseillée, et sa patience, avec moi pour présenter un travaille souhaitable,

Mes remerciements vont également à mon Co-encadreur mademoiselle Zaoui soumia pour son aide et leur soutien pendant les moments difficiles.

Je tiens aussi à remercier les membres de jury qui m'ont fait honneur d'examiner ce travail.

Enfin, je renouvèle mes remerciements à ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour réaliser ce travail sans oublier les enseignants qui ont contribué a ma formation.

Dédicace

Merci mon dieu de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail :

A ma mère celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite.

A mon père, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager à me donner l'aide et à me protéger.

A mon frère El-mokhtar qui été et sera mon appuis, et mes très chères sœurs que je leur souhaite que du bonheur et beaucoup de réussite.

A mes grands parents que dieu aient leur âme.

A tous les membres de ma famille, petite et grande.

A mes chers ami(e)s que J'ai passé avec aux des bon moments.

Résumé

Notre étude consiste à la recherche de l'activité antimicrobienne d'une plante, *Calamintha nepeta* appartenant à la famille des *Lamiacées*. L'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* a exercé un pouvoir antimicrobien contre les souches microbiennes testées, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 8 et 29 mm. Les souches les plus sensibles sont *C. albicans* ATCC 10231, *P. mirabilis* ATCC 35659 et *Proteus vulgaris* ATCC 6380 avec des diamètres de zones d'inhibition de 29, 19 et 17 mm respectivement. La souche la moins sensible est *E. coli* ATCC 25922 avec un diamètre de zone d'inhibition de 8 mm. L'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* a exercé une activité contre les souches microbiennes testées, les valeurs obtenues sont d'une gamme allant de 0.781 à 3.125 µl/mL pour la CMI et de 3.125 à 50 µl/mL pour la CMB et la CMF.

Mots clés : *Calamintha nepeta*, extrait hydro-éthanolique, infections nosocomiales, activité antimicrobienne

Abstract

Our study consists in researching the antimicrobial activity of a plant, *Calamintha nepeta* belonging to the Lamiaceae family. The hydro-ethanolic extract of *Calamintha nepeta* exerted an antimicrobial power against the microbial strains tested, the diameters of the zones of inhibition vary between 8 and 29 mm. The most sensitive strains are *C. albicans* ATCC 10231, *P. mirabilis* ATCC 35659 and *P. vulgaris* ATCC 6380 with inhibition zone diameters of 29, 19 and 17 mm respectively. The least sensitive strain is *E. coli* ATCC 25922 with an inhibition zone diameter of 8 mm. The hydro-ethanolic extract of *Calamintha nepeta* exerted activity against the microbial strains tested, the values obtained ranged from 0.781 to 3.125 $\mu\text{L}/\text{mL}$ for the CMI and from 3.125 to 50 $\mu\text{l}/\text{mL}$ for the CMB and the CMF.

Key words: *Calamintha nepeta*, hydro-ethanolic extract, nosocomial infections, antimicrobial activity

ملخص

تتكون دراستنا من البحث في النشاط المضاد للميكروبات لنبات *Calamintha nepeta* الذي ينتمي إلى عائلة Lamiaceae. يمارس المستخلص المائي الإيثانولي لل *Calamintha nepeta* قوة مضادة للميكروبات ضد السلالات الميكروبية التي تم اختبارها ، وتتراوح أقطار التثبيط بين 8 و 29 ملم. أكثر السلالات حساسية هي *C. albicans* ATCC 10231 و *P. mirabilis* ATCC 35659 و *Proteus vulgaris* ATCC 6380 بأقطار منطقة تثبيط 29 و 19 و 17 ملم على التوالي. السلالة الأقل حساسية هي *E.coli* ATCC 25922 مع منطقة تثبيط قطرها 8 مم. مارس المستخلص المائي الإيثانولي لل *Calamintha nepeta* نشاطاً ضد السلالات الميكروبية التي تم اختبارها ، وتراوحت القيم التي تم الحصول عليها من 0.781 إلى 3.125 ميكرو لتر / مل لـ CMI ومن 3.125 إلى 50 ميكرو لتر / مل لـ CMB و CMF. الكلمات المفتاحية: *Calamintha nepeta* ، مستخلص هيدرو-إيثانول ، عدوى المستشفيات ، نشاط مضاد للميكروبات

Table des matières

Tables des matières

Introduction	1
Partie 1 : Synthèse bibliographique	
II. Synthèse bibliographique	3
II.1. Généralités sur les plantes médicinales	4
II.2. Les éléments actifs des plantes médicinales	4
II.2.1. Définition des métabolites secondaires	4
II.2.2. Les huiles essentielles	5
II.2.3. Les composés phénoliques	5
II.2.3.1. Acides phénoliques	5
II.2.3.2. Les flavonoïdes	6
II.2.3.3. Les tanins	6
II.2.3.4. Les coumarines	6
II.2.3.5. Les anthocyanes	6
II.2.3.6. Les quinones	7
II.2.3.7. Les alcaloïdes	7
II.3. L'espèce végétale étudiée : <i>Calamintha nepeta</i>	7
II.3.1. Généralités	7
II.3.2. Taxonomie	8
II.3.3. Morphologie	8
II.3.4. Répartition géographique	9
II.3.5. Usage	9
II.4. Les infections nosocomiales	10
II.4.1. Mode de transmission	10
II.4.1.1. Voie endogène	10
II.4.1.2. Voie exogène	11
II.4.2. Patient réceptif	11
II.5. Les antibiotiques	11
II.5.1. Définition	11
II.5.2. Modes d'action	12
II.6. Résistance bactérienne aux antibiotiques	12

II.6.1. Mécanismes de la résistance	12
II.6.1.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique	13
II.6.1.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique	13
II.6.1.3. Perméabilité réduite	13
II.6.2. Les bactéries multi-résistantes (BMR)	14
II.7. Propriétés antimicrobiennes des plantes médicinales	14
II.7.1. Mécanismes d'actions antimicrobiens des composés phénoliques	15
Partie 2 : Matériel et méthodes	
III. Matériel et Méthodes	17
III.1. Matériel végétal	18
III.2. Extraction hydro-éthanolique par Macération	19
III.3. Rendement d'extraction	20
III.4. Screening phytochimique	20
III.4.1. Test pour les phénols (Test au chlorure ferrique)	20
III.4.2. Test pour les flavonoïdes	20
III.4.3. Test des tanins	20
III.4.4. Test pour les coumarines	21
III.4.5. Test pour les saponines	21
III.4.6. Test pour les alcaloïdes (Test de Mayer)	21
III.4.7. Test pour les carbohydrates (Test de Fehling)	21
III.4.8. Test de dépistage des protéines (Test de Biuret)	21
III.4.9. Test pour les quinones	20
III.4.10. Détection de Terpinoides (Test de Slakowski)	20
III.4.11. Détection d'antraquinones	21
III.5. Etude quantitative	21
III.5.1. Dosage des composés phénolique	22
III.5.1.1. Dosage des polyphénols totaux	22
III.5.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux	22
III.5.1.3 Dosage des tanins condensés	23
III.6. Procédés d'étude microbiologique	23
III.6.1. Souches microbiennes testées	23
III.6.2. Milieux de culture utilisés	23

III.6.3.Préparation de l'inoculum	24
III.6.4. Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des agents antimicrobiens standards	24
III.6.5. Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Calamintha nepeta</i>	25
III.6.5.1. La méthode de Vincent (technique de l'aromatogramme)	25
III.6.5.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	26
III.6.5.3. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB - CMF)	26
Partie 3 : Résultats et discussion	
IV. Résultats et discussion	28
IV.1. Rendement en extrait bruts	29
IV.2. Screening phytochimique	29
IV.3. Dosage des composés phénoliques	30
IV.3.1. Dosage des polyphénols totaux	30
IV.3.2. Dosage des flavonoïdes	31
IV.3.3. Dosage des tanins	31
IV.4. Etude de l'activité antimicrobienne	32
IV.4.1. Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des agents antimicrobiens standards	32
IV.4.2. Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Calamintha nepeta</i>	33
IV.5. Détermination des concentrations minimales inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB) et fongicide (CMF)	35
V. Conclusion	38
VI. Référence bibliographiques	39
Annexes	50

Liste des tableaux

Tableau n°1: Les données géographiques de la récolte des espèces végétales étudiées.

Tableau n°2: Liste des souches microbiennes testées.

Tableau n°3 : Liste des antibiotiques utilisés.

Tableau n°4: Le rendement en extraits hydro-éthanolique obtenus des feuilles de *Calamintha nepeta*.

Tableau n°5: Résultats du screening phytochimique des feuilles de *Calamintha nepeta*.

Tableau n°6: Résultats de l'activité antimicrobienne des antibiotiques et des antifongiques exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.

Tableau n°7: Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.

Tableau n°8: Valeurs des paramètres antimicrobiens de l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta*.

Liste des figures

Figure n°1 : *Calamintha nepeta*: a, Port de la plante; b, branche ; c, feuille ; d, fleur ; e, calice ; f, corolle ; g, branches stylaires ; h, nucules.

Figure n°2 : Coordonnées géographiques de la région de la collecte de plante étudiée.

Figure n°3 : *Calamintha nepeta* d'Ain témouchent.

Figure n°4 : Extraction hydro-éthanolique par Macération.

Figure n°5 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Figure n°6 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

Figure n°7 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins.

Liste des abréviations et symboles

AFNOR : Association Française de Normalisation

ATCC : American Type Culture Collection

BMR : Bactérie multirésistante

CE50 : Concentration Efficace à 50%

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMF : Concentration Minimale Fongicide

FE : Feuilles

FL : Fleurs

HE: Huile essentielle

IR : Indice de Rétention

OMS : Organisation mondiale de la santé

UFC : Unité Formant des Colonies

UV : Ultra Violet

Introduction

I. Introduction

La connaissance des remèdes traditionnels déterminés empiriquement ou ethnopharmacologie, constitue actuellement une base de données très importante pour servir à un développement scientifique rigoureux inhérent à la phytothérapie (**Bureau, 2018**).

L'Organisation mondiale de la santé (**OMS, 2013**) estime que la médecine traditionnelle couvre les besoins en soins de santé primaires de 80 % de la population des pays en voie de développement (**Damus et Vonarx, 2019**).

L'Organisation mondiale de la santé encourage les pays en voie de développement à intégrer, dans leur système officiel de santé, les remèdes à base de plantes dont les aspects, innocuité, efficacité et qualité sont garantis (**Bouzabata, 2017**).

Les plantes constituent un réservoir énorme de nouvelles molécules potentielles pouvant être à l'origine de nouveaux principes actifs et aboutissant à des médicaments (**Neal, 2017**).

On estime à 400000-500000 espèces de plantes dans le monde (**WHO, 1999**) dont très peu sont exploitées en phytothérapie.

La région méditerranéenne est un hot spot relativement riche en plantes puisqu'on dénombre entre 15000 et 20000 espèces (**Sofowora, 2010**).

De part sa situation géographique particulière, l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée (**Vela et Benhouhou, 2007**).

Un grand nombre de plantes y poussent spontanément. La valorisation de cette flore devient donc indispensable. A cet égard, nous nous sommes intéressés à une espèce poussant à l'état spontané à l'ouest du pays, *Calamintha nepeta* et plus particulièrement, à leurs métabolites secondaires.

Les métabolites secondaires constituent un complexe de molécules bioactives qui possèdent diverses propriétés biologiques intéressantes. Ils sont appliqués dans divers domaines : médecine, pharmacie, cosmétologie, alimentation et agriculture. Une partie importante de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de la résistance microbienne aux antibiotiques, un phénomène principalement responsable de l'apparition des infections nosocomiales d'une part, et de la multi-résistance d'autre part. Cette dernière est un phénotype complexe dont la caractéristique prédominante est la résistance à un large éventail d'antibiotiques (**Gerlach et al., 1986**).

Notre étude consiste à la recherche de l'activité antimicrobienne d'une plante, *Calamintha nepeta* appartenant à la famille des *Lamiaceae*. Elle est parmi les familles de plantes les plus

utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à qualité médicale intéressante. Cette plante représente un sujet de recherche scientifique intéressant, elle est employée fréquemment par nos populations dans le domaine culinaire et celui de la médecine traditionnelle, son efficacité est reconnue traditionnellement dans le traitement des rhumes, gripes et fièvres. Egalement prescrite pour faciliter la digestion, la diarrhée. En tant que remède, les Nepetas sont employées comme décontractant, sédatif et antispasmodique.

Le présent travail est une contribution dans la valorisation des principes actifs contenus dans *Calamintha nepeta* est présenté comme suit :

- Introduction
- Une synthèse bibliographique sur la plante étudiée, les infections nosocomiales, les antibiotiques, la résistance microbienne et les activités antimicrobiennes de *Calamintha nepeta*
- Une partie expérimentale, décrit le matériel et les méthodes utilisés dans notre travail.
- Une partie consacrée aux résultats expérimentaux trouvés et qui portent sur :
 - Une extraction hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* ;
 - Un screening phytochimique réalisé sur les métabolites secondaires de *Calamintha nepeta* et un dosage des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins et
 - Une étude de l'activité antimicrobienne sur des souches microbienne référenciées et détermination de la CMI et CMB des substances naturelles extraites.

Synthèse- bibliographique

II. Synthèse bibliographique

II.1. Généralités sur les plantes médicinales

Depuis des milliers d'années, les plantes sont utilisées pour aromatiser et conserver les aliments, pour traiter les troubles de santé et pour prévenir les maladies, y compris les épidémies (**Silva et Fernandes junior, 2010**). La pratique de la médecine traditionnelle est répandue en Chine, en Inde, au Japon, au Pakistan, en Thaïlande et au Sri Lanka (**Silva et Fernandes junior, 2010**).

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité. Plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires. Plus de 80 % des populations africaine ont recours à la médecine et à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de santé (**Sofowora, 2010**). Le continent africain regroupe des plantes médicinales très diversifiées (**Sofowora, 2010**). En effet sur les 300000 espèces végétales recensées sur la planète, plus de 200000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique et ont des vertus médicinales (**Dieye et Sarr, 2021**). Les plantes médicinales demeurent encore une source de soins médicaux dans les pays en voie de développement en l'absence d'un système médicamenteux moderne (**Salhi et al., 2010**).

On estime qu'au milieu des années 90, plus de 2,5 milliards de dollars ont résulté des ventes de médicaments à base de plantes. Les préparations médicinales à base de plantes sont plus demandées que les produits pharmaceutiques traditionnels au Japon (**Dar et al., 2017**).

Actuellement, la recherche de nouvelles molécules doit être entreprise au sein de la biodiversité végétale en se servant de données ethno-pharmacologiques. Les plantes constituent un réservoir de molécules bioactives, elles synthétisent de nombreux composés appelés métabolites primaires, qui sont indispensables à leur existence, et une grande variété de composés secondaires conduisant à une grande biodiversité moléculaire dont la fonction est loin de faire l'unanimité (**Small et Catling, 2000**). Ces métabolites secondaires sont généralement responsables des caractéristiques biologiques des espèces végétales utilisées dans le monde (**Dar et al., 2017**).

II.2. Les éléments actifs des plantes médicinales

II.2.1. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (**Abderrazak et Joël, 2007**). Ils existent en très grand nombre et d'une variété structurale extraordinaire avec une structure

complexe. Ces composés possèdent un très large éventail d'activités en biologie humaine (**Fettah, 2019**).

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, il existe plus de 200 000 métabolites secondaires (**Vermerris, 2006**).

II.2.2. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges liquides, volatiles, naturels, limpides et rarement colorés, liposolubles et solubles dans les solvants organiques, complexes de composés de faible poids moléculaire avec une densité généralement inférieure à celle de l'eau. Elles sont caractérisées par une forte odeur, et naturellement synthétisées par les plantes en tant que métabolites secondaires en réponse aux attaques des insectes, des herbivores et d'autres organismes (**Raut et Karuppayil, 2014**).

Selon la Pharmacopée européenne l'huile essentielle est définie comme « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage » (**Parle, 1991**). L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique (**AFNOR, 1986**). Cette définition exclut les produits d'extraction obtenus par les solvants ou fluides supercritiques.

Parmi les 1500000 espèces végétales recensées, seulement 10% sont capables de synthétiser une essence (**Degryse et al., 2008**). Les huiles essentielles sont solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau. Elles sont très altérables et s'oxydent au contact de l'air et de la lumière (**Bruneton, 2009**).

II.2.3. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires (**Lebham, 2005**). Ils se caractérisent par la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones (noyau benzénique), ils peuvent être regroupés en différentes classes selon leur configuration chimique : les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins et les lignines (**Abbas et al., 2017**).

II.2.3.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés organiques. Ces acides sont largement présents dans les aliments et sont divisés en deux catégories : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. Les acides hydroxy-cinnamiques sont plus présents que les acides hydroxy-benzoïques et comprennent principalement les acides coumariques, caféique, férulique et sinapique (**Pandey et Rizvi, 2009**).

II.2.3.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments très répandus chez les végétaux les plus répandus dans la nature (**Lugasi, 2003**). En effet, plus de 36.000 structures différentes ont été identifiées. Il en reste des milliers d'autres à découvrir puisque le squelette des flavonoïdes peut être substitué par différents groupements comme des groupements hydroxy, méthoxy, méthyl, benzyl et isoprényl (**Kholkhal, 2014**). Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont les : flavones, isoflavandiols, flavanols, flavandiols, aures, chalcones, anthocyanins (**Chira et al., 2008**).

II.2.3.3. Les tanins

Les tanins représentent un groupe de substances phénoliques polymériques. En plus de leurs capacités à précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (**Benhammou, 2012**). Parmi les caractéristiques des tanins le goût astringent qui est une sensation tactile due à la précipitation des protéines salivaires et qui crée une sensation d'assèchement dans la bouche. Ils sont classés en deux groupes selon leur structure chimique: les tanins condensés constituent d'unité de flavan-3-ols ou flavan-3-diols, le plus souvent épicatechine et catéchine ; et les tanins hydrolysables qui peuvent libérer par hydrolyse chimique ou enzymatique une partie non phénolique (souvent de glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique (cas des gallotannins) soit un dimère de ce même acide, l'acide ellagique (cas des ellagitannins) (**Macheix, 1996**).

II.2.3.4. Les coumarines

Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, ce sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien (**Kholkhal, 2014**). Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres, et constituent un moyen de défense aux attaques biotiques et abiotiques (**Bendif, 2017**). Dans la cellule végétale, les coumarines sont principalement présentes sous forme glycosylée, cette glycosylation est une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques de ces molécules. Elles sont synthétisées en grande quantité par la plante pour lutter contre les infections causées par les champignons et les bactéries (**Hofmann, 2003**).

II.2.3.5. Les anthocyanes

Ce sont des pigments présents chez les végétaux appartenant à la famille des flavonoïdes. Ces molécules capables d'absorber la lumière visible sont responsables de la coloration rouge, rose, violette et bleu des plantes (**Bessas et al., 2008**). Elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, on les trouve également dans les racines, tiges, feuilles et graines, Leurs génines (Anthocyanidols) sont des dérivés du cation 2-phényl-

benzopyrylium plus communément appelé cation flavylium (**Sebih, 2020**).

II.2.3.6. Les quinones

Ce sont des substances brillantes et colorées, en général rouges, jaunes ou oranges. Elles sont responsables de la réaction de brunissement dans les fruits et végétaux coupés ou lésés, et elles sont connues pour se complexer de manière irréversible avec les nucléophiles des acides aminés dans les protéines (**Arif et al., 2009**). La structure des quinones contient deux groupements carbonyles issus de l'oxydation d'un système aromatique caractérisé par deux structures de base ; les para-benzoquinones et les orthobenzoquinones qui peuvent aussi se trouver au sein des systèmes polycycliques (Naphtoquinones, anthraquinones, phénanthrènequinones, etc...). Les quinones manifestent diverses activités biologiques : antimicrobien, fongicides et antivirales (**Besset, 2009**).

II.2.3.7. Les alcaloïdes

Ce sont des composés organiques qui représentent un groupe fascinant de produits naturels, azotés et amers aux propriétés physiologiques distinctes, même à faibles doses (**Fettah, 2019**), leurs structures moléculaires sont complexes, plus ou moins basiques, et doués de propriétés pharmacodynamiques marquées même à des faibles doses (**Debnath et al., 2018**). Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques (la strychnine ou l'aconitine), En raison de leur puissante activité biologique, la plupart des alcaloïdes connus ont été exploités en tant que médicaments, stimulants, narcotiques et comme poisons (**Ziegler et Facchini, 2008**). Au niveau du système nerveux central ils agissent comme antidépresseurs (morphine) ou stimulants (strychnine, caféine), ils peuvent avoir aussi des effets curarisants, anesthésiques locaux, anti-fibrillants, anti-tumoraux, et antipaludiques (**Bruneton, 1999**).

II.3. L'espèce végétale étudiée : *Calamintha nepeta*

II.3.1. Généralités

La famille des Lamiacées connue également sous le nom des Labiées, Labiées dérive du nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles. (**Bouhaddouda, 2016**). La famille des Lamiaceae est l'une des premières familles à être distingués par les botanistes, les lamiacées sont des angiospermes dicotylédones appartenant à l'ordre des Lamiales. Cette famille de plantes angiospermes dicotylédones comprend environ 258 genres et 6970 espèces (**Botineau, 2010**). Ce sont des plantes à fleurs herbacées ou arborescentes très parfumées (**Silvant, 2014**). Quarante pourcent (40%) des espèces de la famille des Lamiaceae contiennent des composés qui possède des propriétés aromatiques (**Verse, 2007**).

Dans la flore de l'Algérie, les Lamiacées sont représentées par 28 genres et 146 espèces, Certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (**Bendif, 2017**).

Le genre *Calamintha* comprend des plantes aromatiques appartenant à la famille des Lamiacées, qui est bien représentée et répandue dans toute la région méditerranéenne. De nombreux membres de cette famille sont utilisés comme épices, et sont également employés dans la médecine populaire dans diverses traditions. Les espèces de *Calamintha* sont des plantes herbacées vivaces érigées de taille moyenne à grande, parfois ligneuses à la base, représentées par huit espèces (**Demirci et al., 2011**) réparties en Europe, dans la région méditerranéenne orientale, en Asie centrale, en Afrique du Nord et en Amérique (**Alan et al., 2011**). *Calamintha nepeta* L. est une espèce herbacée, indigène et vivace de la famille des Lamiaceae, (**Eggenberg et Möhl 2008**). C'est une herbe buissonnante pourvue d'un rhizome et semblable à la menthe commune par sa morphologie et son parfum caractéristique (**Pacifico et al., 2015**).

II.3.2. Taxonomie

Selon **Consejo, (2003)** *Calamintha nepeta* appartient à la famille des *Lamiaceae* sa classification est comme suit :

Domaine : Eucaryote

Règne : Plantae

Division : Spermatophyta

Subdivision: Magnoliophytina

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Calamintha*

Espèce: *Calamintha nepeta* L. Savi

Sous-espèces : *Calamintha nepeta* L. Savi subsp. *nepeta*

II.3.3. Morphologie

Calamintha nepeta est une herbe buissonnante et rhizomateuse similaire à la menthe commune par sa morphologie et son parfum caractéristique (**Pacifico et al., 2015**). *Calamintha nepeta* est une plante vivace, sa hauteur peut atteindre 80 cm et elle est peu ou densément pubescente (**Verma et al., 2011**). Avec des feuilles largement ovales, obtuses, subenti formes elles comportent jusqu'à neuf dents de chaque côté et forme typiquement un feuillage dense que l'on trouve habituellement sur les sites rocailleux, les prairies sèches et les

lieux abandonnés. De minuscules fleurs tubulaires à deux lèvres, de couleur lilas à blanc, apparaissent en épis axillaires (cymes de 5 à 20 fleurs). Le calice a un diamètre de $3-7 \times 1-2$ mm, il est peu ou fortement pubéruleux ou pubescent.

Les dents supérieures mesurent 0,5-1,5 mm de long, sont étroitement ou largement triangulaires ; les dents inférieures mesurent 1-2 mm, sont pubéruleuses, rarement avec quelques longs cils ; la corolle mesure de 10 à 15 mm de long (**Božovic et Ragno, 2017**).
(Figure n°1)

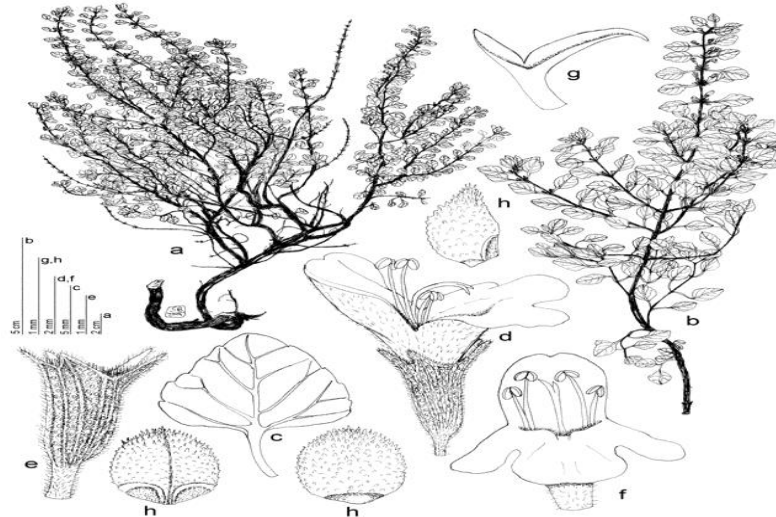


Figure n°1: *Calamintha nepeta*: a, Port de la plante; b, branche ; c, feuille ; d, fleur ; e, calice ; f, corolle ; g, branches stylaires ; h, nucules (**Gianluigi et Salvatore, 2005**).

II.3.4. Répartition géographique

Calamintha nepeta L savi est très fréquente dans la région méditerranéenne orientale. (**Alan et al., 2011**), Leurs aires de distribution naturelle couvrent l'Europe, à l'exception des zones les plus septentrionales, ainsi que l'Asie centrale et mineure et l'Afrique du Nord. Ils sont naturalisés en Amérique du Nord (**Carron et al., 2018**).

En Algérie, on la rencontre dans les sous-bois mais aussi sur les terrains incultes, le bord des routes et dans le tell, surtout en montagne, jusqu'à 1500 mètres d'altitude (**Quezel et Santa, 1963**).

II.3.5. Usage

La demande de traitements de diverses maladies à base de plantes et de molécules naturelles est en forte augmentation (**Chen et al., 2016**). Depuis des milliers d'années *Calamintha nepeta L. savi* est utilisée en phytothérapie et réputé pour son activité antimicrobienne, antioxydante et anti-inflammatoire (**Bruneton, 2009**). Elle agit également contre les ulcères et possède des propriétés insecticides. Ses principales indications thérapeutiques concernent l'insomnie, la dépression, les crampes, les convulsions et le traitement de maladies

respiratoires et gastroentériques (**Božović et Ragno 2017**).

II.4. Les infections nosocomiales

Les maladies infectieuses représentent une cause importante de morbidité et de mortalité dans la population générale (**Silva et Fernandes-junior, 2010**). Une infection est la pénétration dans l'organisme d'un agent étranger (bactérie, virus, champignon, parasite) capable de s'y multiplier et d'y induire des lésions pathologiques (**Delamare, 1999**). Les infections nosocomiales peuvent être décrites comme des infections survenant chez un patient au sein d'un hôpital et chez qui cette infection n'était ni présente ni en incubation au moment de l'admission. Cette définition inclut les infections contractées à l'hôpital mais qui se déclarent après la sortie, et également les infections professionnelles parmi le personnel de l'établissement » (**OMS, 2010**). Une infection est de type nosocomial lorsqu'elle se déclare plus de 48 heures après l'admission d'un patient dans une unité de soins. De même, toute infection du site opératoire qui se révèle dans les 30 jours suivant une intervention chirurgicale est à priori nosocomiale, ce délai est porté à un an pour les infections survenant en cas de mise en place de matériel prothétique (prothèse articulaire, matériel métallique de fixation ou de suture) ou d'un implant (**Chabni et al., 2019**). Les agents microbiens impliqués dans les infections nosocomiales sont divers, dont 90% des cas sont causés par des bactéries (**Nadim et al., 2018**). Parmi les bactéries les plus rencontrés, les bacilles à Gram négatif représentent environ 60% et les cocci à Gram positif 30%. Les trois bactéries le plus souvent en cause sont *Escherichia coli* (25%), *Staphylococcus aureus* (19%) et *Pseudomonas aeruginosa* (10%) (**Nadim et al., 2018**). En Algérie, les bactéries les plus isolées sont : *Micrococcus* spp. (27.50%), *Corynebacterium* spp. (27.50%), *Staphylococcus* spp. (25%), *Bacillus* spp. (21.25%), *Enterococcus* spp. (20%), *Enterobacter cloacae* (10%), *Klebsiella pneumoniae* (5%) et *Pseudomonas aeruginosa* (3.75%) (**Baghdadi et al., 2020**).

Les bactéries ne sont pas les seuls agents responsables des infections nosocomiales, les champignons sont de plus en plus impliqués et *Candida albicans* fait partie des cinq premiers microorganismes impliqués dans les infections nosocomiales (**Angoue, 2020**). Les virus tels que le virus de la fièvre hémorragique, virus de l'hépatite, le VIH, les virus respiratoires syncytiaux (VRS) et le nouveau virus de la COVID-19 (SARS-COV-2) (**Tsergouli et al., 2020**), peuvent aussi être impliqués dans la transmission des infections associées au soins.

II.4.1. Mode de transmission

II.4.1.1. Voie endogène : Le malade s'infecte avec sa propre flore à la faveur d'un acte invasif (porte d'entrée) et/ou à raison d'une fragilité particulière. On parle aussi d'auto-infections (**Hocquet-Berg et Py, 2006**). Cette flore est constituée des microorganismes

abrités par le corps de ce patient, et peut être d'origine digestive, respiratoire, ou urogénitale (Phaneuf, 2010).

II.4.1.2. Voie exogène : L'environnement et l'entourage du patient représentent une autre source de germes, mais ces derniers sont moins fréquents que les précédents, il peut s'agir soit :

- De germes provenant d'un autre malade (Hétéro-infection ou infection croisée) : la transmission étant le plus souvent manu portée par le personnel soignant intervenant après de plusieurs patients, disséminant ainsi les germes d'une personne malade à l'autre (Custovic et al., 2021).
- De germes provenant de personnes venant de l'extérieur (Xéno-infection) : personnel soignant, visiteurs ou sous-traitants, et présentant eux-mêmes une pathologie infectieuse, déclarée ou en cours d'incubation (Hygis, 1998).
- Due à une contamination de l'environnement hospitalier (Exo-infection): liée à des avaries techniques : eau polluée (légiionellose), air (aspergillose), alimentation, ou bien du matériel ou d'instrument mal décontaminé, non désinfecté ou non stérilisé, surtout pour ce qui est du matériel d'intubation et de ventilation manuelle ou artificielle (ballon, valves, laryngoscope, circuits externes des respirateurs, humidificateur) (Albrecht, 2015).

II.4.2. Patient réceptif

Certaines pathologies entraînent une légère immunodépression. Les malades à risque sont : les brûlés, les grabataires avec des escarres étendues, les polytraumatisés et les porteurs de dispositifs invasifs (assistance respiratoire, sonde urinaire, cathéters divers), les insuffisants respiratoires, les vieillards et surtout les nouveaux nés prématurés. Ils sont donc exposés à une infection nosocomiale (Samou, 2004).

II.5. Les antibiotiques

II.5.1. Définition

Le mot antibiotique signifie au sens étymologique: contre (anti) les organismes vivants (biotiques). Le radical « biotique » signifie ici plus précisément contre les bactéries. Le terme « antibiotique » est réservé à l'action d'une molécule sur les bactéries. L'antibiotique est un médicament qui s'oppose à la multiplication des bactéries néfastes ou qui détruit ces bactéries. Les antibiotiques peuvent être d'origine naturelle ou synthétique, ceux-ci sont des substances chimiques qui ont une action spécifique avec un pouvoir destructeur sur les micro-organismes. Ces substances sont dépourvues de toxicité pour les autres cellules. Ces molécules peuvent avoir une action bactéricide. Leur efficacité peut être également limitée à empêcher le développement des micro-organismes (action bactériostatique). Les antibiotiques

sont fabriqués à partir de cultures des micro-organismes ou sont des médicaments entièrement. On connaît aujourd'hui plus de dix mille molécules antibiotiques dont une centaine est utilisée en médecine (**Hutchings et al., 2019**).

II.5.2. Modes d'action

Les antibiotiques présentent différents mécanismes d'action contre les micro-organismes, ils peuvent agir sur (**Demoré et al., 2012**) :

- La synthèse du peptidoglycane et donc sur la paroi cellulaire, les membranes (polymyxines) ;
- La synthèse des acides nucléiques (quinolones, rifamycines, nitroimidazolés) ;
- La synthèse protéique (macrolides et apparentés, aminosides, phénicolés, tétracyclines) ;
- Le métabolisme intermédiaire (sulfamides, triméthoprim).

II.6. Résistance bactérienne aux antibiotiques

Les antibiotiques sont des médicaments utilisés pour le traitement et la prévention des infections. C'est l'une des découvertes qui a révolutionné la médecine en contribuant à la lutte contre les maladies infectieuses et la diminution de la morbidité et la mortalité humaines. Mais leur efficacité est menacée car les microorganismes peuvent s'adapter et deviennent résistantes. Ce phénomène de résistance concerne plusieurs espèces des microorganismes et touche plusieurs familles d'antibiotiques (**Fahed, 2016**).

La résistance aux antibiotiques peut être naturelle comme elle peut être acquise, la résistance naturelle est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce microbienne. Elle fait, donc, partie du patrimoine génétique normal du germe (**Yala et al., 2001**).

Contrairement à la résistance naturelle, les espèces microbiennes présentent la capacité génétique d'acquérir et de transmettre une résistance contre les antibiotiques actuellement disponibles (Résistance acquise), car il existe de nombreux rapports sur l'isolement de bactéries connues pour être sensibles aux médicaments couramment utilisés et devenues multi-résistantes à d'autres médicaments disponibles sur le marché (**Silva et Fernandes-junior, 2010**). Cette résistance peut provenir par une mutation chromosomique, soit dans un gène de régulation, de production d'enzymes, soit dans un gène de structure d'une enzyme, ou par l'acquisition de matériel génétique étranger par le biais de plasmides, de bactériophages ou de transposons (**Davies, 1997**).

II.6.1. Mécanismes de la résistance

Les microorganismes ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antimicrobiens, les plus répandus étant l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la

pénétration réduite de la molécule. D'autres mécanismes tels que la protection ou la surproduction de la cible de l'antibiotique sont également décrits. Ils sont, cependant, plus rares et surtout associés à certaines classes de composés (**Guardabassi et Courvalin, 2006**).

Trois mécanismes principaux sont responsables de la résistance aux antibiotiques :

II.6.1.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactames, des aminoglycosides et des phénicolés. (**Nikaido, 2009**).

- Naturelle : chez *Klebsiella* spp qui présente une résistance aux aminopénicillines (Ampicilline Amoxicilline) et aux carboxypénicilline (Ticarcilline). Cette résistance est due à une pénicillinase constitutive.
- Acquisée : Chez les entérobactéries, le phénotype de résistance est dû à la production de pénicillinase plasmidique. (**Yala et al., 2001**).

II.6.1.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antimicrobien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. La modification de la cible, mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries Gram positives, et pour les résistances aux quinolones chez les bactéries Gram positives et Gram négatives. (**Alekshun et Levy, 2007**).

- Naturelle : chez le lactobacille (bactérie à Gram positif) qui est naturellement résistant à la Vancomycine et la Teicoplanine par modification de la cible.
- Acquisée : chez le *Staphylococcus aureus* à la méticilline et touche l'ensemble des β lactamines. (**Yala et al.,2001**)

II.6.1.3. Perméabilité réduite

Contrairement aux bactéries Gram positives, dont la structure enveloppante est assez simple, composée d'une paroi externe épaisse de peptidoglycane que les antibiotiques traversent par simple diffusion, les bactéries Gram négatives jouissent quant à elles d'une enveloppe plus complexe et plus difficilement franchissable (**Nikaido, 2009**).

- Naturelle : chez Les streptocoques et les entérocoques qui sont naturellement résistants aux aminosides.
- Acquisée : chez 10% des *pseudomonas aeruginosa* qui présente une résistance acquise à l'Imipenème (**Yala et al.,2001**).

II.6.2. Les bactéries multi-résistantes (BMR) (Gagnaire et al., 2015)

Les (BMR) sont définies comme des microorganismes ayant accumulé des résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques. La multirésistantes est une étape qui précède l'impasse thérapeutique. Cela concerne aussi bien les infections nosocomiales que les infections communautaires (ex: EBLSE), les BMR pouvant être mises en évidence en établissement de santé et dans la communauté. Le taux de BMR fait partie des indicateurs d'activité et de qualité, et des référentiels d'accréditation des établissements de santé. Au niveau européen, un consensus récent (**Magiorakos et al., 2012**) a défini 3 niveaux de résistance aux antibiotiques :

- multi-drug resistant bacteria (MDR) (résistance à plus de 3 familles différentes d'antibiotiques).
- extensively-drug resistant bacteria (XDR) (sensibilité conservée uniquement pour une ou deux classes d'antibiotiques).
- pan-drug resistant bacteria (PDR) (résistance à tous les antibiotiques).

La multi-résistance chez les bactéries peut être générée par l'un des deux mécanismes (**Nikaido, 2009**) :

- Premièrement ; ces bactéries peuvent accumuler plusieurs gènes, chacun codant pour la résistance à un seul médicament, dans une seule cellule. Cette accumulation se produit généralement sur les plasmides de résistance (R).
- Deuxièmement : la résistance à plusieurs antibiotiques peut également se produire par l'expression accrue de gènes qui codent pour les pompes d'efflux, extrudant une large gamme d'antibiotiques.

II.7. Propriétés antimicrobiennes des plantes médicinales

La plupart des plantes contiennent plusieurs composés aux propriétés antimicrobiennes pour la protection contre les agents agresseurs, en particulier les micro-organismes (**Silva et Fernandes-junior, 2010**). L'activité antimicrobienne des huiles et des extraits de plantes a constitué la base de nombreuses applications, y compris la conservation des aliments crus et transformés, les produits pharmaceutiques, la médecine alternative et les thérapies naturelles (**Hammer et al., 1999**).

Les composés phénoliques, sont également connus pour leurs propriétés antimicrobiennes (**Cowan, 1999**). Ils sont capables de se fixer sur certaines protéines et enzymes en modifiant ainsi les équilibres enzymatiques, et il existe une relation étroite entre les flavonoïdes et les activités antibactériennes. En effet, les flavonoïdes se complexe avec les protéines

extracellulaires et solubles et à se complexe avec les parois cellulaires bactériennes, et perturbe ainsi les membranes microbiennes (**Djahra et al., 2013**). Les tanins possèdent un effet inhibiteur et létal sur différentes souches microbiennes, leur mode d'action est lié à leur capacité à inactiver les adhésines microbiennes, les enzymes et les protéines de transport de l'enveloppe cellulaire, et ils ont la capacité d'empêcher le développement des colonies bactériennes par la destruction de leurs parois cellulaires (**Djahra et al., 2013**).

II.7.1. Mécanismes d'action antimicrobiens des composés phénoliques

Différents mécanismes sont probablement responsables de l'activité antimicrobienne des polyphénols ; il a été observé que l'activité antimicrobienne de nombreux phénols augmente avec l'élévation de leur caractère lipophile, ceci peut être directement lié à leurs interactions potentielles avec la membrane cellulaire ce qui induit des dommages irréversibles affectant à la fois la membrane et les enzymes intracellulaires (**Bouarab Chibane et al., 2019**). Les mécanismes antimicrobiens des composés phénoliques sont encore loin d'être entièrement compris. Il existe une disparité entre les différentes classes de composés : les phénols simples ont des mécanismes d'action relativement bien connus, au contraire des acides phénoliques et des flavonoïdes. La complexité des modes d'action de certaines molécules vient du fait qu'elles peuvent avoir plusieurs cibles cellulaires et que celles-ci ne sont pas indépendantes : ainsi, l'atteinte d'une cible peut avoir des conséquences sur d'autres fonctions physiologiques (**Cushnie et Lamb 2005**). De plus, certaines études ont démontré que leur activité antimicrobienne est associée à la présence et à la position d'un groupe hydroxyle libre lié directement à un cycle aromatique en C6 comme système de délocalisation des électrons, ce qui favorise leur capacité à modifier l'intégrité de la membrane des cellules microbiennes. En outre, le groupe hydroxyle joue un rôle clé dans l'inactivation des enzymes microbiennes telles que l'ATPase, l'histidine décarboxylase, l'amylase et la protéase, l'inhibition de l'ATPase peut provoquer la perturbation de la respiration et par conséquent la lyse cellulaire (**Aguilar-Veloz et al., 2020**). Une étude a montré que la quercétine, l'un des principaux polyphénols du vin, a exercé un effet inhibiteur sur l'ADN gyrase d'E.coli. Ce flavonoïde a augmenté également la perméabilité de la membrane et a réduit son potentiel membranaire, empêchant ainsi la synthèse d'ATP dans cette bactérie (**Gutiérrez-del-Río et al., 2018**). Les polyphénols peuvent inactiver la synthèse des acides aminés essentiels par interférence dans les réactions du phosphoenolpyruvate, de l'erythrose-4-phosphate et de l'acide shikimique. Cela favorise la production de tryptophane et diminue la production de phénylalanine ou de tyrosine, modifiant la structure de certaines protéines essentielles à la formation de la structure de l'appressorium fongique (**Pagnussatt et al., 2013**). Les tanins sont capables de bloquer

l'activité de la catalase, provoquant un effet létal sur certains pathogènes (**Zhao et Drlica, 2014**). De même, ils peuvent inhiber les enzymes impliquées dans la synthèse de l'ergostérol, le principal composant de la membrane cellulaire fongique, réduisant ainsi sa teneur intracellulaire (**Campoy et Adrio, 2017**).

Matériel et Méthodes

III. Matériel et Méthodes

III.1. Matériel végétal

Cette étude a été portée sur *Calamintha nepeta*. La collecte a été effectuée au début du mois de Février 2023 dans la région de Béni Saf à l'Ouest de la wilaya d'Ain Témouchent (**Figure n°2**). Les coordonnées géographiques sont présentés ci-dessous (**Tableau n°1**).

Tableau n°1: Les données géographiques de la récolte des espèces végétales étudiées.

Espèce végétale	Région	Coordonnées géographique
<i>Calamintha nepeta</i>	Béni-Saf	Altitude : 25m, Longitude: 1°23'1''O Latitude : 35°18'8''N

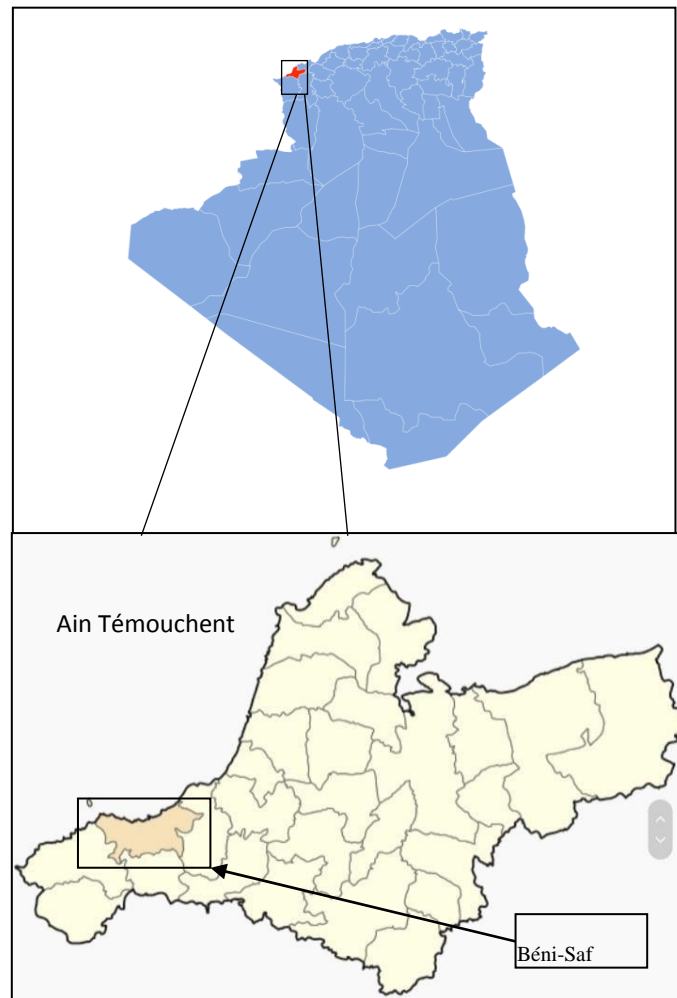


Figure n°2 : Coordonnées géographique de la région de la collecte de plante étudiée.

L'identification botanique de *Calamintha nepeta* (**Figure n°3**) a été confirmée par le Professeur Belhassaini Hachemi, botaniste de l'Université de Sidi Bel-Abbas, Algérie. Le

Voucher spécimen de l'espèce étudiée a été déposé au niveau du laboratoire de microbiologie et de biologie végétale de l'université de Mostaganem (Algérie).



Figure n°3 : *Calamintha nepeta* d'Ain témouchent

Une fois ramenée au laboratoire, la plante a été lavée pour éliminer toute trace de terre et recouverte de papier-peint pour éviter l'accumulation des moisissures, et séchée à l'ombre pendant 15 jours. La température de séchage est comprise entre 22 et 25°C (Ouafi et al., 2015). Puis finement broyer à l'aide d'un broyeur électrique (Kitchef model No: KT-500Y) et conservé dans des piluliers à l'obscurité.

III.2. Extraction hydro-éthanolique par Macération

Les feuilles de *Calamintha nepeta* en poudre (10 g) ont été mises en contact avec 100 mL du mélange éthanol absolu (Merck : 99,9%) /eau (80/20) (Fadili et al., 2017). Le mélange a été soumis à une agitation (Hanna HI 190M) pendant 48h à température ambiante à l'abri de la lumière. Après une double filtration sur papier filtre (wattman N°1), les filtrats hydro-éthanolique ont été concentrés à sec sous pression réduite à une température modérée (45°C) dans un évaporateur rotatif Büchi (R 100). Les extraits bruts obtenus ont été pesés pour déterminer le rendement d'extraction, et conservés à (4°C) jusqu'à leur usage (Fadili et al., 2017) (Figure n°4).

III.3. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction a été calculé par la formule suivante : (Mahmoudi et al., 2012)

$$R (\%) = M'/M \times 100.$$

R : rendement d'extraction en pourcentage.

M' : masse de l'extrait sec ou d'huile essentielle en gramme.

M : masse de la matière végétale en gramme.



Figure n°4 : Extraction hydro-éthanolique par Macération

III.4. Screening phytochimique

Le screening phytochimique sur une plante représente toujours la première étape de son étude chimique. En effet il consiste à réaliser des tests phytochimiques qualitatifs, basés soit sur des réactions de coloration, ou sur la formation des complexes insolubles en utilisant des réactions de précipitation plus ou moins spécifiques à chaque classe de principe actifs. Le principe consiste à l'épuisement de la matière végétale par des solvants à polarité croissante.

L'analyse phytochimique a été réalisée sur l'extrait des feuilles sèches de *Calamintha nepeta* et effectué en utilisant les procédures standard décrites par plusieurs auteurs (**Firdouse & Alam, 2011; Rao et al., 2016; Shaikh & Patil, 2020**).

III.4.1. Test pour les phénols (Test au chlorure ferrique)

Quelques gouttes de chlorure ferrique aqueux à 10 % ont été ajoutées à l'extrait. L'apparition d'une couleur bleue ou verte indique la présence de phénols.

III.4.2. Test pour les flavonoïdes

Une à cinq gouttes d'acide chlorhydrique concentré (HCl) ont été ajoutées à une petite quantité d'extrait éthanolique du matériel végétal. L'apparition immédiate d'une couleur rouge indique la présence de flavonoïdes.

III.4.3. Test des tanins

Dans un tube à essai, on a ajouté 2mL du chlorure ferrique (5%) à 5mL d'extrait, la formation d'une couleur bleu foncé ou noir verdâtre montre la présence de tanins.

III.4.4. Test pour les coumarines

Dans un tube à essai, on a ajouté 1mL d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 10% et 1mL d'extrait. La présence de coumarines est indiquée par la formation d'une couleur jaune.

III.4.5. Test pour les saponines

On a ajouté 5mL d'eau à 1mL d'extrait, et le tube est secoué vigoureusement. La formation d'une mousse abondante indique la présence de saponines.

III.4.6. Test pour les alcaloïdes (Test de Mayer)

2ml d'extrait sont prélevés dans un tube à essai, puis 0,2mL de HCl dilué est ajouté, suivi de 1ml de réactif de Mayer. Une coloration jaunâtre indique la présence d'alcaloïdes.

III.4.7. Test pour les carbohydrates (Test de Fehling)

Des quantités égales de solution A et B de Fehling ont été ajoutées à l'extrait puis le mélange a été chauffé, la formation d'une couche de couleur rouge brique indique la présence des carbohydrates.

III.4.8. Test de dépistage des protéines (Test de Biuret)

On a ajouté 1mL de solution d'hydroxyde de sodium à 40% à l'extrait et deux gouttes de solution de sulfate de cuivre à 1%. La formation d'une couleur violette indique la présence de protéines.

III.4.9. Test pour les quinones

On a ajouté 1ml d'acide sulfurique concentré à 1mL de l'extrait. La formation d'une couleur rouge montre la présence de quinones.

III.4.10. Détection de Terpenoïdes (Test de Slakowski)

Dans un tube à essai contient 5mL d'extrait végétal, on a ajouté 2mL de chloroforme, et 3mL de H₂SO₄ concentré. La présence des terpénoïdes est mise en évidence par l'apparition d'un anneau marron à l'interphase

III.4.11. Détection d'anthraquinones

On a ajouté 10mL de la solution d'ammoniaque 10% à quelques ml de filtrat, le mélange a été agité vigoureusement pendant 30 sec. L'apparition d'une couleur rose, violette ou rouge indique la présence d'anthraquinones.

III.5. Etude quantitative

Des déterminations quantitatives des principaux groupes de métabolites secondaires: les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés ont été effectuées sur l'extrait du *Calamintha nepeta*. Le choix du dosage de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés biologiques de la plante lui sont attribués (Boizot et al., 2006).

III.5.1. Dosage des composés phénolique :

L'analyse quantitative des composés phénoliques : polyphénols totaux (PT), flavonoïdes totaux (FT), et tanins condensés (TC) est réalisée par le dosage spectrométrie à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible de type Jenway (6715 UV-Vis). La raison principale du choix de ces composés réside dans le fait que la majorité des activités biologiques des plantes leurs sont attribués.

III.5.1.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait des feuilles de *Calamintha nepeta* a été effectué par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu. En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéro-polyacides, d'où la formation d'un complexe bleu (Daelsrakotoarison, 1999).

Mise en œuvre pratique

Selon le protocole décrit par Dewanto et al., (2002), Un volume de 125µL de l'extrait (1mg /mL), a été mélangé avec 500µL d'eau distillée et 125µL du réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Le mélange a été laissé réagir pendant 6 min. Ensuite un volume de 1250 µL d'une solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7% a été ajouté au mélange précédent et le volume final a été ajusté à 3 mL avec de l'eau distillée. Les tubes ont été conservés à l'obscurité, à température ambiante pendant 90 mn. L'absorbance a été mesurée à 760 nm. L'absorption de l'extrait a été comparée avec celle de l'acide gallique traité à différentes concentrations avec le même réactif et dans les mêmes conditions, Une courbe d'étalonnage a été réalisée. Les résultats ont été exprimés en milligrammes-équivalent d'acide gallique/gramme d'extrait sec (mg EAG/g).

III.5.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes dans l'extrait des feuilles de *Calamintha nepeta* a été effectué par la méthode au chlorure d'aluminium. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium (AlCl₃) entraînant un complexe rose qui absorbe à 430nm.

Mise en œuvre pratique

Selon le protocole décrite par Ullah et al. (2019). 500µL de l'extrait, préparés dans le éthanol est mis dans des tubes à essai sur lesquels 500µL de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 2% (préparé dans l'éthanol) a été ajouté. Le mélange est laissé incubé 15min à température ambiante à l'obscurité, avant la lecture de l'absorbance à 430nm. L'absorption de l'extrait a été comparée avec celle de La quercitrine (10-90µg /mL) est utilisée comme standard. Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine (vitamine P). Les résultats sont exprimés en milligrammes-équivalent de quercétine/g d'extrait sec (mg EQ/g).

III.5.1.3 Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés dans l'extrait des feuilles de *Calamintha nepeta* a été effectué par la méthode à la vanilline cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide.

Mise en œuvre pratique

Selon le protocole décrit par (Ali-Rachedi et al., 2018), Un volume de 50 µL de chaque extrait a été ajouté à 1500 µL de la solution vanilline (Alcoolique) à 4 %, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 750 µL de l'acide Chlorhydrique concentré (HCl) a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc. L'absorption de l'extrait a été comparée avec celle de la catéchine traité à différentes concentrations et dans les mêmes conditions, une courbe d'étalonnage a été réalisée. Les résultats sont exprimés en milligrammes-équivalent de catéchine/gramme d'extrait sec (mg EQ/g)

III.6. Procédés d'étude microbiologique

III.6.1. Souches microbiennes testées

Pour notre étude, nous avons testé la sensibilité de sept souches microbiennes de référence (American Type Culture Collection "ATCC") provenant de l'Institut Pasteur d'Alger vis-à-vis des agents antimicrobiens standards (antibiotiques et antifongiques) et biologiques (extraits hydro-éthanolique). Il s'agit de six souches bactériennes (quatre Gram négatives et deux Gram positives) et d'une souche fongique connue pour être responsables d'infections nosocomiales (**tableau n°2**).

Tableau n°2 : Liste des souches microbiennes testées :

Souche	Code	Gram	
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876	positive	Institut Pasteur d'Alger
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	positive	
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	négative	
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 35659	négative	
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 6380	négative	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	négative	
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	/	

ATCC: American Type Culture Collection.

III.6.2. Milieux de culture utilisés

Les milieux de culture utilisés pour les différents tests microbiologiques sont les suivants (**annexe n°1**) :

- Pour les bactéries :
 - Bouillon nutritif ;
 - gélose nutritive ;

- milieu Mueller Hinton (M.H) liquide et solide.

• Pour les moisissures :

- milieu Sabouraud liquide et solide.

III.6.3.Préparation de l'inoculum

Les inoculums sont préparés à partir d'une culture jeune en milieu liquide (bouillon nutritif) de 18H pour les bactéries et 48H pour les levures et ce, en les diluant dans de l'eau physiologique stérile, de manière à obtenir des suspensions de concentration microbienne déterminée suivant la méthode utilisée pour l'étude de l'activité antimicrobienne des différents agents testés.

III.6.4. Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des agents antimicrobiens standards

La sensibilité des souches testées aux antibiotiques et aux antifongiques a été évaluée par la méthode de Vincent (NCCLS, 1997). pour les bactéries, 100 µL de suspension bactérienne ajustée à une densité approximative de 10^8 UFC/mL (Brahmi et al., 2014) a été ensemencé sur un milieu de culture gélosé Mueller Hinton. Des disques d'antibiotiques ont ensuite été déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface (Tableau n°3).

Pour les levures, un volume de 100 µL de suspension fongique ajustée à une densité approximative de 10^6 UFC/mL (Pozzatti et al., 2010) a été ensemencé sur milieu Sabouraud, des disques imprégnés d'une solution d'antifongique ont ensuite été déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface.

En parallèle, des témoins ont été utilisés pour le contrôle de la croissance des souches testées. Les boîtes de Pétri ont été fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 30 minutes, ensuite portées à incubation à 37°C pendant 24H pour les bactéries et à 25°C pendant 48H pour les levures. L'expérience a été répétée 3 fois pour chaque souche microbienne. Les résultats ont été évalués par la mesure de la zone d'inhibition formant une auréole autour de chaque disque où aucune croissance n'est observée.

III.6.5. Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta*

III.6.5.1. La méthode de Vincent (technique de l'aromatogramme)

L'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* a été réalisée par la méthode de Vincent, qui repose sur le même principe de l'antibiogramme (NCCLS, 1997). On a déposé 30 µL de l'extrait hydro-éthanolique dans chaque disque stérile de papier Wattman de 6 mm de diamètre. Les disques ont été déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface d'un milieu gélosé ensemencé avec 100 µL de la suspension microbienne

dont la turbidité a été ajustée à 0.5 McFarland. Les boîtes de Pétri ont été fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 30 minutes avant d'être incubées à 37°C pendant 24H pour les bactéries et à 25°C pendant 48H pour les levures.

En parallèle, des témoins ont été utilisés pour le contrôle de la croissance des souches testées.

Les essais ont été effectués en triple.

L'activité antimicrobienne de l'extrait est évaluée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition formée autour du disque.

Tableau n°3 : Liste des antibiotiques utilisés.

Antibiotique	Sigle	Charge du disque
Acide nalidixique	NA	30 µg
Ampicilline	AM	10 µg
Céfazoline	KZ ₃₀	30 µg
Chloramphénicol	C	30 µg
Colistine	CS	10 µg
Gentamicine	GM	30 µg
Néomycine	N	30 µg
Polymyxine	PB	50 µg
Pristinamycine	PT ₁₅	15 µg
Rifampine	RA ₅	30 µg
Rifampicine	RA	5 µg
Spiramicine	SP	100 µg

III.6.5.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) a été faite par la méthode de dilution en milieu liquide (microplaque). C'est la plus faible concentration de l'agent antimicrobien sans croissance microbienne visible (pas de turbidité) (**Zhang et al., 2016**).

Pour l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* tous les tests ont été effectués dans le milieu Mueller Hinton en bouillon.

L'extrait de concentration de 100mg/mL étudié a été dissous dans 1mL de diméthylsulfoxyde (DMSO) à 10 %, puis dilués à la concentration la plus élevée.

Des dilutions en série ont été préparées dans une microplaque de microtitration de 96 puits

Figure n°1 (Annexe n°4) dans la gamme de concentrations choisie, on met 200 µL de la solution mère dans le 1^{er} puits et 100 µL de Muller Hinton dans le 2^{ème} puits jusqu'au le

10^{ème} et 100 µL de la solution mère ont été disposés dans le 2^{ème} puits. Après homogénéisation par aspiration-refoulement à l'aide d'une micropipette on obtient 200 d'une solution d'extrait à 50mg/ml. 100 µL de cette nouvelle solution a été prélevés et mélangé au milieu Muller Hinton contenu dans le 3^{ème} puits et ainsi de suite jusqu'au 10^{ème} puits dont on jette les 100 µL. 90 µL de MH ont été déposés dans chaque puits. Enfin 10 µL de la suspension microbienne (10⁶ CFU/mL de suspension bactérienne et de 10⁷ CFU/mL de *C. albicans*) ont été ajoutés dans les puits de 1 à 10. Les 11^{ème} et 12^{ème} puits ont été respectivement le contrôle positif et le contrôle négative (DMSO+ Muller Hinton).

Après 18h d'incubation pour les bactéries et 48h pour les levures, la CMI a été déterminée à partir du premier puits où aucune croissance n'est visible. La lecture est effectuée après l'ajout de 40µL de TTC préparé extemporanément dans de l'eau physiologique stérile (0.9% Na Cl). Les microplaques ont été réincubées pendant 10 à 30 min, la viabilité des cellules dans chaque puits a été détectée par l'apparition d'une coloration rose (**Balouiri et al., 2016; Chebaibi et al., 2011**). Les essais ont été effectués en triple.

III.6.5.3 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB - CMF)

Pour déterminer la concentration minimale bactéricide et fongicide, une sous-culture de chaque puits où aucune croissance microbienne n'a été observée estensemencée sur milieu gélosé MH pour les bactéries puis incubée à 37°C pendant 24H, et Sabouraud pour la levure *C. albicans* ensuite incubée à 37°C pendant 48H, en commençant par le puits correspondant à la CMI (**Silva et al., 2010**). La CMB et la CMF correspond à la plus faible concentration d'extraits dont le repiquage ne montre aucune croissance de germe (**Zhang et al., 2016**). Chaque essai a été répété trois fois.

En se Référant au rapport CMB/CMI ou CMF/CMI, l'effet antimicrobien peut être jugé comme suit (**Sbayou et al., 2014**) :

Rapport CMB/CMI ou CMF/CMI <4 : effet bactéricide

Rapport CMB/CMI ou CMF/CMI >4 : effet bactériostatique.

Résultats et discussion

IV. Résultats et discussion

IV.1. Rendement en extrait bruts

Le rendement moyen en extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Calamintha nepeta* par macération a été déterminé par rapport au poids total de la matière végétale sèche, et est exprimé en pourcentage. Le résultat obtenu est exprimé dans le **tableau n°4**.

Tableau n°4 : Le rendement en extraits hydro-éthanolique obtenus des feuilles de *Calamintha nepeta*.

Extrait	Solvant utilisé	Rendement (%)
Extrait brut	Hydro-éthanolique	12,33

Les résultats obtenus (**Tableau n°4**) montrent que les feuilles de *Calamintha nepeta* ont donné un rendement de 12,33% en extrait bruts hydro-éthanolique.

De nombreux travaux effectués sur *Calamintha nepeta* provenant de différentes régions en Algérie montrent des rendements variables et élevés comparés à nôtres rendements.

Une étude faite sur les feuilles de *C. nepeta* récolter dans la région de Taza (Ziama mansouriah, wilaya de Jijel) à donner un rendement de 20,2% (**Benkhdimallah, 2014**), ce résultat est supérieur au rendement qu'on a obtenu. **Bougandour** a fait une autre analyse en 2011, sur *C. nepeta* récoltée dans la région de Chendgoura de l'ouest Algérie, a obtenu un rendement de 8.58% inférieur à notre résultat.

En dehors de l'Algérie, une étude est faite sur *C. nepeta* récoltée dans le Midi-Pyrénées (France) a montré un rendement de 7% d'extrait brut hydro-éthanolique. (**El-kalamouni, 2010**), un résultat qui reste plus faible comparé au nôtre.

Cette variabilité des rendements est peut être du aux variations géographiques et climatiques.

IV.2. Screening phytochimique

La détermination de la composition phytochimique des feuilles de *Calamintha nepeta*, par les réactions de coloration et de précipitation, nous ont permis de constater la présence de différents groupes chimiques. Les résultats son exprimés dans le **tableau n°5**.

Le **tableau n°5 et la figure n°1(Annexe n°3)** présente le résultat du screening phytochimique des feuilles de *Calamintha nepeta*. Ces résultats montrent la présence des phénols, des flavonoïdes, des tanins, des coumarines, des saponines, des alcaloïdes, des protéines et des terpénoïdes et l'absence totale des carbohydrates, des quinones et des anthraquinones.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Hayani et al. (2020)** et **Bouzidi et Kemieg (2021)**. En effet, ces derniers ont indiqué la présence des flavonoïdes, des tanins, des saponines, des alcaloïdes et des terpénoïdes dans les feuilles de *Calamintha nepeta* tandis que

Conforti et al. (2012) ont montré la présence que des phénols et des stérols. D'autre part les carbohydrates et les quinones et les anthraquinones ont montré l'absence totale dans les feuilles de notre espèce, et ce résultat est en accord avec ceux de **Çelik et al. (2020)**.

Tableau n°5 : résultats du screening phytochimique des feuilles de *Calamintha nepeta*.

<i>Composés phytochimiques recherchés</i>	<i>Calamintha nepeta</i>
Phénols	+
Flavonoïdes	+
Tanins	+
Coumarines	+
Saponines	+
Alcaloïdes : Test de Mayer	+
Carbohydrates : Test de Fehling	-
Dépistage des protéines : Test de Biuret	+
Quinones	-
Détection de Terpinoides	+
Détection d'anthraquinones	-

(+) : Présents; (-) : absents.

Une autre étude faite par **El karkouri et al. (2020)** confirme la présence des flavonoïdes, des stérols et triterpènes mais aussi des l'absence des tanins catéchiques dans la partie aérienne de la plante, en revanche, elle apporte l'absence totale des tanins galliques qui se révèlent très abondants dans notre étude.

IV.3. Dosage des composés phénoliques

IV.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode au réactif du Folin-Ciocalteu, l'acide gallique pris comme contrôle positif nous a permis de réaliser une courbe d'étalonnage (**Figure n°5**), ce qui nous a permis de calculer la teneur en polyphénols pour l'extrait de *Calamintha nepeta* qui est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche.

La teneur des polyphénols obtenu est de 138,66mg/mL. Notre résultat est supérieur à celle obtenu par **Bougandoura & Bendimerad, (2013)** dans la région de Tlemcen (112,45 mg/mL). Par contre la teneur trouvé par **Abderrezak & AIB (2018)** est de 168,22 mg/mL dans la région de Hodna, nettement supérieur à notre résultat. Cette variation est peut être du à la variation de la région de collecte et la nature de sol.

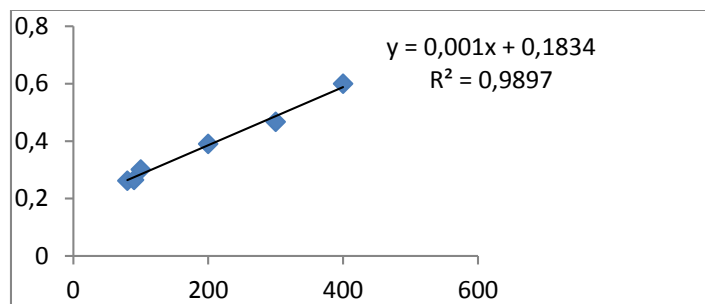


Figure n°5 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

IV.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est déterminé par la méthode au chlorure d'aluminium, la quercétine prise comme contrôle positif nous a permis de tracer une courbe d'étalonnage (**Figure n°6**), ce qui nous a permis de calculer la teneur en flavonoïdes dans l'extrait de *Calamintha nepeta*, qui est exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme de matière végétale sèche (mg EQ/g).

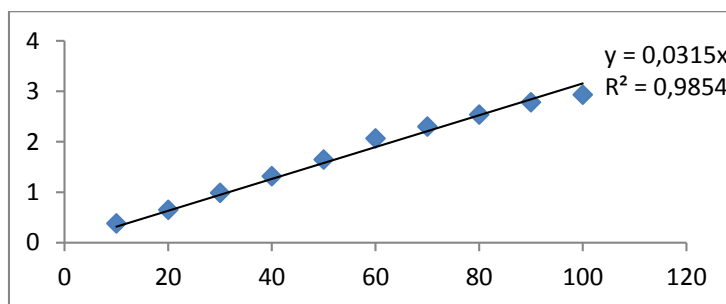


Figure n°6 : courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes

La teneur des flavonoïdes était de 34,03mg/mL. Notre valeur est supérieure à celle obtenue par **Bougandoura et Bendimerad, (2013)** dans la région de Tlemcen et à celle obtenue par **Abderrezak & AIB (2018)** dans la région de Hodna (M'Sila), 24,22 mg/mL et 13,14 mg/mL respectivement. Là aussi la variation dans les teneurs est probablement due à la nature des sols de collecte et du climat.

IV.3.3. Dosage des tanins

Le dosage des tanins est évalué par la méthode à la vanilline, la catéchine prise comme contrôle positif nous a permis de tracer une courbe d'étalonnage (**Figure n°7**), ce qui nous a permis de calculer la teneur en tanins dans l'extrait de *Calamintha nepeta*, qui est exprimée en milligramme équivalent de catéchine par gramme de matière végétale sèche (mg EC/g).

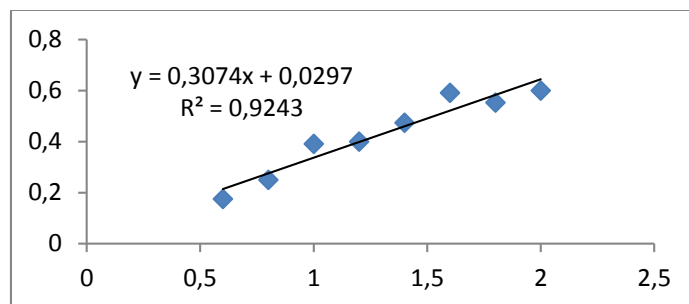


Figure n°7 : courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins

La valeur des tanins est de 0,017 mg/mL.

IV.4. Etude de l'activité antimicrobienne

IV.4.1. Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des agents antimicrobiens standards

La sensibilité des souches microbiennes testées vis-à-vis des agents antimicrobiens standards a été évaluée par antibiogramme. Les résultats obtenus sont exprimés dans le **tableau n°6** et **la figure n°1 (annexe n°5)**. En se basant sur les résultats présentés dans le **tableau n°6**, nous constatons que les souches microbiennes testées ont présenté différents degrés de sensibilité à la plupart des agents antimicrobiens employés. Les diamètres des zones d'inhibition enregistrés varient entre 7 et 30 mm. Les antibiotiques qui ont donné les plus grandes zones d'inhibition sont les suivants : pristina mycine (PT₁₅) contre *Escherichia coli* ATCC 25922 (30mm) et *Bacillus cereus* ATCC 10876 (222mm), chloramphénicol (C) contre *Escherichia coli* ATCC 25922 (28mm), *Proteus vulgaris* ATCC 6380 (25mm), *Bacillus cereus* ATCC 10876 (19mm) et *Proteus mirabilis* ATCC 35659 (18mm), Acide nalidixique (NA) contre *Escherichia coli* ATCC 25922 (21mm), *Proteus vulgaris* ATCC 6380 (21mm) et *Bacillus cereus* ATCC 10876 (18mm), spiramicine (SP) contre *Bacillus cereus* ATCC 10876 (20mm), gentaycine (GM) contre *Bacillus cereus* ATCC 10876 (20mm) et néomycine (N) contre *Bacillus cereus* ATCC 10876 (18mm). Les antibiotiques qui se sont montrés inactifs contre plus de deux bactéries sont : ampicilline vis-à-vis *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Proteus vulgaris* ATCC 6380, céfazoline vis-à-vis *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Escherichia coli* ATCC 25922 ; *Proteus mirabilis* ATCC 35659 et *Proteus vulgaris* ATCC 6380, pristina mycine vis-à-vis *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Proteus vulgaris* ATCC 6380 et rifampine (RA₅) contre *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus mirabilis* ATCC 35659 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tableau n° 6 : Résultats de l'activité antimicrobienne des antibiotiques et des antifongiques exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.

Souche	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>C. albicans</i>
ATB	ATCC	ATCC	ATCC	ATCC	ATCC	ATCC	ATCC
	10876	25922	35659	25923	27853	6380	10231
NA	18	21	16	-	-	21	-
AM	-	-	12	8	7	-	-
KZ ₃₀	-	-	-	7	7	-	-
C	19	28	18	-	10	25	-
CS	9	16	12	12	15	14	-
GM	20	12	-	8	14	15	-
N	18	-	13	14	14	-	-
PB	-	10	10	10	-	12	-
PT ₁₅	22	30	11	-	-	-	-
RA ₅	-	-	-	-	6	7	-
RA	12	14	15	9	-	-	-
SP	20	-	-	7	7	-	-
Deptil BFC	-	-	-	-	-	-	38
Sorbate de Potassium E202	-	-	-	-	-	-	-

Concernant les antifongiques contre *Candida albicans* ATCC 10231, Deptil BFC s'est avéré être le plus actif avec un diamètre d'inhibition de 38mm. Aucune croissance contre l'antifongique : Sorbate de Potassium E202.

IV.4.2. Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta*

Les espèces de *Calamintha* sont fréquemment utilisées en médecine traditionnelle en Algérie comme stimulant, tonique, antiseptique, mais aussi pour traiter les troubles digestifs et les infections intestinales qui provoquent des diarrhées ainsi que des pneumonies (Aribi et al., 2022). L'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* a été évaluée par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé, et les résultats sont présentés dans le **tableau n°7 et figure n°2 (Annexe n°5)**. En raison de l'augmentation des agents pathogènes résistants aux antibiotiques, les extraits de plantes sont estimés comme les

meilleures sources pour inhiber la croissance d'un large éventail de nombreux micro-organismes résistants (Al Zoubi et al., 2016).

En se basant sur les résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* (Tableau n°7), nous constatons que ce dernier a exercé un pouvoir antimicrobien contre les souches microbiennes testées, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 8 et 29 mm. Les souches les plus sensibles sont *C. albicans* ATCC 10231, *P. mirabilis* ATCC 35659 et *Proteus vulgaris* ATCC 6380 avec des diamètres de zones d'inhibition de 29, 19 et 17 mm respectivement. La souche la moins sensible est *E. coli* ATCC 25922 avec un diamètre de zone d'inhibition de 8 mm.

Plusieurs études se sont concentrées sur l'activité inhibitrice de l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta*, montrant leur efficacité contre divers micro-organismes (Aribi et al., 2022 ; Çelik et al., 2020). Bouzidi and Kemiég. (2021) confirment que l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* possède un effet antimicrobien contre un large éventail de microorganismes, les diamètres des zones d'inhibition obtenus sur *S. aureus* ATCC 29273, *P. aeruginosa* ATCC 27853 et *C. albicans* ATCC 10231 et sont respectivement 17, 9 et 25 mm. Ces résultats sont contradictoires avec la souche de *P. aeruginosa* ATCC 27853 testée. Elle a montrée une résistance envers l'effet de l'extrait hydro-éthanolique (0mm). *E. coli* ATCC 25922 a montré une faible sensibilité (7.82 mm). Par contre, une autre étude faite par Oyardi et al. (2023) a montré que L'extrait hydro-éthanolique de *C. nepeta* à une bonne activité avec une zone d'inhibition de 19 mm contre la même souche d'*E. coli* ATCC 25922.

Tableau n°7 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.

Souche	Extrait hydro-éthanolique
<i>B. cereus</i> ATCC 10876	13.85 ± 0.21
<i>E. coli</i> ATCC 25922	7.82 ± 0.34
<i>P. mirabilis</i> ATCC 35659	18.84 ± 0.37
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	10.01 ± 0.50
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	–
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6380	16.92 ± 0.64
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	28.94 ± 1.44

Toutes les valeurs (zone d'inhibition incluant le diamètre du disque de 6 mm) sont exprimées en moyenne de trois essais ± écart type; ATCC: American Type Culture Collection.

IV.5. Détermination des concentrations minimales inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB) et fongicide (CMF)

Les résultats de la détermination des paramètres antimicrobiens (CMI, CMB et CMF) de l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* sont exprimés dans le tableau n°8.

Tableau n°8: Valeurs des paramètres antimicrobiens de l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta*

Souche	CMI	CMB-CMF	CMB/CMI CMF/CMI	Activité
<i>B.cereus</i> ATCC 10876	3.125	25	8	Bactériostatique
<i>E. coli</i> ATCC 25922	1.562	3.125	2	Bactéricide
<i>P. mirabilis</i> ATCC 35659	0.781	6.25	8	Bactériostatique
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	1.567	12.5	8	Bactériostatique
<i>P.vulgaris</i> ATCC 6380	3.125	50	16	Bactériostatique
<i>C. albicans</i> ATCC10231	0.781	3.5	4	Fongicide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; CMF : Concentration Minimale.

En se basant sur les résultats des paramètres antimicrobiens de l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* (**tableau n°8**), nous remarquons que cette dernière a exercé une activité contre les souches microbiennes testées, les valeurs obtenues sont d'une gamme allant de 0.781 à 3.125 µl/mL pour la CMI et de 3.125 à 50 µl/mL pour la CMB et la CMF.

La susceptibilité a été particulièrement importante chez *E. coli* ATCC 25922, la CMI et la CMB ont été toutes deux enregistrées à la plus faible valeur qui est de l'ordre de 1.562 et 3.125 µl/mL respectivement. Par contre la sensibilité est moins importante chez *B.cereus* ATCC 10876 et *P. vulgaris* ATCC 6380, la CMI et la CMB sont à des valeurs plus élevées, 3.125 et 50 µl/mL et 0.39 et 25 µl/mL respectivement. Ces résultats sont contradictoires avec ceux d'**Aribi et al. (2022)** et **Çelik et al. (2020)** où *B.cereus* et *P. vulgaris* étaient plus sensibles. Les résultats de **Bouzidi and Kemieg (2021)** sont en accord avec les nôtres en ce qui concerne la sensibilité d'*E. coli* par rapport aux autres bactéries testées. Effectivement, *E. coli* a été plus sensible que *B.cereus* ATCC 10876, *P. mirabilis* ATCC 35659, *S. aureus* ATCC 25923, *P. vulgaris* ATCC 6380 et *P. vulgaris* ATCC 6380 à l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta*. Concernant *C. albicans* ATCC 10231, nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Marongiu et al. (2010)**.

Selon **Marmonier (1990)**, si le rapport d'activité CMB/CMI ou CMF/CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égal à 4, cette dernière est qualifiée de substance bactéricide

ou fongicide et si le rapport est supérieur à 4, elle est alors dite bactériostatique ou fongistatique.

Les résultats des paramètres antimicrobiens de l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* (**tableau n°8**), confirment le faible effet de ce dernier sur les souches microbiennes testées. En effet, l'extrait hydro-éthanolique a montré une activité bactériostatique sur la majorité de souches microbiennes testées.

Les carbohydrates favorisent la croissance des microbes. Ce qui argumente l'effet bactéricide de l'extrait hydro-éthanolique, dépourvu de carbohydrates, des feuilles de *Calamintha nepeta* sur la croissance d'*Escherichia coli* et *Candida albicans*.

L'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* a montré une meilleure activité contre les souches Gram-négatives que les souches Gram-positives. Ce résultat est important puisque les bactéries gram-négatives sont plus résistantes aux agents antimicrobiens que les bactéries gram-négative. Les bactéries Gram-négative sont équipées d'une membrane extérieure. La régulation de l'expression des porines et les mécanismes qui organisent la diffusion des solutés peuvent être des paramètres-clés de la résistance bactérienne aux antibiotiques (**Pagès, 2004**).

Conclusion

V. Conclusion

Le rendement des feuilles de *Calamintha nepeta* en extrait bruts hydro-éthanolique est de 12,33%. Le screening phytochimique des feuilles de *Calamintha nepeta* montrent la présence des phénols, des flavonoïdes, des tanins, des coumarines, des saponines, des alcaloïdes, des protéines et des terpénoïdes et l'absence totale des carbohydrates, des quinones et des anthraquinones. La teneur des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins est de 138,66mg/mL, 34,03mg/mL et de 0,017 mg/mL respectivement. La sensibilité des souches microbiennes testées vis-à-vis des agents antimicrobiens standards varient entre 7 et 30 mm. Les antibiotiques qui ont donné les plus grandes zones d'inhibition sont : pristinamycine (PT₁₅), chloramphicol (C), Acide nalidixique (NA), spiramicine (SP), gentaycine (GM) et néomycine (N). L'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* a exercé un pouvoir antimicrobien contre les souches microbiennes testées, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 8 et 29 mm. Les souches les plus sensibles sont *C. albicans* ATCC 10231, *P. mirabilis* ATCC 35659 et *Proteus vulgaris* ATCC 6380 avec des diamètres de zones d'inhibition de 29, 19 et 17 mm respectivement. La souche la moins sensible est *E. coli* ATCC 25922 avec un diamètre de zone d'inhibition de 8 mm. L'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* a exercé une activité contre les souches microbiennes testées, les valeurs obtenues sont d'une gamme allant de 0.781 à 3.125 µl/mL pour la CMI et de 3.125 à 50 µl/mL pour la CMB et la CMF. La susceptibilité a été particulièrement importante chez *E. coli* ATCC 25922, la CMI et la CMB ont été toutes deux enregistrées à la plus faible valeur qui est de l'ordre de 1.562 et 3.125µl/mL respectivement. Par contre la sensibilité est moins importante chez *B.cereus* ATCC 10876 et *P. vulgaris* ATCC 6380, la CMI et la CMB sont à des valeurs plus élevées, 3.125 et 50 µl/mL et 0.39 et 25 µl/mL respectivement. Les résultats des paramètres antimicrobiens de l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta*, confirment le faible effet de ce dernier sur les souches microbiennes testées. En effet, l'extrait hydro-éthanolique a montré une activité bactériostatique sur la majorité de souches microbiennes testées. L'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* a montré une meilleure activité contre les souches Gram-négatives que les souches Gram-positives. Ce résultat est important puisque les bactéries gram-négatives qui sont plus résistantes aux agents antimicrobiens que les bactéries gram-positives.

Références bibliographiques

VI. Références bibliographiques

- Abbas, M., Saeed, F., Anjum, F. M., Afzaal, M., Tufail, T., Bashir, M. S., Ishtiaq, A., Hussain, S., et Suleria, H. A. R. (2017). Natural polyphenols: An overview. *International Journal of Food Properties*, 20(8), 1689–1699.
- Abderrazak, M., et Joël, R. (2007). *La botanique de A à Z*. Ed. Dunod. Paris. p 177.
- Abderrezak Rima & AIB Salima, (2018), *Analyse phytochimique et activités biologiques des extraits aqueux de Satureja calamintha des monts de Maadid (région de Hodna)*, mémoire de Master, Université de M'SILA, Pp : 70
- AFNOR (Association Française de Normalisation). (1986), *Recueil des normes françaises "huiles essentielles"*. AFNOR, Paris, 57p.
- Alan, S., Kürkçüoğlu, M., Hüsni, K., Baser, K. (2011). Composition of essential oils of *Calamintha nepeta* (L.) Savi subsp. *nepeta* and *Calamintha nepeta* (L.) Savi subsp. *glandulosa* (Req). 23, 2357–2360
- Alekshun , M. N., Levy, S. B. (2007). Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 128, 1037-1050.
- Albrecht, A. (2015). *Les infections nosocomiales d'origine bactérienne, ce que doit savoir le pharmacien d'officine [thèse]*. Université de Lorraine, faculté de Pharmacie.
- Ali-rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., & Sabrina, M. (2018). Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. Manuscrit. *Bulletin de La Société Royale Des Sciences de Liège*, 87(2), 13–21.
- Al Zoubi w, Al-Hamdani A.S, Kaseem M. (2016). *Synthesis and antioxidant activities of Schiff bases and their complexes: a review*, *Appl. Organometal. Chem.* Copyright © 2016 John Wiley & Sons, Ltd.
- Aguilar-Veloz, L. M., Calderón-Santoyo, M., González, Y. V., et Ragazzo-Sánchez, J. A. (2020). Application of essential oils and polyphenols as natural antimicrobial agents in postharvest treatments: Advances and challenges. *Food Science et Nutrition*, 8(6), 2555–2568.
- Angoue, T. A. A. (2020). *Prévalence des Infections nosocomiales dans 10 services du CHU du Point G*. Thèse de Doctorat. Université de Bamako.Mali.147p.
- Aribi, I., Chemat, S., Puyvelde, L. V., and Luyten, W. (2022). Bioassay-guided fractionation of *Calamintha baborensis* Batt. herbal extracts reveals disaccharide glucuronide as a potent antistaphylococcal compound. *South African Journal of*

Botany ; Volume 147, July 2022, Pages 35-41.

- Arif, T., Bhosale, J. D., Kumar, N., Mandal, T. K., Bendre, R. S., Lavekar, S., Dabur, R. (2009). Natural products antifungal agents derived from plants. *J Asian Nat Prod Res* ; 11(7), 626 – 638.
- Baghdadi, I., Bengriche, L., Immessaoudene, F., Djebbar, D., Mougari, I., Bensalem, A., & Djenouhatk, K. (2020). Rôle du CLIN lors d'une infection nosocomiale dans un hôpital d'Alger Est. In *Annales de Biologie Clinique*. 78(1), 74-78.
- Balouiri, M., Sadiki, M., et Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.
- Bendif, H. (2017). Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. etamp; Reut.) Greuter etamp; *Burdet et Rosmarinus eriocalyx* Jord etamp; Fourr. Thèse de Doctorat. Ecole normale supérieure de kouba-alger. Alger, 199p.
- Benhammou, N. (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien.
- Benkhdemallah, R. (2014). Etude phytochimique et biologique de la plante *Saturja calamintha*. Mémoire de master. Université Constantine 1, pp : 67.
- Bessas, A., Benmoussa, L., et Kerarma, M. (2008) Dosage biochimique des polyphénols dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire d'ingénieur en biologie. Université Djillali Liabes. Sidi belabbas. P : 137.
- Besset, T. (2009). Synthèse d'un podocarpane fonctionnalisé et préparation d'hétéroquinones pour l'inhibition de phosphatases et de réductases. Thèse de doctorat, Chimie organique, Université Joseph Fourier - Grenoble 1 (France), P : 248.
- Boizot, N., et Charpontier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'Inra*. p 79-82.
- Bougandour, N. (2011). Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *saturja calamintha nepeta* et *adjura*. Thèse de master. Université Constantine. 72p.
- Bougandoura et Bendimerad, 2013, Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L.) Briq. *Revue « Nature & Technologie »*. B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 09, Pages 14 à 19

- Bouhaddouda, N. (2016). Activités antioxydants et antimicrobienne de deux plantes du sol local : Origanum vulgare et Mentha pulegium. Thèse de doctorat, univ. Annaba (Algérie), p.24.
- Bouarab Chibane, L., Degraeve, P., Ferhout, H., Bouajila, J., et Oulahal, N. (2019). Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives: Plant polyphenols for food preservation. Journal of the Science of Food and Agriculture, 99(4), 1457–1474.
- Bouzabata, A. (2017). Les médicaments à base de plantes en Algérie : réglementation et enregistrement Phytothérapie, 15 6 (2017) 401-408 DOI : 10.1007/s10298-016-1089.
- Bouzidi, N., and Kemieg, M. (2021). Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oil of *Satureja calamintha* ssp. *nepeta* (L.) Briq. from the Northwest of Algeria. Agric. conspec. sci. Vol. 86. No. 4 (349-356).
- Botineau, M. (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs .Ed TEC&DOC. Lavoisier, Paris. ISBN: 978-2-7011-4996-7.
- Božovic, M., Ragno, R. (2017). Calamintha nepeta (L.) Savi and its Main Essential Oil Constituent Pulegone: Biological Activities and Chemistr. Molecules. 22, 290.
- Brahmi, F., & Kebbouche-Gana, S. (2014). Antibacterial activity and chemical composition of Ammi visnaga L. essential oil collected from Boumerdes (Algeria) during three periods of the plant growth. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 17(6), 1317-1328.
- Bruneton, J. (2009), Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 1120p.
- Bureau, L. (2018). Actualité en phytothérapie. Phytothérapie, 16, 3, 163-191.
- Campoy, S., et Adrio, J. L. (2017). Antifungals. Biochemical Pharmacology, 133, 86–96.
- Carron, C., Vouillamoz, J., Wolfram, E. (2018). Clinopodium nepeta et Clinopodium menthifolium: potentiel agronomique et phytochimique de deux espèces de calaments. Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture | Vol. 50 (4): 212–222.
- Chabni, N., Metri, A., Moussouni, A., Fatmi, A., Azzaoui, H., Otmani, S., Smahi, S., et Meguenni, K. (2019). Place de l’infection nosocomiale dans la morbi-mortalité néonatale hôpital mère enfant Tlemcen Algérie. Libanese Science Journal, 20(3), 503–523.

- Chebaibi, A., Rhazi Filali, F., Amine, A., et Zerhouni, M. (2011). Effet bactéricide (in vitro) des extraits aqueux des feuilles du grenadier marocain (*Punica granatum L.*) sur des bactéries multirésistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 9(3), 158–164.
- Chen, S. L., et al. (2016). Conservation and sustainable use of medicinal plants: problems, progress, and prospects. *Chin Med* 11:37. DOI 10.1186/s13020-016-0108-7.
- Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., and Teissède, P. L. (2008). Les polyphénols du raisin, *Phytothérapie*, vol. 6, pp. 75-82.
- Conforti, F., Marrelli, M., Statti, G., Menichini, F., Uzunov, D., Solimene, U., & Menichini F.(2012) Comparative chemical composition and antioxidant activity of *Calamintha nepeta (L.) Savi subsp. glandulosa (Req.) Nyman* and *Calamintha grandiflora (L.) Moench (Labiatae)*, *Natural Product Research*, 26:1, 91-97.
- Consejo, A. (2003). Taxonomico, Documento de asignación de validación a taxones.p.3.
- Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev*, 12(4), 564-582.
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343–356.
- Custovic, A., Smajlovic, J., & Dzafic, F. (2021). Epidemiological surveillance of endogenous and exogenous nosocomial infections . *Annals of Medical Research*, 27(4), 1172–1178.
- Çelik, G., Kılıç, G., Kanbolat, S., Şener, S. O., Karaköse, M., Yaylı, N., Karaoğlu, S. A. (2020). Biological activity, and volatile and phenolic compounds from five Lamiaceae species. *Flavour Fragr J.* 00:1–10.
- Daels-rakotoarison, D. (1999). Extraits polyphénoliques d’aubepine, de cola et D’eglantier. Thèse de doctorat. Université de Lille II. France. 172 (64).
- Damus, O., et Vonarx, N. (2019). *Anthropologie de la médecine Créole Haitienne*, Academia, ISBN : 978-2-8061-0440-3.
- Debnath, B., Singh, W. S., Das, M., Goswami, S., Singh, M. K., Maiti, D., et Manna, K. (2018). Role of plant alkaloids on human health: A review of biological activities. *Materials Today Chemistry*, 9, 56–72.
- Dar, R. A., Shahnawaz, M., & Qazi, P. H. (2017). General overview of medicinal plants: A review. *The journal of phytopharmacology*, 6(6), 349-351.

- Davies, J. E. (1997). Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. *Ciba Found Symp*, 207, 15-27.
- Demirci, B., Temel, H.E., Portakal, T.; Kırmızıbekmez, H.; Demirci, F.; Başer, K.H.C. (2011). Inhibitory effect of *Calamintha nepeta* subsp. *glandulosa* essential oil on lipoxygenase. *Turk. J. Biochem.* , 36, 290–295.
- Degryse, A.C., Delpla, I., and Voinier , M.A. (2008). Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement-IGS-EHESP*, 87p.
- Dewanto, V., Wu, X., Kafui, A., & Rui hai, I. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of physics d: applied physics*, 50(4), 3011–3013. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/31/22/002>
- Dieye, P. I., et Sarr, S. O. (2021). Lutte contre la COVID-19 : la phytothérapie africaine au secours de la médecine moderne en panne. *Afrique SCIENCE* 18(3), 13 – 21.
- Delamare, G. (1999). *Dictionnaire des termes de médecine*. 25ème édition, Maloine, Paris.
- Demoré, B., Grare, M., Duval, R.E. (2012). Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. In : *Pharmacie clinique et thérapeutique* (coordonné par Calop, J., Limat, S., Fernandez, C., et Aulagner, G), pp 801-844. 4ème édition, Elsevier Masson, Paris.
- Djahra, A. B., Bordjiba, O., & Benkherara, S. (2013). Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.). *Phytothérapie*, 11(6), 348-352.
- Eggenberg, S., et Mohl, A. (2008). *Flora Vegetativa*. Edition Rossolis. 680 p.
- El-kalamouni, C. (2010). *Caractérisation chimiques et biologiques des extraits de plants aromatiques onlien de midi-pyrénées*. Thèse de doctorat. Universités de Toulouse. 263p
- El Karkouri J, Drioiche A, Soro A, Ailli A, Benhlima N, Bouzoubaa A, El Makhoukhi F, Oulhaj H, Kouoh Elombo F and Zair T. (2020). Identification and antioxidant activity of *Ammi visnaga* L. polyphenols from the Middle Atlas in Morocco, *Mediterranean Journal of Chemistry*, 10(7), 649-658
- Fadili, K., Zerkani, H., et Amalich, S. (2017). phytochemical study and evaluation of antioxidant activity of leaves and fruits of *Capparis spinosa* L. *American Journal of*

Innovative Research and Applied Sciences, 5 (2), 108-118.

- Fahed, L. (2016). Diversité chimique et potentiel antimicrobien d'huiles essentielles de plantes libanaises. Ecole Doctorale Sciences de la Nature et de l'Homme, Lebanon, 174p.
- Fettah, A. (2019). "Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce *Thymoïdes* de la région Beni Souik, Biskra," Université mohamed khider biskra.
- Firdouse, S., & Alam, P. (2011). Phytochemical investigation of extract of *Amorphophallus campanulatus* tubers Seema. *International Journal of Phytomedicine*, 3, 32-35. <https://doi.org/10.1080/00102208108547506>
- Gerlach, J. H., Kartner, N., Bell, D. R., Ling, V. (1986). Multidrug resistance. *Cancer Surveys*. ;5(1), 25-46.
- Gianluigi, B., & Salvatore, B. (2005). *Calamintha sandaliotica* (Lamiaceae) a new species from Sardinia *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 62(2): 135-141.
- Gagnaire, J., Verhoeven, P., Denis, C., Grattard, F., Carricajo, A., Pozzetto, B., Berthelo, P. (2015) prise en charge des bactéries multirésistantes aux antibiotiques dans les établissements de santé. *feuillet de biologie/n° 322* .
- Guardabassi, L., Courvalin, P. (2006). Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In : Aarestrup F.M. (Ed.), *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*. ASM Press : Washington, 1-18.
- Gutiérrez-del-Río, I., Fernández, J., et Lombó, F. (2018). Plant nutraceuticals as antimicrobial agents in food preservation: Terpenoids, polyphenols and thiols. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 52(3), 309–315.
- Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of applied microbiology*, 86(6), 985-990.
- Hayani, M., Benhlima, N., Bouzoubaa, A., Ailli, A., Gourich, A.A., Mouradi, A., Oulhaj, H., and Zair, T. (2020). Phytochemical study, polyphenols determination and evaluation of antioxidant activity of *Origanum compactum* and *Satureja calamintha nepeta* from the region of Ouazzane (Morocco); *Mediterranean Journal of Chemistry*, 10(4), 396-405.
- Hoffman, L. (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes. Thèse de doctorat.

Strasbourg, 245p.

- Hutchings, M., Truman, A., and Wilkinson B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology*, 51, 72–80. doi:10.1016/j.mib.2019.10.008 10.1016/j.m.
- Hocquet-Berg, S., Py, B. (2006). *La responsabilité du médecin*. Heures de France, Paris, 179p.
- Hygis, N. (1998). *Hygiène hospitalière*. Presses Universitaires de Lyon, France, 666p.
- Kholkhal, F. (2014). *Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de Thymus ciliatus ssp coloratus et ssp eucliliatus* (doctoral dissertation, université abou bekr belkaid, Tlemcen) Algeria.
- Lugasi, A. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases, *Acta biologica szegediensis*, vol. 47, pp. 119-125.
- Lebham. 2005. Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM).
- Université de Bretagne Occidentale (UBO).
- Mahmoudi, S., Khali, M., et Mahmoudi, N. (2012). Étude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Revue Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques* 2013, 9 : 36.
- Magiorakos, A., Srinivasan, A., Carey, R., Carmeli, Y., Falagas, M., Giske, C., Harbarth, S., Hindler, J., Kahlmeter, G., Olsson-liljequist, B., Paterson, D., Rice, L., Stelling, J., Struelens, M., Vatopoulos, A., Weber, J., Monnet, D. (2012). Multidrug-resistant, extensively drugresistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *clin microbiol infect.* 18 : 268-81..
- Marmonier, A. A. (1990). *Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques*. Bactériologie Médicale, techniques usuelles. DOIN édition, Paris, France, 227-236.
- Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S., Falconieri, D., Maxia, A., Goncalves, M. J., Cavaleiro, C., Salgueiro, L. (2010). Chemical composition and biological assays of essential oils of *Calamintha nepeta* (L.) savi subsp. *Nepeta* (Lamiaceae) nat prod res. *Nov*, 24(18):1734-42.
- Nadim, G., Chakhtoura, E., Saade, E., Iovleva, A., Yasmin, M., Wilson, B., Perez, F., & Robert , A. B. (2018). Therapies for multidrug resistant and

extensively drug-resistant non-fermenting gram-negative bacteria causing nosocomial infections: a perilous journey toward 'molecularly targeted' therapy, *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 16:2, 89-110, DOI: 10.1080/14787210.1425139.

- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). (1997). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard M2-A7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, USA.
- Neal, M.J. (2017). *Pharmacologie médicale*, 8^{ème} édition, Wiley-Blackwell.
- Nikaido, H. (2009). Multidrug resistance in bacteria. *Annu. Rev. Biochem.* 78, 119-146.
- Nour El Houda, L. (2005). Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).
- OMS. (2010). Organisation mondiale de la santé. Pourquoi un Défi mondial sur les infections nosocomiales.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2013). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. ISBN 978 92 4 250609 9, Genève, Suisse, 72p.
- Oyardi, O., Ozcelik, B., Koca Caliskan, U., Simay Demir, Y. D., and Ark, M. (2023). Screening of medicinal plant extracts as novel DNA gyrase inhibitors. *Indian Journal of Traditional Knowledge* Vol 22(1), pp 211-219.
- Ouafi, N., Moghrani, H., & Maachi, R. (2015). Influence du procédé de séchage des plantes aromatiques et médicinales sur le rendement en huile essentielle (cas de trois menthes). In *International Symposium on Materials chemistry* (1-8p).
- Pagès, J.M. (2004). Porines bactériennes et sensibilité aux antibiotiques. *Med Sci (Paris)*, V : 20 : n°3 ; 346-351.
- Pandey, K. B., et Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2 (5), 270 – 278.
- Pacifico, S., Galasso, S., Piccolella, S., Kretschmer, N., Pan, S., Marciano, S., Bauer, R., Monaco, P. (2015). Seasonal variation in phenolic composition and antioxidant and anti-inflammatory activities of *Calamintha nepeta* (L.) Savi. *Food Res. Int.* 69, 121–132
- Phaneuf, M. (2010). Les infections nosocomiales—Agir ensemble pour des milieux

cliniques sains et sécuritaires. 26.

- Pagnussatt, F., Kupski, A., Darley, F. T., Filoda, P. F., Ponte, É. M. D., Garda-Bufferon, J., et Badiale-Furlong, E. (2013). Fusarium graminearum growth inhibition mechanism using phenolic compounds from Spirulina sp. Food Science and Technology, 33, 75–80.
- Parle, O. (1991). Huiles essentielles. *Plantes et santé*. France.
- Pozzatti, P., Loreto, E. S., Mario, D. N., Rossato, L., Santurio, J. M., & Alves, S. H. (2010). Activities of essential oils in the inhibition of Candida albicans and Candida dubliniensis germ tube formation. Journal de mycologie médicale, 20(3), 185-189.
- Quezel, P., et Santa, S., (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S.Paris.
- Rao, U. S. M., Abdurrazak, M., & Mohd, K. S. (2016). Phytochemical screening, total flavonoid and phenolic content assays of various solvent extracts of tepal of musa paradisiaca. Malaysian Journal of Analytical Sciences, 20(5), 1181–1190. <https://doi.org/10.17576/mjas-2016-2005-25>
- Raut, J. S., et Karuppayil, S. M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. Industrial Crops and Products, 62, 250–264.
- Silva, N. C. C., & Fernandes Júnior, A. J. J. O. V. A. (2010). Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases, 16(3), 402-413.
- Sbayou, H., Ababou, B., Boukachabine, K., Manresa, A., et Zerouali, K. (2014). Chemical Composition and Antibacterial Activity of Artemisia herba-alba and Mentha pulegium Essential Oils. Journal of life sciences, 8(1), 35-41.
- Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L., & Douira, A. (2010). Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Mediterranean Botany*, 31, 133.
- Sebih, F. (2020). Pharmacognosie. Mémoire de Master 1 en Génie Pharmaceutique, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran «Mohamed Boudiaf», Algérie, 62 p.
- Shaikh, J. R., & Patil, M. (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. International Journal of Chemical Studies, 8(2), 603–608. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>
- Silvant, C. (2014). L'aromathérapie la nature au service de l'humanité, Ed. Publibook,

Paris.

- Small, E., Catling, P.M. (2000). Les cultures médicinales canadiennes. Canada : Ottawa (Ontario), NRC Research. Press.
- Sofowora, A. (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Ed Karthala. ISBN : 978-2-8111-0330-9.
- Tsergouli, K., Karampatakis, T., Haidich, A. B., Metallidis, S., & Papa, A. (2020). Nosocomial infections caused by Crimean–Congo haemorrhagic fever virus. *Journal of Hospital Infection*, 105(1), 43-52.
- Ullah, S., Hussain, S. A., Shaukat, F., Hameed, A., Yang, W., & Song, Y. (2019). Antioxidant Potential and the Characterization of *Arachis hypogaea* Roots. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2019/7073456>
- Vela, E., et Benhouhou, S. (2007). Évaluation d'un nouveau point chaud de biodiversité végétale dans le Bassin méditerranéen (Afrique du Nord). *C.R. Biologies* 330: 589-605.
- Veres, K. (2007). Variability and biologically active components of some Lamiaceae species. Ph.D. thesis. Départements of pharmacognosy. Univ. Szeged, Hungary, p.3.
- Verma, D., Irchhaiya, M., Singh, R., Kailasiya, P. P., Kanaujia, V. (2011). Studies on antiulcer activity of essential oil of *Calamintha officinalis* Moench. *Int. J. Res. Pharm. Sci.*, 2, 2733–2736.
- Vermerris, W. (2006). Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1- 40205163-8 (HB).
- WHO. (1999). monographs on selected medicinal plants. Volume I. WHO Geneva.
- Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D., Ouar Korich, M. N. (2001). Résistance microbienne aux antibiotiques. *Médecine du Maghreb* n°91.
- Ziegler, J., Facchini, P. J. (2008). Alkaloid Biosynthesis : Metabolism and Trafficking. *Annu Rev Plant Biol*, 59, 735 – 769.
- Zhang, Y., Liu, X., Wang, Y., Jiang, P., & Quek, S. (2016). Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control*, 59, 282-289.
- Zhao, X., et Drlica, K. (2014). Reactive oxygen species and the bacterial response to lethal stress. *Current Opinion in Microbiology*, 21, 1–6.

Annexes

Annexe n°1

Milieux de culture

Bouillon nutritif (BN) (g/l)

Peptone.....	10 g
Extrait de viande.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Eau distillée.....	1000 mL

pH = 7,3 ± 0,2

Gélose nutritive (GN) (g/l)

Peptone.....	10 g
Extrait de viande.....	3 g
Extrait de levure.....	3 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Agar.....	18 g
Eau distillée.....	1000 mL

pH = 7,3 ± 0,2

Mueller Hinton gélosé (M-H) (g/l)

Extrait de viande.....	3 g
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5 g
Amidon.....	1.5 g
Agar.....	16 g
Eau distillée.....	1000 mL

pH = 7,3 167

Sabouraud additionné de chloramphénicol gélosé (g/l)

Peptone.....	10 g
Glucose.....	20 g
Agar.....	15 g
Chloramphénicol.....	0.5 g
Eau distillée.....	1000 mL

pH = 6

Annexe n°2

Composition des réactifs utilisés pour le screening phytochimique des plantes

I- Caractérisation des alcaloïdes :

Réactif de Mayer

Chlorure mercurique.....	6.7 g
Iodure de potassium.....	25 g
Eau distillée.....	200 mL

II- Caractérisation des carbohydrates :

Réactif de Fehling

Préparer séparément deux solutions :

Solution A :

Sulfate de cuivre.....	18 g
Eau.....	250 mL

Solution B :

Acide tartrique.....	87 g
Hydroxyde de sodium.....	35 g
Eau.....	250 mL

On les mélange pour obtenu le réactif Fehling

III- Caractérisation des protéines

Réactif de biuret

Sulfate de cuivre.....	1.5g
Tartrate de sodium et de potassium.....	4.5g
Iodure de potassium.....	2.5g
Eau distillée.....	200 mL

Annexe n°3

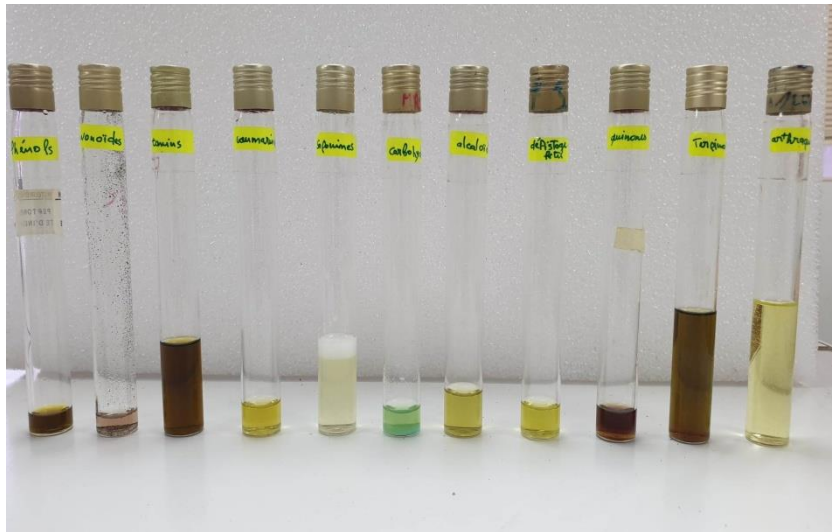


Figure n°1 : Résultat de screening phytochimique.

Annexe n°4

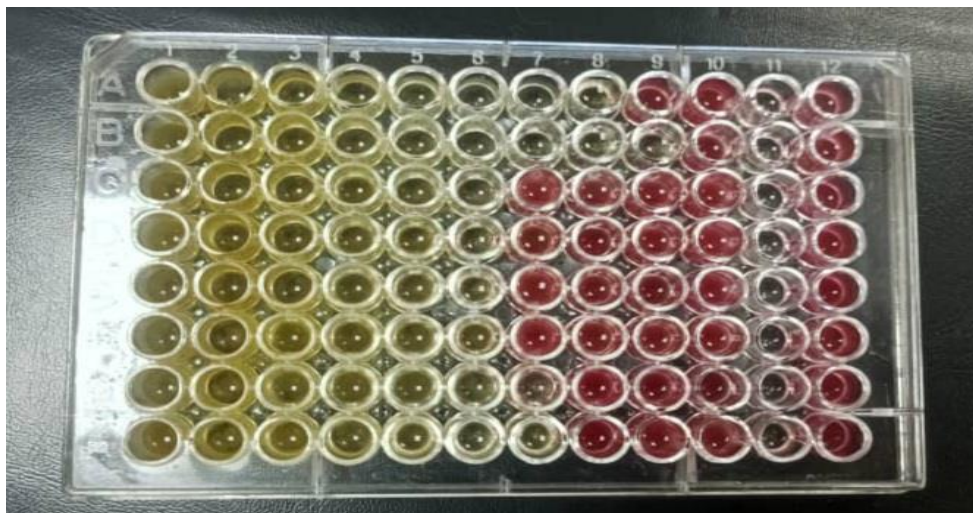
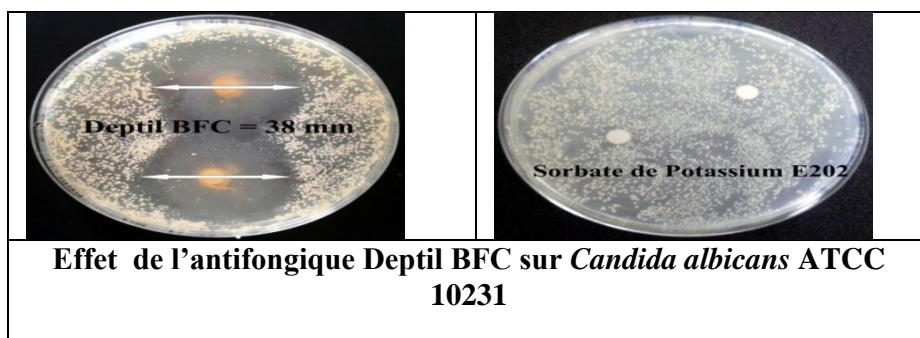


Figure n°1 : Microplaque de 96 puits

Annexe n°5



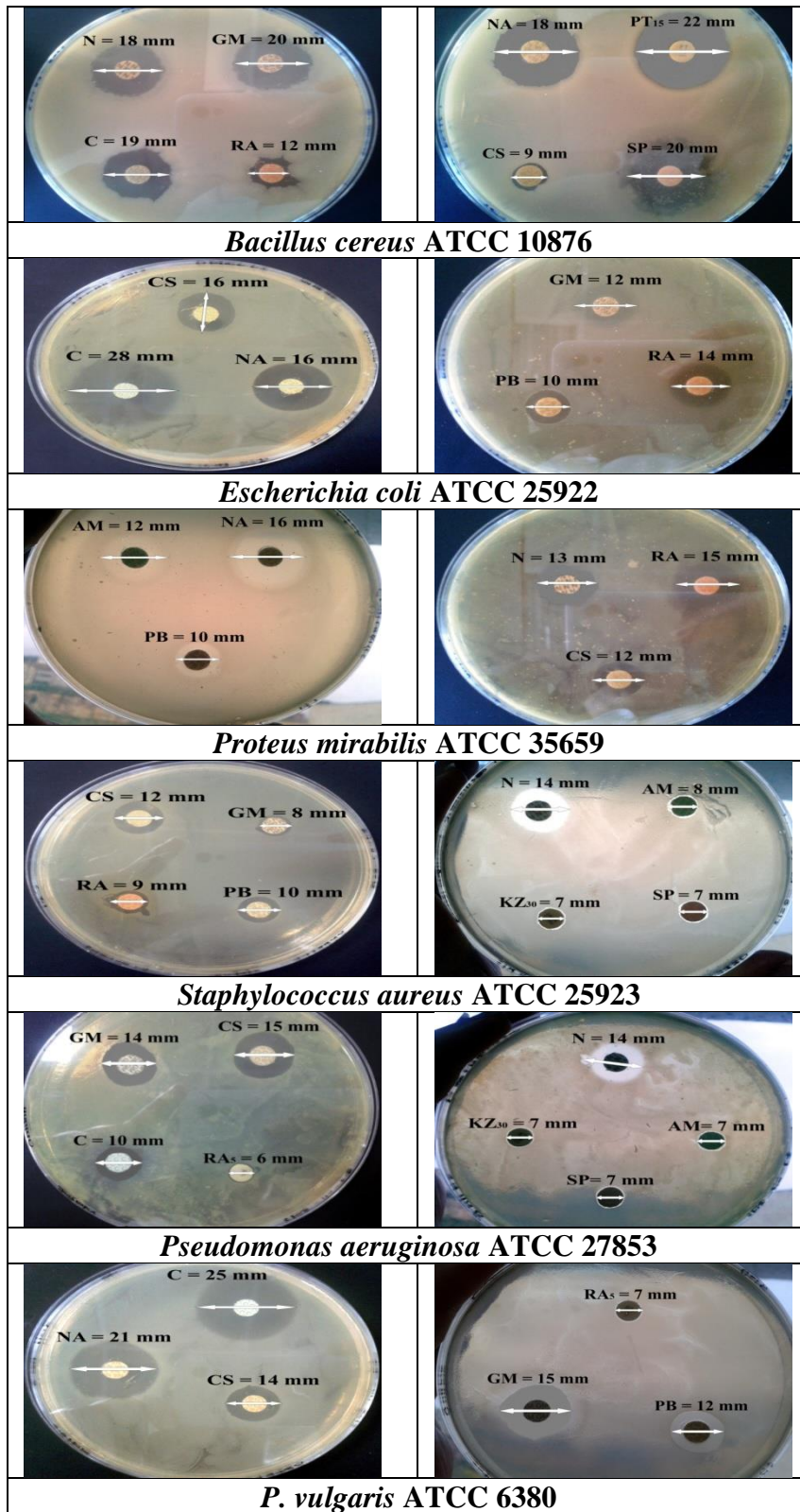


Figure n°1 : Effet des antibiotiques sur les souches étudiées.

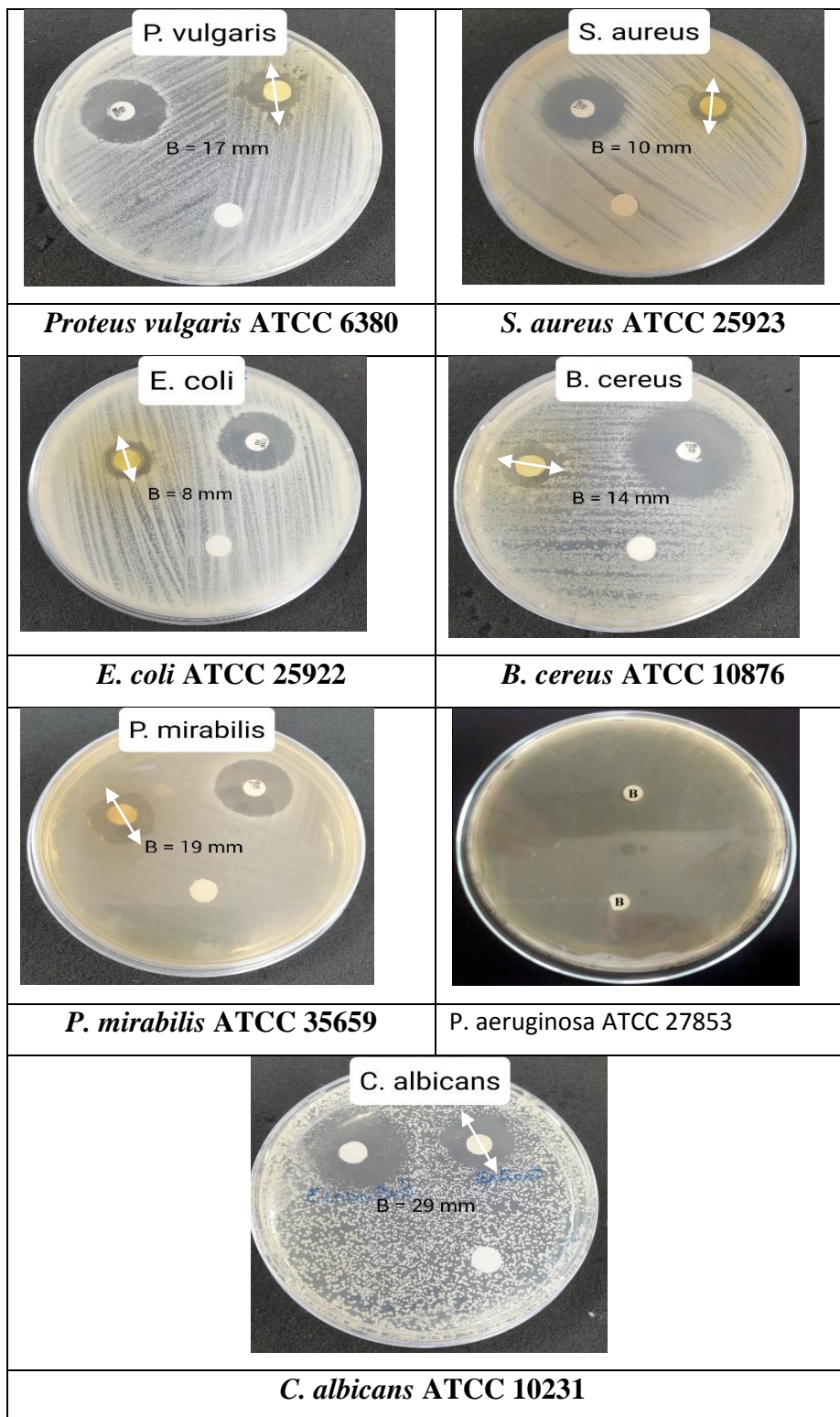


Figure n°2 : Effet de l'extrait hydro-éthanolique de *Calamintha nepeta* sur les souches étudiées.