



République Algérienne Démocratique et Populaire
Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem
Faculté Des Sciences de la Nature et de La Vie
Département de Biologie

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de
MASTER EN SCIENCE BIOLOGIQUE
Spécialité : Microbiologie Fondamentale

Par
Benattou Hadil
&
Mansouri Mounira

Thème :

Effet de l'huile essentielle d'une mixture de plantes médicinales sur la croissance des germes multi résistants des infections nosocomiales

Soutenue le 22 Juin 2024 devant le jury composé de :

Président	Bekkeniche Nahla	MCB	Université de Mostaganem
Encadreur	Bahri Fouad	Pr	Université de Mostaganem
Examinateur	Bengueneb Asma	MAB	Université de Mostaganem
Co-encadreur	Zaoui soumia	Doctorante	Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciements

Avant tout développement sur cette expérience professionnelle, il apparaît opportun de commencer cette mémoire par des remerciements

*Nous tenons à remercier **Mr F. BAHRI** pour tout le soutien et l'encadrement qu'il nous a donné*

Nous adressons nos plus vifs remerciements aux honorables membres de jury qui ont bien accepté de juger ce modeste travail

*Un merci spécial **Mme Zaoui Soumia**, qui était toujours à nos côtés dans le laboratoire et s'efforce toujours de fournir tout ce dont nous avons besoin*

*Nous remercions également tous les travailleurs de laboratoire, en particulier **Mme tahliati Amina**, à qui nous sommes très reconnaissants pour ces remarques*

*Un grand merci à **Mr Rabhi mohamed** qui nous a aidés à donner de nombreux conseils liés à la partie pratique*

*Nous exprimons nos profonds remerciements à **nos enseignants** de faculté S.N.V qui ont été toujours là pour nous*

Nous exprimons nos profonds remerciements à tous ceux qui ont d'une manière ou D'autre, contribué à la réussite de ce travail et qui n'ont pas pu être cités ici

Dédicaces

Louange à Dieu seul,

Ce modeste travail est dédié spécialement

A l'âme de mon Grand-père ; que dieu le garde dans son paradis

A ma chère grand-mère que dieu la protège

A ma chère maman, ma raison de vivre, en témoignage de ma reconnaissance pour sa patience, son amour et ses sacrifices

A mon cher Papa pour son amour et son dévouement

A vous, mes parents, je dis merci D'avoir fait de moi celui que je suis aujourd'hui .Aucun dédicace ne pourra exprimer mes respects mes considération, et ma grande admiration pour vous. Puisse ce travail vous témoigne mon affection et mon profond amour

A ma petite princesse, ma sœur soudjoud & mes frère Rayen & Ahmed qui je le sais, ma réussite est très importante à leurs yeux. Que Dieu vous garde pour moi.

A mon âme sœur Amel, Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager

A Mon adorable tante « fatma » qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille

A mes chères amies, Maissa, Marwa, Nesrine, Nadjet, ikram pour leurs aides et supports dans les moments difficiles, que Dieu vous paye pour tous vos bienfaits

Sans oublier mon binôme Mounira pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet

Pour finir, à tous ceux que j'aime et qui m'aiment, je dédie ce mémoire.

HADIL

Dédicaces

***Merci Allah** de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir,*

La force D'y croire la Patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

En ce moment particulier dans ma vie,

Je tiens à dédier ce modeste travail à

***À mon chère père**, Noureddine, Ecole de mon enfance, qui a été mon ombre durant tous les années des études et à mis à ma disposition tous les moyens nécessaire pour que je réussisse.*

***À ma chère mère**, Zohra, Qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite. Soyez fière de moi aujourd'hui et voyez à travers ce travail mon amour sincère et ma Gratitude profonde que dieu vous gardes et protèges pour moi inchalah*

***À mon cher frère : Lakhder Yasine** , je vous souhaite une Longue et bonne santé.*

***À mes chères sœurs fatma et Waafa**, et leurs maris, **Fethi et Abdo**, et n'oublions pas le Petit prince « **Oussama** »*

***À ma grand -mère** je te souhaite une longue vie et une santé éternelle.*

*À toute la famille : **MANSOURI**.*

***À tous mes amis** qui ont rendu ma vie agréable et pleine de bons souvenirs :*

Ikram, Nadjet, Nesrine, Khadidja

*Et bien sur **mon binôme Hadil**, que je la souhaite toute la réussite et la joie dans sa vie.*

À toute la promo de Microbiologie Fondamentale

2023-2024

À tous ce que j'aurais oublié de citer mais Ils sont toujours présents dans mon cœur

MOUNIRA

Résumé

Le présent travail est concentré sur la valorisation d'une mixture de huit plantes médicinales : *Thymus vulgaris*, *Ammi visnaga*, *Mentha pulegium*, *Zingiber officinale*, *Cinnamomum verum*, *Syzygium aromaticum*, *Lavandula angustifolia* et *Citrus sinensis*, en évaluant certaines de leurs propriétés biologiques. L'huile essentielle de la mixture obtenue par hydro-distillation a donné un rendement de 2,4%. Le screening phytochimique a révélé la présence de différents groupes de métabolites secondaires dans les parties aériennes des plantes tels que, les alcaloïdes, flavonoïdes, tannins. L'étude de l'activité antimicrobienne par aromagramme, a montré un grand effet inhibiteur d'huiles de mixture sur les cinq souches de référence testées avec des diamètres de zones d'inhibition variant entre 9 mm et 34mm. Les souches les plus sensibles sont : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* présentant des diamètres de zones d'inhibition de 24,13 mm et 18,99 respectivement, la souche la moins sensible est *P.aeruginosa* avec un diamètre de zone d'inhibition de 9,45mm. La méthode de macrodilution en milieu liquide a permis d'obtenir des valeurs de concentration minimale inhibitrice (CIM) allant de 0.62 à 2.5 µL/mL et une concentration minimale bactéricide (CMB) de 5 µL/mL. Une activité anti-radicalaire importante a été déterminé à notre échantillon contre le radical DPPH avec une valeur de IC₅₀ de 1,97 ± 0,2 mg/mL. Par ailleurs, le EC₅₀ obtenue par le test de pouvoir réducteur de fer (FRAP) est 1,763±0,08 mg/mL. L'administration orale de notre l'huile essentielle avec des doses croissantes à des rats Wister est considérée modérément toxique avec sa DL₅₀ entre 50 et 2000mg/kg.

Mots clés : Huile essentielle, Plantes médicinales, Activité antibactérienne, Activité antioxydant, Toxicité aigüe

Abstract

The current study is centered on the valorization of a mixture consisting of eight medicinal plants, namely *Thymus vulgaris*, *Ammi visnaga*, *Mentha pulegium*, *Zingiber officinale*, *Cinnamomum verum*, *Syzygium aromaticum*, *Lavandula angustifolia*, and *Citrus sinensis*, through the assessment of their various biological characteristics. The essential oil extracted from the mixture via hydro-distillation exhibited a yield of 2.4%. Analysis through phytochemical screening unveiled the existence of diverse classes of secondary metabolites in the upper parts of the plants like alkaloids, flavonoids, and tannins. Evaluation of antimicrobial effects using an aromagram demonstrated a substantial inhibitory impact of the combined oils on the five standard strains tested, with inhibition zone diameters ranging from 9 mm to 34 mm. Among the strains, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, exhibited the highest sensitivity with inhibition zone diameters of 24.13 mm, 18.99 mm, respectively, while *P.aeruginosa* displayed the least sensitivity with an inhibition zone diameter of 9.45 mm. Through the liquid macrodilution technique, minimum inhibitory concentration (MIC) values were determined to be in the range of 0.62 to 2.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ with a minimum bactericidal concentration (MBC) of 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Notably, our sample showcased significant anti-radical activity against the DPPH radical, with an IC₅₀ value of 1.97 ± 0.2 mg/mL. Additionally, the EC₅₀ acquired from the iron reducing power test (FRAP) was calculated to be 1.763 ± 0.08 mg/mL. The oral administration of our essential oil to Wister rats at escalating doses was found to be moderately toxic, with an LD₅₀ falling between 50 and 2000mg/kg.

Keywords: Essential oil, Medicinal plants, Antibacterial activity, Antioxidant activity, Acute toxicity

ملخص

ركز هذا العمل على تثمين خليط من ثمانية نباتات طبية: *Thymus vulgaris*, *Ammi visnaga*, *Mentha pulegium*, *Zingiber officinale*, *Cinnamomum verum*, *Syzygium aromaticum*, *Lavandula angustifolia*, و *Citrus sinensis* من خلال تقييم بعض خصائصها البيولوجية. أعطت الزيوت الأساسية للخليط المستخلصة بواسطة التقطير المائي مردودًا بنسبة 2.4%. وكشف التحليل الكيميائي النباتي عن وجود مجموعات مختلفة من الأيضات الثانوية في الأجزاء الهوائية من النباتات مثل القلويات، والفلافونويدات، والعفص. أظهرت دراسة النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة العطروميتر تأثيرًا مثبطًا كبيرًا لزيوت الخليط على خمسة سلالات مرجعية تم اختبارها، حيث تراوحت أقطار مناطق التثبيط بين 9 ملم و34 ملم. كانت السلالات الأكثر حساسية هي *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*، بأقطار مناطق تثبيط 24.13 ملم، 18.99 ملم على التوالي. أما السلالة الأقل حساسية فكانت *P.aeruginosa*، بقطر منطقة تثبيط 9.45 ملم. من خلال استخدام طريقة التخفيف الكلي للسائل، حددت الدراسة الحد الأدنى لقيم التركيز المثبط (MIC) والتي تتراوح من 0.62 إلى 2.5 ميكرو لتر لكل مل، مصحوبة بتركيز مبيد للجراثيم (MBC) لا يقل عن 5 ميكرو لتر لكل مل. بشكل ملحوظ، أظهرت العينة خصائص مضادة للجذور ملحوظة ضد جذور DPPH، حيث أظهرت قيمة IC50 تبلغ 0.2 ± 1.97 مل/ع. علاوة على ذلك، تم حساب EC50 المشتق من اختبار قدرة تقليل الحديد (FRAP) ليكون 0.08 ± 1.763 مل/ع. أظهر إعطاء الزيت العطري عن طريق الفم لجرذان الويستر جرعات متزايدة مستوى معتدل من السمية، حيث يتراوح LD50 بين 50 و2000 مع/كغ.

الكلمات المفتاحية:

الزيوت الأساسية، النباتات الطبية، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للأوكسدة، السمية الحادة

Table des matières

<i>Remerciements</i>	I
Résumé.....	II
Abstract.....	III
ملخص.....	V
Introduction	1
Synthèse Bibliographique.....	4
Chapitre I. Généralités sur les huiles essentielles	5
I- Les huiles essentielles	6
I.1- Définition.....	6
I.2- Répartition botanique.....	6
I.3- Localisation et lieu de synthèse.....	6
I.4- Activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	7
I.5- Composition chimique des huiles essentielles	8
I.5.1- Les terpènes	8
I.5.2- Les composés aromatiques	9
I.5.3- Les composés d'origines diverses	10
I.5.4- Domaines d'application	10
Chapitre II Espèces végétales étudiées	11
II. Les plantes étudiées.....	12
<i>II. 1-Thymus vulgaris</i>	12

II. 1.1-Description botanique du <i>Thymus vulgaris</i>	12
II. 1.2-Classification taxonomique.....	13
II. 1.3-Principale Utilisations du <i>Thymus</i>	13
II. 2- <i>Ammi visnaga</i>	14
II. 2.1-Description botanique de <i>l’Ammi visnaga</i>	14
II. 2.2-Classification taxonomique.....	15
II. 2.3-Principale Utilisations d’ <i>Ammi visnaga</i>	16
II. 3- <i>Mentha pulegium</i>	17
II. 3.1-Description botanique de <i>Mentha pulegium</i>	17
II. 3.2-Classification botanique de <i>Mentha pulegium</i> L.....	18
II. 3.2-Principale Utilisations <i>Mentha pulegium</i>	18
II. 4- <i>Zingiber officinale</i>	19
II. 4.1- Description botanique de <i>Zingiber officinale</i>	20
II. 4.2-Classification botanique de <i>Zingiber officinale</i>	20
II.5. <i>Cinnamomum verum</i>	21
II.5.1- Description botanique de <i>Cinnamomum verum</i>	22
II. 5.2-Classification botanique du <i>Cinnamomum verum</i>	23
II.5.3- Principale utilisation de <i>Cinnamomum verum</i>	23
II.6. <i>Syzygium aromaticum</i>	24
II.6.2.Définition	24
II.6 .3.origine du nom.....	24
II.6 .4.Description botanique de <i>Syzygium aromaticum</i>	25
II.6.5. Classification taxonomique de <i>Syzygium aromaticum</i>	26
II.6.6.Effet thérapeutique et utilisation traditionnelle.....	26
II.7. <i>Lavandula angustifolia</i>	27
II.7.1-Description de la plante	28
II.7.2 Classification taxonomique de <i>Lavandula angustifolia</i>	28
II.7.3- Effet thérapeutique et Utilisation traditionnelle	29
II.8.1-<i>Citrus sinensis</i>	29
II.8.2 – description botanique de la plante	29
II.8.3 Classification taxonomique de la plante	30
II.8.4- Effet thérapeutique et Utilisation traditionnelle	30
Chapitre III Activités biologiques des huiles essentielles.....	32
III.1- Activité antibactériennes.....	33

III.1.1- Infections nosocomiales :	33
III.1.1.1- Agents pathogènes	33
III.1.1.2- Modes de transmission	34
III.1.1.2.1- Voie endogène :	34
III.1.1.2.2- Voie exogène :	34
III.1.1.2.3- Patient réceptif :	35
III.1.2- Les antibiotiques :	35
III.1.3- La résistance bactérienne aux antibiotiques :	36
III.1.4- Les huiles essentielles comme agents antibactériens :	36
III.1.4.1- Mode d'action des huiles essentielles	37
III.2- Activité antioxydante	38
III.2.1- Le stress oxydatif	38
III.2.2- les radicaux libres	38
III.2.3- Les antioxydants	39
Chapitre IV_Matériel et Méthodes	42
IV.1- Matériel végétal :	43
IV.1.1- Mixture traditionnelle à base de plantes	43
IV.2-Extraction de l'huile essentielle par Hydrodistillation	43
IV. 3- Calcul du rendement	43
IV.4- Screening phytochimique	44
IV.4.1- Alcaloïdes	44
IV.4.2- Polyphénols	45
IV.4.3- Tanins	45
IV.4.5- Flavonoïdes	46
IV.4 .6- Dérivés anthracéniques	47
Dérivés anthracéniques libres (réaction de Bornträger)	47
Dérivés anthracéniques combinés	47
➤ O-Hétérosides	47
O-hétérosides à génine réduite	47
C-hétérosides	48
IV.1.3.7- Autres caractérisations	48
IV.1.3.7.1- Composés réducteurs	48
IV.1.3.7.2- Oses et holosides	48

IV.1.3.7.3- Mucilages	48
IV.1.3.7.4- Hétérosides cyanogénétiques	48
IV.6- Procédés d'étude microbiologique :	49
IV.6.1- Souches microbiennes testées :	49
IV.6.2- Milieux de culture utilisés :	49
IV.6.3- Préparation de l'inoculum :	49
IV.6.4- Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des agents antimicrobiens standards	50
IV.6.5- Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles :	50
IV.6.5.1- Technique d'aromatogramme (méthode de Vincent) :	50
IV.6.5.2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :	51
IV.6.5.3- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) :	51
IV.7- Etude de l'activité antioxydante :	52
IV.7.1- Test de DPPH :	52
IV.7.1.1- Principe	52
IV.7.2- Mode opératoire	53
IV.7.3- Expression des résultats	53
IV.7.2- Test de FRAP :	54
IV.7.2.1- Principe :	54
IV.7.2.2- Mode opératoire :	54
IV.7 Encapsulation de l'huile essentielle	54
IV.8- Activités biologiques et propriétés pharmacologiques :	55
IV.5.2- Etude de toxicité orale aiguë :	55
Matériel animal :	55
Principe :	56
IV.5.2.2- Mode opératoire :	56
Résultats et discussion	58
V.1- Huiles essentielles	59
V.1.1- Rendement en huile essentielle	59
IV.2. Screening phytochimique	59
V.3- Etude de l'activité antibactérienne	62
V.3.1- Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des agents antibactériens standards	62
V.3.2- Etude de l'activité antibactérienne d'huile essentielle	64
V.3.2.1- Technique de l'aromatogramme (Méthode de Vincent)	64

V.3.2.2-Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), bactéricide(CMB) ...	67
V.4. Activité antioxydante.....	68
□ Test de DPPH	69
□ Test de FRAP :	70
V.4.1- Comparaison de nos résultats avec celle de la littérature des mixtures :.....	72
V.5. Encapsulation de l'huile essentielle par coacervation complexe alginate de sodium et agar agar.....	73
V.6- Etude pharmacologique	74
V.6.1- Toxicité aigue	74
Conclusion.....	75
Références Bibliographiques :	78
Annexe.....	
.....	92

Liste des abréviations et symboles

AFNOR : Association Française de normalisation .

ATCC: American type Culture Collection .

EC₅₀: Concentration Efficace 50%.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

CMB: Concentration Minimale Bactéricide.

HE : Huile essentielle .

UV: Ultraviolet .

OMS : Organisation Mondiale De La Santé.

SFM : Société française de la Microbiologie.

ORS : Organismes Réactifs de l'oxygène .

GHS :Globally Harmonized Système .

Liste des figures

- Figure 1** : représentation de la formule de l'isoprènePage 6
- Figure 2** : Différentes structures rencontrées chez les mono- et sesquiterpénoïdesPage 7
- Figure 3** : Exemples de composés aromatiques C6-C3 caractéristiques des huiles essentiellesPage 8
- Figure 4** : Aspect morphologique du *thymus vulgaris* L..... Page 9
- Figure 5** : Aspect botanique d'*Ammi visnaga*.....Page 12
- Figure 6** : Aspect botanique de *Mentha pulegium*.....Page 15
- Figure 7** : Aspects morphologiques du *Zingiber officinale*.....Page 17
- Figure 8** : Aspects morphologiques du *Cinnamomum verum*.....Page 19
- Figure 9** : Aspects morphologiques du *Syzygium aromaticum*.....Page 21
- Figure 10** : Feuilles jeunes de couleur rose et feuilles matures de couleur verte du giroflier.....Page 22
- Figure 11** : Aspect morphologique de *Lavandula angustifolia*.....Page 24
- Figure 12** : Feuilles, fleurs et fruits d'oranger.....Page 26
- Figure 13** : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule Bactérienne.....Page 33.

Figure 14 : Réactions de formation des radicaux libres.....	Page 34
Figure 15 : Hydrodistillateur de type Clevenger pour l'extraction de l'huile.....	Page 37
Figure 16 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant.....	Page 45
Figure 17 : Les rats du Wister.....	Page 48
Figure 18 : Méthode de gavage de l'huile essentielle.....	Page 49
Figure 19 : résultat de screening phytochimique	Page 52
Figure 20 : Effet des antibiotiques sur les souches étudiées.....	Page 54.
Figure 21 : Effet de l'huile essentielle de la mixture sur les souches étudiées.....	Page 56
Figure 22 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour l'huile essentielle de la mixture testée.....	Page 58
Figure 23 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des Différentes Concentrations utilisées pour l'acide ascorbique	Page 59
Figure 24 : pouvoir réducteur de l'huile étudié	Page 60
Figure 25 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.....	Page 60
Figure 26 : Billes de l'huile encapsulée.....	Page 62

Liste des tableaux

Tableau1 : Classification botanique du thymus vulgaris L.....	Page10
Tableau2 : Principale Utilisations du thymus vulgaris.....	page 11
Tableau3 : Classification taxonomique d’Ammi visnaga.....	Page 12
Tableau4 : Principale Utilisations d’Ammi visnaga.....	Page 13
Tableau5 : Classification botanique d’Ammi visnaga.....	page 15
Tableau6 : Principale utilisation du Mentha pulegium.....	page16
Tableau 7 : Classification botanique de zingiber officinale.	page 17
Tableau 8 : Principales utilisations du zingibar officinale.....	page18
Tableau 9 : Position systématique de cannelier.....	page19
Tableau10 : Principale utilisations du Cinnamomum verum.....	page20
Tableau 11 :Situation botanique de l’espèce Syzygium aromaticum	page22
Tableau 12 : Les différentes propriétés et usage du Syzygium aromaticum	page23
Tableau 13 : Effet thérapeutique et Utilisation traditionnelle du Citrus sinensis.....	page27
Tableau 14 : SOUCHES MICROBIENNES TESTEES.....	page41
Tableau 15 : Liste des antibiotiques utilisés.....	page43

Tableau 16 : Résultat du screening phytochimiquepage50

Tableau 17:Résultats de l'activité antibactérienne des antibiotiques exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.....page53

Tableau 18: Résultats de l'aromatogramme exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.....page55

Tableau 19: Valeurs des paramètres antibactériens de la mixturepage57

Tableau 20 : Valeurs de la concentration efficace 50 des huiles essentielles des espèces Étudiées et de l'acide ascorbique obtenues par le test de DPPH..... page59.

Tableau 21 : Valeurs de la concentration efficace 50 des huiles essentielles des espèces Étudiées et de l'acide ascorbique obtenues par le test de FRAPpage60

Introduction

I. Introduction

Depuis de nombreux siècles, les plantes ont été le principal moyen de guérison pour l'humanité, grâce à d'anciennes observations minutieuses qui ont permis de découvrir les propriétés thérapeutiques ou préventives des plantes médicinales. Une connaissance qui n'a jamais été contestée par leur utilisation (**Abdelli et al., 2019**). La richesse en plantes médicinales et aromatiques en Algérie est largement reconnue (**Sahi, 2016**).

De nombreuses études ont été réalisées sur diverses espèces afin d'identifier les composés actifs présents dans leurs extraits, tels que les huiles essentielles ou les extraits de plantes. Toutefois, malgré leur utilisation répandue en médecine traditionnelle, moderne et pharmaceutique, les informations sur l'activité biologique de ces extraits demeurent limitées. Actuellement, l'usage des produits naturels issus des plantes est en progression constante (**Mnayer, 2014**).

L'Algérie, de par sa gamme de climats très variée et sa situation géographique, possède un ensemble considérable d'espèces naturelles qui représentent un patrimoine phyto-génétique de très grande importance vu leur mode de répartition spatiale et leur rôle dans l'équilibre écologique (**Snoussi et al. 2003**).

Les plantes médicinales revêtent une importance primordiale dans la recherche pharmacologique et le développement de nouveaux médicaments. Leur contribution ne se limite pas à l'utilisation directe de leurs composants comme agents thérapeutiques, mais s'étend également à leur utilisation comme matières premières pour la synthèse de médicaments, ainsi qu'à leur utilisation comme modèles pour la création de composés actifs d'un point de vue pharmaceutique. (**OMS, 1998**).

Malgré les progrès des médicaments de synthèse, les médicaments dérivés de plantes maintiennent une importance notable. Environ 20 000 à 25 000 plantes sont répertoriées dans la pharmacopée humaine, avec 75% des médicaments ayant une origine végétale et 25% contenant au moins une molécule active provenant de plantes. (**Adossides, 2003**), ce qui équivaut à un total de 120 composés provenant de 90 plantes différentes (**Kar, 2007**).

Dans ce travail, nous avons utilisé une mixture de huit plantes médicinales *Thymus vulgaris* (زعتر), *Ammi visnaga* (نوخة), *Mentha pulegium* (فليو), *Zingiber officinale* (سكنجبين), *Cinnamomum verum* (قرفة), *Syzygium aromaticum* (قرنفل), *Lavandula angustifolia* (خزامة) et *Citrus sinensis* (تشينة).

La mixture de plantes médicinales est une pratique ancienne qui consiste à combiner différentes plantes pour créer des remèdes thérapeutiques.

L'utilisation des mélanges de plantes médicinales. Il met en lumière leur capacité à combiner les principes actifs de différentes plantes pour renforcer leurs effets thérapeutiques, ainsi que leur adaptabilité aux besoins individuels grâce à une personnalisation des mélanges. L'ancrage dans la tradition et la culture est souligné, tout comme la diversité des formes d'administration et la polyvalence d'utilisation des mélanges de plantes.

L'Algérie est riche en plantes aromatiques et médicinales susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (parfumerie, pharmacie, cosmétique, agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques et odorantes. Ces plantes aromatiques sont donc, la source des huiles essentielles (*Etude des huiles essentielles*).

Les huiles essentielles de diverses espèces végétales ont été étudiées et caractérisées (**Abadlia et Chebbour, 2014**), et leur utilisation s'accroît dans divers domaines (**Mnayer, 2014**). Elles représentent des alternatives potentielles pour résoudre divers problèmes, notamment l'émergence de la résistance microbienne aux antibiotiques. Ce phénomène, en constante augmentation et presque universel, est particulièrement prononcé chez les microorganismes responsables des infections nosocomiales (**Hanberger et al. 1999 ; Sieradzki et al, 1999**).

Est principalement causé par l'utilisation excessive d'antibiotiques. Dans de nombreuses situations, seule une poignée d'antibiotiques demeure efficace (**Goldmann et al., 1996 ; Wise et al., 1998**). Ces huiles sont particulièrement appréciées pour leurs propriétés biologiques souvent remarquables (**Merghache et Tabti, 2009**).

Les sources naturelles est devenu aujourd'hui et plus que jamais important. Notre présente étude cherche à approfondir les connaissances sur la mixture de 8 espèces et à la valoriser en évaluant les activités antibactérienne et antioxydants de leurs composants.

Notre travail a été organisé dans trois chapitres :

- Le premier chapitre a été consacré à la revue bibliographique des connaissances sur la mixture de huit espèces et l'étude de ses principaux métabolites, leurs usages traditionnels et leurs activités biologiques.
- Le deuxième chapitre a été réservé à la partie expérimentale :

Matériel végétale

Procédés d'étude microbiologique

Etude de l'activité antioxydant

- Le troisième chapitre est consacré à la présentation des résultats et de leurs discussions.

Ce travail a été achevé par une conclusion et une liste des références utilisées.

Synthèse Bibliographique

Chapitre I

Généralité sur les huiles essentielles

I- Les huiles essentielles

I.1- Définition

En microbiologie, les huiles essentielles sont des mélanges complexes de plus de 300 composés distincts, provenant de plantes aromatiques (**Sell, 2006**). Elles renferment des composés volatils aux propriétés antimicrobiennes, capables d'inhiber la croissance ou de tuer des micro-organismes pathogènes comme les bactéries, les champignons et les virus. Leur action peut perturber les membranes cellulaires, interférer avec les voies métaboliques ou altérer la structure de l'ADN des micro-organismes cibles. Ces huiles sont souvent utilisées comme alternatives naturelles aux antibiotiques dans le traitement des infections microbiennes.

Selon la norme AFNOR NF'T 75-006, une huile essentielle est définie comme le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, par le biais de différentes méthodes telles que l'entraînement à la vapeur, les procédés mécaniques impliquant l'épicarpe, ou la distillation "sèche". Par la suite, elle est séparée de la phase aqueuse à l'aide de procédés physiques (**AFNOR, 2000**).

I.2- Répartition botanique

Parmi les 1 500 000 espèces végétales répertoriées, seules environ 10% ont la capacité de produire des huiles essentielles, ce qui les classe dans la catégorie des plantes dites "aromatiques" (**Bruneton, 1999 ; Degryse et al., 2008**). Certaines familles de plantes, telles que les Labiées, les Ombellifères, les Myrtacées et les Lauracées, se distinguent par le grand nombre d'espèces qui produisent ces essences (**Baser et Buchbauer, 2010**).

I.3- Localisation et lieu de synthèse

Les huiles essentielles sont présentes dans toutes les parties vivantes des plantes et se forment dans le cytoplasme de cellules sécrétrices, dont la localisation varie selon l'organe végétal considéré. Elles s'accumulent généralement dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Ces substances sont ensuite stockées et emmagasinées dans des structures histologiques spécifiques, souvent situées à la surface de la plante ou à proximité. Ces structures comprennent notamment les cellules à huiles essentielles (comme chez les Lauracées et les Zingibéracées), les poils glandulaires épidermiques qui produisent les essences dites superficielles (par exemple chez les Lamiacées, les Géraniacées et les Rutacées), les poches sécrétrices (chez les Myrtacées, les Rutacées et les Aurantiacées) ou

encore les canaux sécréteurs (chez les Apiacées, les Apiacées et les Astéracées) (**Bruneton, 1999 ; Boz et al., 2009**).

Les huiles essentielles peuvent être extraites de divers organes de la plante, notamment les écorces (*comme la cannelle, le citron, l'orange, la bergamote*), les graines (telles que le carvi, la cardamome, la coriandre, le fenouil), les feuilles (comme l'eucalyptus, la mélisse, la citronnelle), les racines (comme l'angélique, le vétiver), les rhizomes (comme l'acore, le gingembre), les fleurs (comme l'origan, l'ylang-ylang, la camomille), le bois (comme le bois de cèdre, le santal), les sèves (comme l'encens, le myrte), les bourgeons (comme le pin), et les fruits (comme l'anis étoilé) (**Bruneton, 1999**).

I.4- Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Depuis des temps anciens, les extraits aromatiques de plantes ont trouvé leur place dans diverses formulations, telles que les médicaments et les parfums (**Heath, 1981**). Les huiles essentielles, considérées comme parmi les agents antimicrobiens les plus efficaces dans ces plantes, ont été utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques. Bien que les caractéristiques microbiologiques des plantes aromatiques et médicinales soient bien documentées, c'est en 1881 que Delacroix a réalisé la première démonstration de l'efficacité des huiles essentielles contre les bactéries (**Boyle, 1995**). Depuis lors, de nombreuses huiles essentielles ont été identifiées comme possédant des propriétés antibactériennes (**Burt, 2004**).

Leur efficacité antimicrobienne s'étend à un large spectre de bactéries, y compris celles développant des résistances aux antibiotiques, bien que cette efficacité puisse varier selon les huiles et les souches bactériennes (**Kalemba, 2003 ; Oussou, 2009 ; Avlessi, 2012**). Elles peuvent agir soit en tuant les bactéries (bactéricides), soit en inhibant leur croissance (bactériostatiques) (**Oussou et al., 2009**). Cette action dépend principalement de la composition chimique des huiles essentielles, en particulier de leurs principaux composés volatils (**Sipailiene et al., 2006 ; Oussou, 2009**).

Les huiles essentielles agissent efficacement sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, bien que ces dernières semblent moins sensibles en raison de la structure de leur paroi cellulaire (**Burt, 2004**).

I.5- Composition chimique des huiles essentielles

Les compositions chimiques des huiles essentielles sont décrites de manière détaillée, et elles présentent une variabilité notable en fonction de divers facteurs, tels que le stade de

développement des plantes, les parties prélevées, ainsi que la période et la localisation géographique de la récolte (**Delaquis et al., 2002 ; Gonny et al., 2004 ; Burt, 2004 ; Boti et al., 2006 ; Oussou et al., 2009**).

L'analyse de la composition chimique est généralement réalisée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (**Salzer, 1977**).

Les huiles essentielles, composées d'un mélange complexe de composés organiques, présentent une grande variété de structures et de fonctions chimiques (Lahlou, 2004). Une seule huile essentielle peut contenir plus de 60 molécules différentes, avec certains composés représentant jusqu'à plus de 85% de l'ensemble, tandis que d'autres ne sont présents qu'en quantités minimales (**Senatore, 1996**).

Ces constituants appartiennent principalement à deux catégories : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane, bien que ces derniers soient moins courants (**Bruneton, 1999 ; Baser et Buchbauer, 2010**).

Il s'agit en effet d'un polymorphisme chimique : même si une espèce peut être homogène en termes de caryotype, elle peut produire des huiles essentielles ayant des compositions différentes.

I.5.1- Les terpènes

Les terpènes sont des composés hydrocarbonés naturels, caractérisés par leur structure en anneau ou en chaîne ouverte. Ce qui les distingue principalement, sur le plan structural, c'est la présence d'unités isopréniques composées de cinq atomes de carbone (C_5H_8) dans leur squelette (**Hernandez-Ochoa, 2005 ; Fillatre, 2011**).

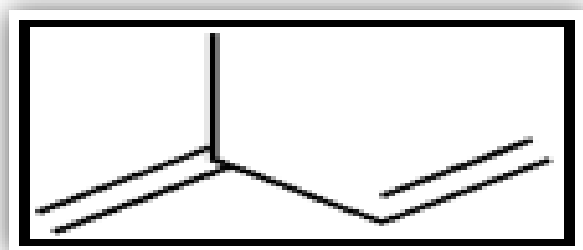


Figure 01 : Formule de l'isoprène (Fillatre, 2011).

Les terpènes sont généralement classés en différentes catégories en fonction du nombre d'unités d'isoprène qu'ils contiennent. Les isoprènes sont des unités de base constituées de cinq atomes de carbone disposés dans une structure spécifique.

Les terpénoïdes se distinguent par leur vaste gamme de structures, dont certaines sont illustrées dans la **figure 2**.

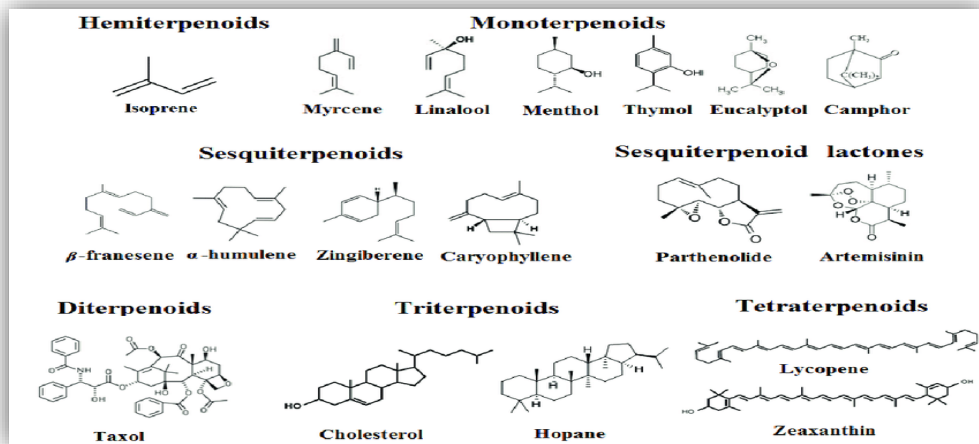


Figure 02 : Représentation de molécules caractéristiques des différentes Structures rencontrées chez les mono- et sesquiterpénoïdes (Ingy I. Abdallah)

Bien que les composés terpéniques dominent généralement les huiles essentielles, les molécules aromatiques restent également des composants significatifs. Par exemple, le cinnamaldéhyde représente environ 75 % de l'huile essentielle de cannelle (**Garnéro, 1996**).

I.5.2- Les composés aromatiques

Les composés aromatiques des huiles essentielles sont une partie importante de leur composition chimique, ajoutant des parfums caractéristiques et diverses propriétés thérapeutiques. Les composés aromatiques présents dans les huiles essentielles sont principalement issus du phénylpropane (C₆-C₃), une classe de composés organiques.

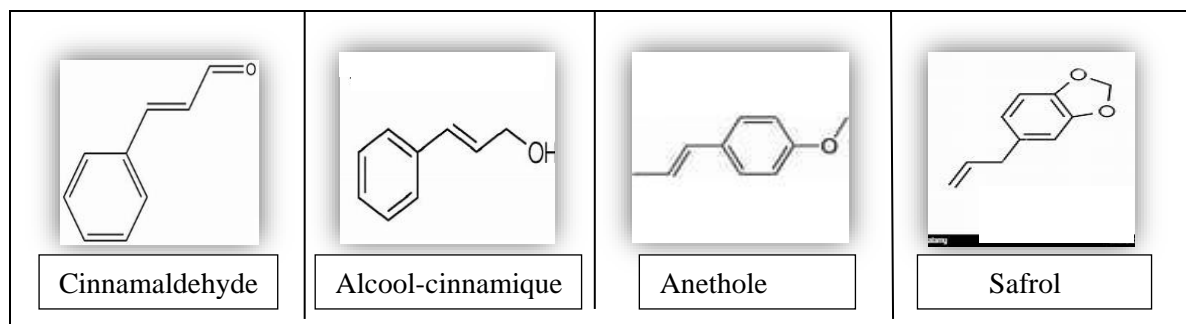


Figure 03 : Exemples de composés aromatiques C6-C3 caractéristiques des huiles essentielles (Bruneton,1999).

I.5.3- Les composés d'origines diverses

Les huiles essentielles contiennent une variété de composés volatils résultant de la dégradation des terpènes non volatils et des acides gras. Parmi eux, les ionones et des composés comme le (cis-3-hexen-1-ol) et le décànal sont remarquables. Bien que présents en faibles concentrations, ces composés peuvent avoir un impact significatif sur l'arôme des huiles essentielles. Par exemple, la β -damascénone, issue de la dégradation des terpènes, représente seulement 0,14 % de l'huile essentielle de rose, mais contribue largement à son parfum distinctif. (Leffingwell, 2011)

I.5.4-Domains d'application

Les huiles essentielles sont utilisées dans divers domaines en raison de leurs propriétés thérapeutiques et aromatiques. Elles sont largement utilisées en aromathérapie pour favoriser le bien-être émotionnel et physique, ainsi que dans les soins de la peau pour hydrater et purifier. En médecine alternative, elles sont utilisées pour traiter divers maux grâce à leurs propriétés antibactériennes et anti-inflammatoires. Dans l'industrie, elles sont utilisées dans la parfumerie, l'aromatization alimentaire et même dans les produits de nettoyage pour désinfecter et désodoriser. Enfin, elles sont souvent utilisées dans les spas et les environnements de bien-être pour créer une ambiance relaxante. (Abdelli et al., 2019).

Chapitre II

Espèces végétales étudiées

II. Espèces végétales étudiées

II. 1-*Thymus vulgaris*

Le thym, membre de la famille des Labiées, est une plante condimentaire. Le genre *Thymus* comprend environ 215 espèces de plantes vivaces herbacées et de sous-arbustes. On le trouve naturellement sur les coteaux arides de la Méditerranée. Ses propriétés pharmacologiques et aromatiques, telles que son effet antispasmodique, antiseptique, antitussif et expectorant, en font une plante couramment utilisée en médecine traditionnelle. Il est réputé pour stimuler diverses fonctions de l'organisme et pour l'activité antimicrobienne de son huile essentielle (Touhami, 2017).

II. 1.1-Description botanique du *thymus vulgaris*

Le *Thymus* est un genre de plantes appartenant à la famille des Lamiacées. Ce sont des plantes herbacées ou des sous-arbrisseaux, souvent aromatiques, caractérisés par des feuilles opposées, généralement petites, souvent linéaires et étroites, avec des bords entiers à légèrement dentés. Les fleurs du *Thymus* sont généralement petites, regroupées en inflorescences compactes ou en grappes, et peuvent être de différentes couleurs selon l'espèce, allant du blanc au rose en passant par le violet. Les tiges sont souvent ligneuses à la base dans les espèces ligneuses, tandis que les espèces herbacées ont des tiges plus souples. Ces plantes sont souvent adaptées aux climats arides et rocailleux et sont connues pour leur résistance à la sécheresse.. (Goetz et Ghedira ,2012)



Figure 04 : Aspect morphologique du *thymus vulgaris* L. (Fayad et al., 2013).

II. 1.2-Classification taxonomique

Cette classification place le thym dans la famille des Lamiacées, connue pour ses nombreuses herbes aromatiques et médicinales. *Le thymus vulgaris*, communément appelé thym, appartient à la classification taxonomique indiquée dans le **tableau 01**.

Tableau 01 : Classification botanique du *Thymus vulgaris* L. (Goetz et Ghedira,2012).

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Spermaphyte</i>
Sous embranchement	<i>Angiosperme</i>
Classe	<i>Magnolopsida</i>
Sous- classe	<i>Métaclamydées</i>
Ordre	<i>Tubiflorale</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris</i>

Les noms vernaculaires de thymus sont : *Thymus vulgaris*, *Thym de jardins*, *farigoule*, *frigoule*, *barigoule*, *thym commun*, *thym cultivé* et *saater* ou *Zaater* (TEUSCHER et al.2012)

II. 1.3-Principale Utilisations du *thymus vulgaris*

Dans de nombreuses traditions, le thymus vulgarise, ou thymus, est largement utilisé pour ses propriétés culinaires et médicinales, le thymus est renommé pour ses vertus antiseptiques, antifongiques et antibactérienne, souvent employé sous forme de tisanes, d'huile essentielle ou de pommades pour traiter les infections.

Le thym possède un large spectre d'utilisation traditionnelles et m médicinales sont résumées dans le **tableau 02**.

Tableau0 2 : Principale Utilisations du *Thymus vulgaris*.

Partie utilisée	Indication	Mode d'emploi	Références
Plante entière	Antiseptique Antimicrobienne Antispasmodique	Infusion ou décoction	(Nickavare et <i>al.</i> 2005 ;pirbatouti 2013)
Feuilles et fleurs	Condiment Culinaire	Conservation des aliments et Empêchera la Formation des moisissures	(Miura et <i>al.</i> ,2002)
Feuilles	Fièvre La toux Les infections	Utilise comme une Poudre ou infusion	(El bouzidi et <i>al.</i> 2003)
Racine	Diarrhée	Décoction	(Pina-vaz et <i>al.</i> 2004)
Plante entière	Fièvre Maladie broncho- pulmonaires	Faire bouillir de l'eau avec une plante, mettre une serviette sur la tête et inhaler la vapeur dégagée, puis boire une tasse de cette décoction filtrée avant de se coucher	(Rasooli et <i>al.</i> 2006)

II. 2- *Ammi visnaga*

La plante *Ammi visnaga*, également connue sous le nom de *Noukha* en Algérie ou *Khella* dans certaines parties de l'Afrique du Nord, est une plante médicinale utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle de la région. Ses parties aériennes contiennent des composés actifs qui lui confèrent des propriétés médicinales (Imane et *al.*, 2016). Qui présente également d'autres synonymes tels que *Daucus visnaga* L. et *Visnaga aucooides*, appartient à la famille des *Apiacées* (Umbelliferae), qui comprend environ 3600 espèces à l'échelle mondiale (Chraka et *al.*, 2020). En Algérie, *Ammi visnaga* (L.) est largement utilisée dans le traitement traditionnel des maladies digestives et à des fins culinaires, bien que son étude scientifique soit limitée (Imane et *al.*, 2016). Cette plante dégage une légère odeur aromatique et a un goût très amer (Beltagy, 2015)

II. 2.1-Description botanique de *l'Ammi visnaga*

Ammi visnaga est une plante annuelle ou bisannuelle qui pousse à partir d'une racine pivotante. Cette racine est dressée et peut atteindre une hauteur maximale d'environ 1,0 mètre. Visuellement, la racine est épaissie et rappelle celle de la carotte. Les feuilles de cette plante mesurent jusqu'à 20 cm de long et varient généralement en forme, allant de l'ovale au triangulaire, mais elles sont disséquées en de nombreux petits segments linéaires ou en forme de lance. Les tiges de *l'Ammi visnaga* sont droites et présentent une ramification importante. (Hashim et al., 2014)

L'inflorescence se présente sous la forme d'une ombelle de fleurs blanches, très enflée à la base, qui devient ultérieurement ligneuse et est parfois utilisée comme cure-dents (Alaatabi et al., 2020). Les fleurs sont pentamères, tétracycliques avec une symétrie radiale, comportant cinq étamines et un ovaire inférieur constitué de deux carpelles unis. Le fruit est une structure ovale comprimée, composée de deux méricarpes et mesurant environ 3 mm de longueur (Hashim et al., 2014).



Figure 05 : Aspect botanique *d'Ammi visnaga* (Franceherbo,2024)

II. 2.2-Classification taxonomique

L'Ammi visnaga, communément appelé *Khella*, est une plante herbacée appartenant à la famille des Apiaceae, une famille riche en espèces aux usages aromatiques et médicinaux. *L'Ammi visnaga* appartient à la classification taxonomique indiquée dans le **tableau 03**

Tableau 03 : Classification taxonomique d'*Ammi visnaga* (Alam et al., 2018).

Règne	<i>Plantae- Plantes</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta – Plantes vasculaires</i>
Sous-division	<i>Spermatophyta – Plantes à graines</i>
Division	<i>Magnoliophyta – Plantes fleuries</i>
Classe	<i>Mangoliopsida – Dicotylédones</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Apiales.</i>
Famille	<i>Apiaceae / Umbelliferae – Famille de carottes.</i>
Genre	<i>Ammi L. - ammi.</i>
Espèce	<i>Ammi visnaga (L) Lam. – plante cure-dent.</i>

II. 2.3-Principale Utilisations d'*Ammi visnaga*

L'*Ammi visnaga*, ou Khella, est principalement utilisée pour ses propriétés médicinales. Elle est connue pour ses effets antispasmodiques, et ses composés actifs. L'usages traditionnels et médicinales de la plante est résume dans **le tableau 04**

Tableau 04 : Principale Utilisations d'*Ammi visnaga* (Khalil et al., 2020).

Partie utilisée	Principale utilisation
Poudre	Traitement des coliques rénales Soulagement des symptômes anginaux légers Traitement des crampes abdominales
Parties aériennes	Infusion pour traiter les maux de tête
Extraits	Traitement du vitiligo Traitement du psoriasis Utilisé comme agent lithotriptique

Usage général	<ul style="list-style-type: none"> - Dilatation des bronches, des voies urinaires et des vaisseaux sanguins sans affecter la pression artérielle - Traitement de soutien pour l'obstruction légère des voies respiratoires (asthme, bronchite spastique) - Traitement postopératoire des conditions associées aux calculs urinaires - Régulation des menstruations (emménagogue) - Traitement du diabète - Traitement des calculs rénaux
------------------	--

II. 3- *Mentha pulegium*

Le nom "pouliot" provient du latin « *pulegium* », qui lui-même dérive de « pulex », signifiant "puce", en référence à la capacité de la plante à éloigner ces insectes (**Gamisans et Jeanmonod, 1993**). La menthe pouliot, connue sous le nom vernaculaire arabe "fliyou", est largement utilisée en médecine populaire dans de nombreuses cultures (**Agnihotri et al., 2005**). Elle se divise en deux sous-espèces : « *Mentha pulegium ssp. Vulgaris* » et « *Mentha pulegium ssp. Pulegium* » (**Quézel et Santa, 1962**).

II. 3.1-Description botanique de *Mentha pulegium*

La famille des lamiacées, également connue sous le nom de labiées, comprend environ 258 genres et 6900 espèces, réparties de manière cosmopolite mais principalement concentrées dans le bassin méditerranéen (**Botineau, 2010**). Le genre « *Mentha* » regroupe entre 25 et 30 espèces présentes dans le monde entier (**Dorman et al., 2003**). Les menthes sont des plantes vivaces, herbacées, indigènes et très odorantes, appartenant à la famille des labiées (**Jahandiez et Marie, 1934**). Depuis l'antiquité, elles sont utilisées de manière très diversifiée et jouent un rôle important en thérapeutique (**Il Edrissi, 1982**).

Mentha pulegium L. est une plante à tiges dressées, fortement aromatique et à l'odeur intense. Les tiges, à section carrée, sont plus ou moins dressées, de couleur verdâtre ou grisâtre, et très ramifiées. Les feuilles, opposées et petites, sont ovales ou oblongues, presque entières (légèrement dentelées ou crénelées) et munies d'un court pétiole. Cette plante glabre mesure entre 10 et 30 cm de hauteur et possède des inflorescences composées de nombreux verticilles denses, feuillés et espacés (**Quézel et Santa, 1963**).



Figure 06 : Aspect botanique de *Mentha pulegium* (Crstian ,2020)

II. 3.2-Classification botanique de *Mentha pulegium L*

Selon (Guignard et Dupont, 2004), la classification botanique de *Mentha pulegium L*, communément appelée *menthe pouliot*, est indiqué dans **le tableau 05**

Tableau 05: Classification botanique de *Mentha pulegium L* (Guignard et Dupont, 2004).

Règne	<i>Végétal</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotrylédones</i>
Sous-classe	<i>Gamopétales</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Labiacées</i>
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>Mentha pulegium L</i>

II.3.2-Principale Utilisations *Mentha pulegium*

Voici un tableau récapitulatif des usages traditionnels de la plante «*Mentha pulegium* » selon les différentes formes utilisées :

Tableau 06 : Principale utilisation du *Mentha pulegium*.

Propriétés/Utilisations	Description	Sources
Propriétés calmantes et antispasmodiques	Utilisée par les Chinois pour ses propriétés calmantes et antispasmodiques.	(Kebissi, 2004)
Effet excitant	Considérée comme excitante par Hippocrate.	(Kebissi, 2004)
Effet antalgique	Notée pour son effet antalgique par Pline.	(Kebissi, 2004)
Troubles digestifs et insuffisance biliaire	Combat l'indigestion, les crampes, les gaz intestinaux, et est carminative. Efficace contre les ballonnements et les brûlures d'estomac (cholagogue).	(Baba Aissa, 2000)
Propriétés antimicrobiennes	Utilisée pour traiter le rhume, la bronchite, la tuberculose, la sinusite, le choléra, les intoxications alimentaires, les flatulences et les coliques intestinales.	(Zargari, 1990 ; Delille, 2007)
Propriétés insecticides	Utilisée pour éloigner les insectes.	(Bremness, 2001)
Usage externe	Appliquée pour les points douloureux des rhumatismes, et en compresses contre la névralgie faciale	(Gardès et al., 2003)

II. 4- *Zingiber officinale*

Le terme « *Gingembre* » est dérivé du mot anglais « *Ginger* ». Cette plante est également appelée « *Zingiberis* » en grec et « *Zingiberi* » en latin. Dans la médecine indienne, le *Zingiber officinale* est connu sous le nom de « *vishwabhesaj* », signifiant « remède universel

(Bode AM et Dong IF. 2011). Le *gingembre* faisait déjà partie des techniques de momification pratiquées dans l'Égypte antique. Cette plante condimentaire et médicinale, utilisée depuis plus de 3000 ans, est originaire de l'Inde. À partir de là, *le gingembre* s'est rapidement répandu grâce à son commerce, depuis toute l'Asie du Sud-Est jusqu'en Afrique de l'Ouest et aux Caraïbes (Gigon. F. 2010).

II. 4.1-Description botanique de *Zingiber officinale*

Le gingembre est constitué de deux parties : la partie souterraine, appelée rhizome, est noueuse et branchue, tandis que la partie aérienne est composée de feuilles et d'une tige d'environ un mètre de hauteur. Le rhizome, dont la pulpe intérieure est jaune, sert de réserve à la plante et assure sa survie. Les feuilles sont alternes, lancéolées et odorantes, et les fleurs sont jaunes avec une lèvre rouge. Les fruits contiennent peu de graines noires. *Le gingembre* se multiplie principalement par division de son rhizome. Il nécessite un environnement humide, chaud et ensoleillé pour croître, ce qui explique sa présence principalement dans les pays tropicaux (Ivan, 2005).



Figure .07 : Aspects *morphologiques* du *Zingiber officinale* (ROSCOE, 1807)

II. 4.2-Classification botanique de *Zingiber officinale*

La classification botanique du *gingembre*, scientifiquement connu sous le nom de *Zingiber officinale* est indiqué dans le **tableau 07**.

Tableau 07 : Classification botanique de *Zingiber officinale* (Botineau M .2010).

Régné	Végétale.
Embranchement	Spermatophyte.
Sous- embranchement	Angiospermes (<i>Magnoliphyta</i>)
Classe	<i>Monocotylédones (liliopsida)</i>

Ordre	<i>Zingibérales.</i>
Sous-classe	<i>Zingibérale</i>
Famille	<i>Zingiberaceae</i>
Genre	<i>Zingiber.</i>
Espèce	<i>Zingiber officinale Roscoe</i>

II. 4.3-Principale utilisation de *Zingiber officinale*

Le gingembre (*Zingiber officinale*) est largement utilisé pour ses multiples applications culinaires et médicinales. Voici les informations présentées dans le **tableau 08** :

Tableau 08: Principales utilisations du *Zingiber officinale*.

Propriétés /utilisations	Description
Carminatif	Aide à expulser les gaz intestinaux et à lutter contre les spasmes douloureux et les ballonnements. Soigne les douleurs, le rhumatisme et l'arthrite.
Réputation aphrodisiaque	Connu pour ses vertus aphrodisiaques, bien que sa réputation ne repose pas principalement sur ses propriétés.
Formes de préparation	Peut être consommé sous forme d'infusion, de jus, de teinture, de décoction et d'huile essentielle. L'huile essentielle est indiquée contre les flatulences et les douleurs rhumatismales.

II.5. *Cinnamomum verum*

Le cannelier est un arbre de la famille des Lauracées, des plantes souvent aromatiques et persistantes. Cette famille comprend 54 genres, dont le genre *Cinnamomum* qui renferme de nombreuses espèces selon leur provenance. Parmi les plus anciennes et connues, on trouve la cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*) et la casse ou cannelle de Chine (*Cinnamomum cassia*), une espèce voisine avec des propriétés thérapeutiques similaires, bien

que sa qualité soit inférieure. D'autres espèces moins couramment exploitées incluent la cannelle de Saïgon, la cannelle de Padang et la cannelle de Cochinchine, entre autres (**Domínguez Salinas, 2003; Edet, 2004**).

II.5.1- Description botanique de *Cinnamomum verum*

L'arbre du cannelier s'élève à une dizaine de mètres de hauteur et son tronc est recouvert d'une écorce épaisse et rugueuse. Après avoir été incisée, cette écorce est délicatement retirée et séchée. Ses branches nombreuses portent des feuilles vertes persistantes, opposées, qui mesurent entre 10 et 15 cm de long. Les petites fleurs blanchâtres émettent une légère odeur désagréable. Les fruits prennent la forme de baies ellipsoïdes d'environ 1,5 cm de long, de couleur bleu-noir (**Barbier, 2014**).



Figure 08 : Aspects morphologiques du *Cinnamomum verum* (Housing News , 2023)

II. 5.2-Classification botanique du *Cinnamomum verum*

La cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*) et la casse ou cannelle de Chine (*Cinnamomum cassia*) sont des espèces voisines avec des propriétés thérapeutiques similaires, bien que la cannelle de Chine soit de qualité inférieure. Il existe également d'autres espèces moins exploitées, comme la cannelle de Saïgon, la cannelle de Padang et la cannelle de Cochinchine, entre autres (**Domínguez Salinas, 2003; Edet, 2004**).la classification botanique est présenté dans le **tableau 09**

Tableau 09 : Classification botanique de *cannelier* (Edet, 2004)

Règne	Plante
Embranchement :	<i>Spermaphytes</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>dicotylédones</i>

Sous classe	<i>Magnolidées</i>
Ordre	<i>Laurales ou magoliales</i>
Famille	<i>Lauracées</i>
Genre	<i>Cinnamomum</i>
Espèce	<i>Cinnamomum verum</i>

II.5.3- Principale utilisation de *Cinnamomum verum*

Cinnamomum verum couramment utilisée pour ses arômes distinctifs et ses propriétés bénéfiques pour la santé, les diverses utilisations de *Cinnamomum verum* et leurs bienfaits présenté dans le **tableau 10**

Tableau 10 : Principale utilisations du *Cinnamomum verum*.

Utilisation	Bienfaits	Sources
Soigner les maux de l'hiver	Propriétés anti-inflammatoires et antioxydants, riche en minéraux et vitamines, renforce le système immunitaire, propriétés antivirales et antimicrobiennes	(Koh et al., 1998); (Kaloustian et al., 2008) (Brodowska et al., 2016)
Calmer les brûlures d'estomac et les problèmes de digestion	Traite les ballonnements, diarrhée, indigestions, nausées, vomissements, remontées gastriques, infections et inflammations de la flore intestinale, stimule les sécrétions gastriques	(Benzegguta, 2005)
Maintenir le taux de glycémie et le cholestérol	Aide à maintenir la glycémie et le cholestérol à des niveaux normaux	(Lee et al., 2003) (Lee et Dugoua , 2011)

Stimuler l'activité cérébrale et prévenir les maladies dégénératives	Aide à éliminer la tension nerveuse, prévient la maladie de Parkinson et d'Alzheimer	(Derabla et Zamouche, 2016)
Apaiser le stress, l'anxiété et lutter contre la fatigue	Réduit le stress et l'anxiété, combat la fatigue	(Lynck et al., 2009) (Bureau, 2010)

II.6. *Syzygium aromaticum*

Le Giroflier est un arbre originaire d'Indonésie et Madagasca (**BARBELET,2015**), situées dans l'archipel indonésien. Ses clous de girofle sont en réalité des boutons floraux. Ces boutons, d'abord verts, deviennent rouges à maturité, puis prennent une belle couleur brune au cours du séchage, qui s'effectue à l'air libre pendant un mois (**Adefegha et al., 2016**). Cette plante est connue par le nom : Giroflier.

II.6 .1. Description botanique de *Syzygium aromaticum*

C'est un grand arbre fruitier élancé, conique, mesurant en moyenne entre 10 et 12 mètres de hauteur, mais pouvant atteindre jusqu'à 20 mètres, avec une silhouette pyramidale et un tronc gris clair et ridé. (**BARBELET, 2015**)



Figure 09 : Aspects morphologiques du *Syzygium aromaticum*

(Citrosupomo, Gembong, 1985).

Aujourd'hui, il ressemble souvent à un arbuste car il est régulièrement taillé pour faciliter la cueillette. Ses feuilles, de 8 à 10 cm de long, sont coriaces, persistantes, opposées, pétiolées, ovales, avec des limbes lancéolés. La face supérieure des feuilles est vert rougeâtre, tandis que la face inférieure est vert sombre et légèrement ponctuée. Elles sont aromatiques et dégagent une forte odeur de clou de girofle lorsqu'on les froisse. Le pétiole, qui porte le limbe, mesure entre 0,5 et 1 cm de long. Les nervures sont nombreuses mais peu visibles, et les bords de la feuille sont lisses. À l'état adulte, les feuilles sont d'un vert foncé brillant, mais lorsqu'elles se développent, elles sont roses et semblent saupoudrées d'or (BARBELET, 2015).



Figure 10 : Feuilles jeunes et feuilles matures du giroflier (Angus ,2024).

II.6.2. Classification botanique de *Syzygium aromaticum*

Le Syzygium aromaticum, connu sous le nom de clou de girofle, appartient à la famille des myrtaceae . Voici la classification taxonomique complète représenté dans **le tableau 11**.

Tableau 11 : Classification botanique de *Syzygium aromaticum* (FAUCON M, 2012).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Magnoliophyta (= phanérogames)
Sous-embranchement	Magnoliophytina (= angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (= dicotylédones)
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	<i>Syzygium</i>
Espèce	<i>Syzygium. aromaticum</i>

II.6.3. Effet thérapeutique et Utilisation traditionnelle

Syzygium aromaticum agit comme un anesthésiant local, particulièrement efficace contre les douleurs dentaires. Il soulage également les douleurs musculaires et les rhumatismes, tout en possédant des propriétés anti-inflammatoires. En outre, il redonne de l'énergie et aide à lutter contre la fatigue, étant aussi un antidépresseur. Le clou de girofle est mentionné dans les écrits ayurvédiques pour ses usages contre les douleurs, la sciatique, les problèmes rhumatologiques, et il est utilisé comme antibactérien, antifongique et anesthésiant local pour traiter les plaies et les odontalgies (**BARBELET, 2015**). voici les principales utilisations de *Syzygium aromaticum* indiqué dans **le tableau 12**.

Tableau 12 : Propriétés et usage du *Syzygium aromaticum*

Utilisation interne	Utilisation externe
<p>Propriétés anti-inflammatoires : soulage les douleurs musculaires et les rhumatismes.</p> <p>Effets antibactériens : Apaise les infections urinaires.</p> <p>Bienfaits digestifs : Atténue divers maux d'estomac.</p> <p>Utilisation comme anesthésiant local</p> <p>- Soulagement de la toux: efficace contre les affections virales.</p>	<p>Propriétés antiseptiques : le girofle désinfecte les plaies.</p> <p>-Contre la mauvaise haleine : utilisé comme remède.</p> <p>- Contre les douleurs dentaires : efficace pour les maux de gorge et l'herpès labial.</p>

II.7. *Lavandula angustifolia*

Lavandula officinalis, également appelée *Lavandula angustifolia*, a été découverte par Linné. Le nom "lavande" vient du latin "lavare", qui signifie laver. L'adjectif "angustifolia" est dérivé du latin "angustus" (étroit) et "folia" (feuille) (**M.E. Lucchesi.2015**).

Les lavandes appartiennent à la famille des *Lamiaceae*, qui comprend des plantes dicotylédones herbacées à semi-ligneuses, totalisant 7534 espèces réparties en 236 genres

(Despinasse, 2015). Le genre *Lavandula* occupe une place importante au sein de cette famille. Ses espèces sont largement répandues dans la région méditerranéenne et sont cultivées en France, en Italie et en Espagne (Silva et al., 2015). *Lavandula angustifolia* est le seul membre du genre *Lavandula* officiellement reconnu comme plante médicinale et utilisé en phytothérapie moderne (Blažeković et al., 2010).

II.7.1-Description de *Lavandula angustifolia*

La lavande est un arbrisseau vivace et aromatique, à souche ligneuse et courte, originaire du bassin méditerranéen, pouvant atteindre jusqu'à 1 mètre de hauteur. Elle possède une racine pivotante et des rameaux dressés. Les tiges, mesurant de 20 à 50 centimètres, sont rameuses dès la base, allongées, grêles, blanchâtres et touffues (figure 11). Les feuilles, opposées, lancéolées, linéaires, aiguës, persistantes, aromatiques et velues, sont de couleur gris-vert et mesurent de 3 à 5 cm de long. La floraison a lieu durant l'été, produisant des fleurs mauves à bleu violacé portées par des tiges florifères en épi terminal très odorants. Les fruits, des akènes, contiennent une graine noirâtre (EcribanoB.,2003).



Figure 11 : Aspect morphologique de *Lavandula angustifolia* (Adam, 2006).

II.7.2 Classification taxonomique de *Lavandula angustifolia*

D'après Laib et Barkat, (2011), *Lavandula angustifolia* est classé comme suite :

Règne : <i>Plantes</i>
Sous règne : <i>plantes vasculaires</i>
Embranchement : <i>Spermaphytes</i>
Sous-embranchement : <i>Angiospermes</i>
Classe : <i>Dicotylédones</i>
Sous classe : <i>Dialypétales</i>

Ordre : *Lamiales (Labiales)*

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Lavandula*

Espèce : *Lavandula angustifolia Mill*

II.7.3- Effet thérapeutique et Utilisation traditionnelle

Utilisée depuis l'Antiquité pour ses vertus médicinales, la lavande était appelée en Provence "l'or bleu de la région" et était très prisée par les grands parfumeurs pour sa fragrance délicate, d'où son nom de "lavande fine". Durant les années de forte production, un hectare de plantation peut produire jusqu'à 25 litres d'huile (**Lobstein et Couic-Marinier, 2017**).

La lavande est bien connue pour son effet calmant. Associée à d'autres plantes sédatives, elle combat l'insomnie, l'irritabilité, les maux de tête et la dépression. Elle soigne également les indigestions et coliques, et élimine les ballonnements. Son action apaisante est efficace contre divers types d'asthme. L'huile essentielle de lavande est un précieux remède de premier secours. Elle est antiseptique, accélère la guérison des brûlures et des plaies, et calme les inflammations dues aux piqûres d'insectes.

Elle est utilisée pour traiter la gale et les poux, ainsi que pour soulager les maux de tête, détendre, tonifier le système nerveux et favoriser le sommeil. (**Ybert et Delesalleféat, 2001**).

II.8.1. *Citrus sinensis*

L'oranger est un arbre pouvant atteindre environ 10 mètres de hauteur, avec un feuillage vert sombre persistant et légèrement ailé. Ses fleurs blanches très parfumées donnent des fruits qui mettent 10 à 12 mois à mûrir. Ces fruits, de taille moyenne, sont sphériques et de couleur orange caractéristique (**Figure 12**). Il existe plusieurs variétés d'orangers, parmi les plus connues : *la Sanguine, Thomson Navel, Valencia Late, Washington Navel, Powell, Florida Pineapple, et l'orange portugaise*, etc. (**Loussert, 1989**).

II. 8.2. Description botanique de *Citrus sinensis*

Les Citrus sont des arbustes de couleur verte, mesurant de 3 à 15 mètres de hauteur, avec un bois très dur (**Ferhat et al., 2010**). Leurs feuilles sont cireuses et coriaces, généralement simples, souvent réduites à une seule foliole terminale de forme ovale-lancéolée à allongée (**Teuscher et al., 2005 ; Dupont et Guignard, 2007 ; Ferhat et al., 2010**). Les fleurs,

blanches, peuvent être solitaires ou groupées. Le fruit est une baie, ronde ou allongée, de taille très variable, pouvant peser jusqu'à un kilogramme (Teuscher et al., 2005 ; Ferhat et al., 2010). L'écorce du fruit (péricarpe) comprend une partie externe appelée « flavédo », constituée de l'épicarpe (ou « zeste »), qui est jaune, orangé ou rouge à maturité, et parsemée de nombreuses poches sécrétrices schizolysigènes remplies d'huile essentielle. Le mésocarpe externe entoure le mésocarpe interne, appelé « albédo », de couleur blanche, avec une texture plus ou moins spongieuse et d'épaisseur variable. L'épiderme interne, ou endocarpe, forme des poils renflés et charnus qui composent la pulpe sucrée et comestible (Teuscher et al., 2005 ; Dupont et Guignard, 2007).



Figure 12 : Feuilles, fleurs et fruits d'oranger (LOUSSERT, 1989).

II.8.3 Classification taxonomique de *Citrus sinensis*

Taxonomiquement, les *Citrus sinensis* appartient à :

Règne : <i>Végétal.</i>
Embranchement : <i>Spermaphytes.</i>
Sous-embranchement : <i>Angiospermes.</i>
Classe : <i>Eudicotylédones.</i>
Ordre : <i>Rutales.</i>
Sous- classe : <i>Rosidées.</i>
Famille : <i>Rutaceae.</i>
Genres : <i>Poncirus, Fortunella, et Citrus.</i> (Guignard, 2001)

II.8.4- Effet thérapeutique et Utilisation traditionnelle

Citrus sinensis a de nombreuses applications thérapeutiques et traditionnelles. Les principaux effets sont présentés dans **le tableau 13**.

Tableau 13 : Effet thérapeutique et Utilisation traditionnelle du *Citrus sinensis*

Utilisation du <i>Citrus sinensis</i>	Effet thérapeutique
Jus d'orange (Ferhat et al., 2010)	Antioxydant : Riche en vitamine C et flavonoïdes, il protège les cellules contre les dommages oxydatifs. Renforcement immunitaire : Aide à renforcer le système immunitaire et à combattre les infections respiratoires.
Huile essentielle (écorce) (Caissard et Baudino, 2012).	Digestif : Stimule l'appétit, améliore la digestion, soulage les ballonnements et les indigestions. Antistress et anxiolytique : Utilisée en aromathérapie pour réduire le stress et l'anxiété.
Extraits (écorce et feuilles) (Bruneton, 2001).	Anti-inflammatoire : Réduit l'inflammation et soulage les douleurs. Antimicrobien : Montre une activité antimicrobienne contre divers pathogènes, utile pour traiter certaines infections.
Huile essentielle (remède de premier secours) (Caissard et Baudino, 2012).	Antiseptique : Accélère la guérison des brûlures et des plaies, calme les inflammations dues aux piqûres d'insectes. Traitement de la gale et des poux : Efficace pour traiter ces conditions. Soulagement des maux de tête : Aide à détendre, tonifier le système nerveux et favoriser le sommeil.

Chapitre III

Activités biologiques des huiles essentielles.

Depuis l'antiquité, l'homme a utilisé diverses plantes pour le traitement de maladies infectieuses communes ainsi que pour leur parfum et leur saveur (**Bauer et al., 2001; Ríos et Recio, 2005; Zsuzsanna et al., 2010**). En effet, tout au long des siècles, les plantes médicinales et aromatiques ont toujours fourni une source stable de médicaments pour les populations. Elles ont été utilisées par les premiers Egyptiens et pour des siècles par les pays asiatiques et plusieurs civilisations telle que les cultures indigènes, dans les pays arabes, la civilisation grecque ou chinoise (**Cowan, 1999**).

Au cours des dernières décennies, les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques ont suscité un intérêt croissant en raison de leurs nombreuses propriétés bénéfiques (**Bandoniène et al., 2000**). En effet, ces substances naturelles présentent une large gamme d'activités biologiques (**Marouf et Tremblin, 2009**)

III.1- Activité antibactériennes.

III.1.1- Infections nosocomiales

Une infection est par définition, 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 . L'infection est dite nosocomiale si elle apparaît au cours ou à la suite d'une hospitalisation et si elle était absente à l'admission à l'hôpital (ou plus généralement dans un lieu de soins), ce critère est applicable à toute infection (**Elizabeth.F, 2002**).

Lorsqu'une infection survient plus de 48heures après l'admission d'un patient dans une unité de soins, elle est qualifiée d'infection nosocomiale (IN). De plus, toute infection du site opératoire survenant dans les 30 jours suivant une intervention chirurgicale est généralement considérée comme nosocomiale. Ce délai est étendu à un an pour les infections associées à la mise en place de matériel prothétique telles que les prothèses articulaires, les dispositifs de fixation métalliques ou les implants, comme indiqué par (**Chabni et al., 2019 ; Popi , 2003**).

Les IN les plus couramment observées incluent les infections des voies urinaires (IVU), les infections du site opératoire, les infections respiratoires, et les septicémies, parmi lesquelles l'infection urinaire est la plus prévalent, avec une incidence d'environ 40 % (**Rahimi-Bashar et al., 2018**).

III.1.1.1- Agents pathogènes

Les infections nosocomiales sont souvent causées par des bactéries commensales, qui les bactéries sont souvent utiles au fonctionnement normal du corps humain, donc la flore Bactéries qui vivent dans notre tube digestif (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*...) est indispensable à la digestion; en revanche, si pour une raison ou une D'autres bactéries peuvent s'échapper dans la cavité abdominale lors d'interventions chirurgicales. Ils peuvent devenir dangereux voire pathogènes ou saprophytes. Principal les organismes responsables étaient des bacilles Gram négatif (53 %) et des coques Gram positif. (33 %): *E. coli* (21 %), *Staphylococcus aureus* (16 %), *Pseudomonas aeruginosa* (11 %), *Enterococcus spp.* (8 %). Ces quatre micro-organismes représentent 56% du nombre total de micro-organismes Observé dans les infections nosocomiales (**Abdelli et al., 2019**)

Les bactéries ne sont pas les seuls pathogènes, notamment les champignons, *Aspergillus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Cryptosporidium*, les virus comme l'hépatite B et C, le VIH, Ebola, la grippe, l'herpès et la varicelle, le virus *syncytial* des voies respiratoires (VRS), *le rotavirus*, l'entérovirus et le cytomégalovirus, ainsi que des parasites tels que *Giardia* et les acariens de la gale, peuvent également être des vecteurs d'infections nosocomiales (**WHO, 2002**).

III.1.1.2- Modes de transmission

III.1.1.2.1- Voie endogène :

Le malade s'infecte avec ses propres germes lors d'un acte invasif et / ou en raison d'un acte invasif. Fragilité particulière (antibiotique diagnostic, état d'immunodépression). On parle alors d'auto-infection. Cette flore est constituée des microorganismes abrités par le corps de ce patient, et peut être d'origine digestive, respiratoire, ou urogénitale (**Phaneuf, 2010**).

III.1.1.2.2- Voie exogène :

Les bactéries d'intérêt ont été obtenues à partir de l'environnement du patient.

- **Hétéro-infection :**

Dans ce cas, les germes qui provoquent une infection hospitalière proviennent d'un autre patient et la transmission est souvent transmise par les mains des agents de santé qui travaillent avec plusieurs patients, transmettant les germes d'une personne à une autre. Ces infections sont appelées «Croisées». Il s'agit de la méthode de décontamination la plus courante pendant l'épidémie. Cependant, certaines bactéries, comme la tuberculose, sont

aéroportées. Il est également rare que des bactéries se transmettent par contact direct entre deux patients (**Mergoud, 2004**).

- **Xéno-infection :**

Il s'agit d'infections qui surviennent sous des formes endémiques ou épidémiques. Dans la population extrahospitalière ; le mode de transmission est un peu différents, Dans ce cas, l'agent pathogène s'est propagé par des personnes provenant de: L'extérieur (personnel soignant, visiteurs, sous-traitants) ainsi que lui-même présentent des pathologies infectieuses déclarées ou en voie de latence. Ce Cependant, le mode de transmission ne doit pas être ignoré car il peut être dévastateur Pour les patients particulièrement vulnérables; Ainsi; Les professionnels de santé sont la vaccination contre la grippe est de plus en plus encouragée (**Mergoud, 2004**)

- **Exo-infection :**

Cette infection est associée à des dégâts techniques (désinfection inefficace, filtre air non stérile, eau contaminée). Matériel à usage paramédical ou domestique utilisés avec des patients; ils sont susceptibles d'être contaminés et peuvent Cela conduit à de fréquentes infections nosocomiales. (**Ouhibi, 2015**).

III.1.1.2.3. 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 personnes âgées et surtout les nouveaux nés prématurés. Ils sont donc exposés à une Infection Nosocomiale (**Berche et al., 1991**).

III.1.2. Les antibiotiques

Un « antibiotique » est toute substance naturelle produite par des organismes vivants ; Une substance synthétique ou produite par un organisme vivant ou une substance chimique Semi-synthétiques obtenus par modification chimique de molécules de base naturelles (**Auckenthaler et al., 1995**)

Le terme « antibiotique » se limite aux molécules antimicrobiennes qui agissent en empêchant la prolifération bactérienne (molécules bactériostatiques) ou en détruisant les bactéries (molécules bactéricides ou bactériolytiques) (**Clos, 2012**).

Par différents modes d'action, les antibiotiques peuvent agir sur: Synthèse du peptidoglycane et de la paroi cellulaire (β -lactamine, glycopeptide, fosfomycine), de la membrane cellulaire (polymyxine), synthèse des protéines (macrolides et médicaments apparentés, aminoglycosides, phénols, tétracyclines), synthèse des acides nucléiques (quinolones, rifamycines, nitroimidazole) et métabolisme intermédiaire (sulfamides, triméthoprime) **(Demoré et coll.; 2012)**

III.1.3. La résistance bactérienne aux antibiotiques

On connaît depuis longtemps la résistance des bactéries aux antibiotiques, et son impact clinique survient très peu de temps après le début de l'antibiothérapie. Elle est l'objet de nombreuses publications et de nombreuses revues qui témoignent de son évolution constante. Les avancées dans la connaissance de la morphologie et du métabolisme bactérien ont permis de mieux comprendre ses mécanismes. **(Mammeri et al., 2022)**

La résistance naturelle ou intrinsèque correspond à la capacité de résister à la présence d'un antibiotique pour toutes les souches d'une espèce ou d'un genre bactérien. La Société française de Microbiologie (SFM) définit la résistance naturelle comme la caractéristique d'une espèce bactérienne qui se traduit par des concentrations minimales inhibitrices (CMI) supérieures à la concentration critique des tests de sensibilité pour l'antibiotique concerné.

La résistance acquise est une propriété de souche, contrairement à la résistance naturelle, qui est une propriété d'espèce ou de genre. La capacité de cette dernière à supporter une concentration d'antibiotique bien supérieure à celle des autres souches de la même espèce. Par mutation chromosomique ou par acquisition de matériel génétique exogène, elle peut être acquise **(Prescott, 2000)**.

III.1.4. Les huiles essentielles comme agents antibactériens

On connaît les caractéristiques microbiologiques des plantes aromatiques et médicinales. Cependant, la première découverte de l'effet des huiles essentielles sur les bactéries remonte à 1881 avec Delacroix **(Boyle, 1995)**. Depuis lors, plusieurs huiles ont été identifiées comme ayant une action antibactérienne **(Burt, 2004)**. Elles ont un très large champ d'action, car elles ciblent une variété de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. De plus, cette activité varie selon les huiles essentielles et les souches bactériennes **(Kalembe et Kunicka, 2003; Oussou, 2009; Avlessi et al, 2012)**.

Selon **Dorman et Deans(2000)** et **(Ultee et al. ,2002)**, l'activité biologique d'une huile essentielle est influencée par sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés

principaux (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques), et leurs effets synergiques. Les phénols (thymol, carvacrol et eugénol), les alcools (α -terpinéol, terpinène-4-ol et linalol), les aldéhydes, les cétones, et plus rarement les terpènes sont des composés chimiques de plus grande efficacité et de plus large spectre (**Cosentino et al., 1999; Dorman et Deans, 2000**).

Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif. Toutefois, les bactéries à Gram négatif paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la nature de leur paroi cellulaire (**Burt, 2004**). La bactérie reconnue comme la moins sensible à leur effet reste néanmoins les bactéries à Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa* (**Dorman et Deans, 2000**).

En réalité, cette bactérie est résistante aux agents biocides, en lien avec la nature de sa membrane externe. Elle est constituée de lipopolysaccharides qui créent une barrière qui ne peut pas être attaquée par des composés hydrophobes. En la présence d'agents qui perméabilisent la membrane externe entraîne l'activation de substances inactives contre *Pseudomonas aeruginosa* (**Mann et al, 2000**). Cette variété semble être très résistante à de nombreuses huiles essentielles (**Hammer et al, 1999; Deans et Ritchie, 1987**).

III.1.4.1. Mode d'action des huiles essentielles

Il n'est pas évident comment les huiles essentielles agissent sur les cellules bactériennes (**Kalemba et Kunicka, 2003; Burt, 2004**).

En raison de la diversité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas liée à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action cellulaires. Comme leur composition chimique est complexe, tout laisse supposer que ce mode d'action est assez complexe et difficile à comprendre du point de vue moléculaire. Chacun des composants des huiles essentielles a probablement son propre mécanisme d'action.

Les huiles essentielles agissent principalement en fonction du type et des propriétés des composants actifs, notamment leur capacité à être hydrophobes, ce qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane bactérienne. Cela peut entraîner une modification de la structure de la membrane (**Cox et al, 2000; Carson et al, 2002**).

Leur action se déroule, en général, en trois étapes:

- L'huile essentielle attaque la paroi bactérienne, ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité et la perte des composants cellulaires.
- La cellule est acidifiée à l'intérieur, ce qui entrave la production d'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Le matériel génétique est détruit, ce qui entraîne la mort de la bactérie (**Daferera et al., 2003**) (**figure 13**).

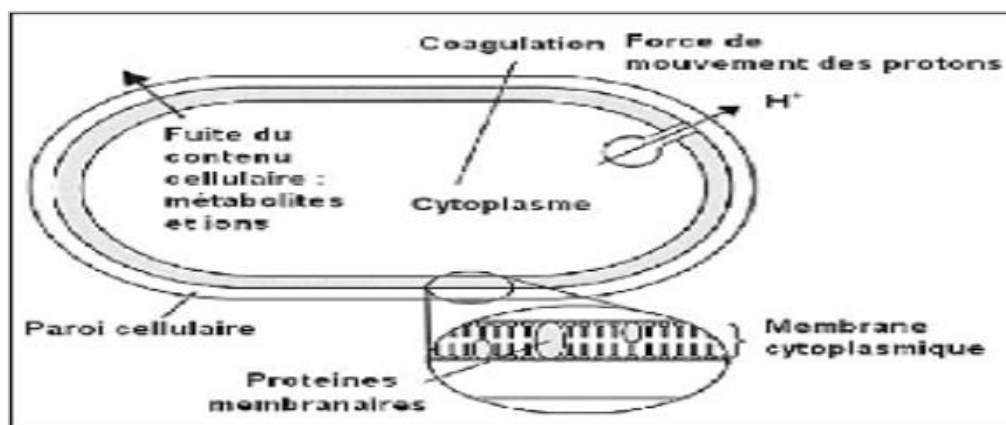


Figure 13: Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule Bactérienne (Burt, 2004).

III.2. Activité antioxydante

III.2.1. Le stress oxydatif

Un antioxydant est un élément ou un composé qui empêche la dégradation, les dégâts, ou la destruction par l'oxydation. En bloquant ou en retardant les effets du stress oxydatif, ces composés bioactifs assurent une protection contre celui-ci. Les dégâts oxydatifs provoqués par les organismes réactifs de l'oxygène (ROS).

(**Soumya et Jayanthi .2020**), les antioxydants exploitent diverses approches pour éliminer les radicaux libres, notamment en inhibant la production de radicaux libres, en capturant la molécule d'oxygène, et en chélatant les pro-oxydants métalliques.

Les HE présentent un pouvoir antioxydant très marqué grâce à ces constituants actifs tel que l'eugénol, le thymol Les résultats déjà publiés révèlent que les huiles essentielles sont une bonne source d'antioxydants naturels. (**Randriaanarivelo, 2010**).

III.2.2. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, caractérisée par la présence d'un électron non apparié. Ce déséquilibre électronique est temporaire et est généralement résolu par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de l'électron libre vers une autre molécule (Afonson *et al.*, 2007). En tant qu'accepteur ou donneur d'électrons, les radicaux libres possèdent la propriété d'être extrêmement réactifs (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Cette réactivité chimique varie en fonction de la molécule considérée, mais la plupart des radicaux libres sont des oxydants puissants (Goudable et Favier, 1997). Toute réaction impliquant l'oxygène moléculaire et un système réducteur de transfert d'électrons peut libérer des radicaux (Barouki, 2006). En conséquence, le terme d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) est préféré à celui de radicaux libres, car il reflète mieux la nature inévitable de ces espèces chimiques dans le contexte biologique (Goudable et Favier, 1997). La production d'ERO est permanente et physiologique, étant directement liée à la consommation d'oxygène moléculaire par l'organisme (Koechlin-Ramonatxo, 2006)

Le dioxygène est susceptible de récupérer quatre électrons, en présence de rayonnements, de métaux ou d'enzymes, il est capable de capter un électron pour donner le radical superoxyde, qui est un radical modérément réactif. Le monoxyde d'azote (NO) interagit avec l'anion superoxyde pour donner le peroxyde d'azote, composé extrêmement réactif et toxique (Barouki, 2006). Les principales ERO : l'oxygène singlet O_2 , l'anion superoxyde O_2^- , le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyle OH et l'ozone O_3 (Bensakhria, 2018).

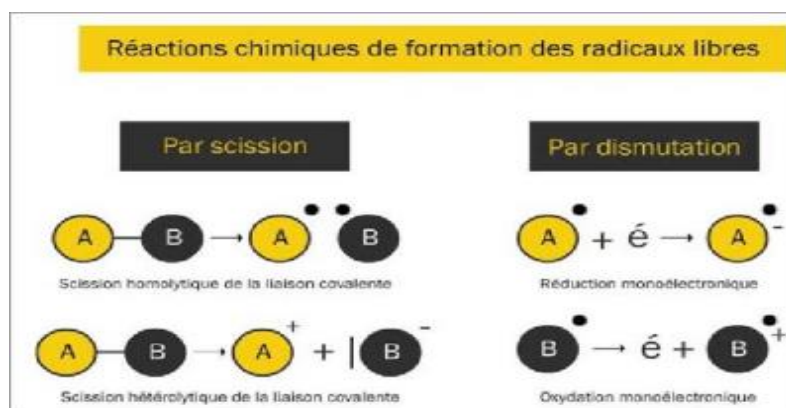


Figure 14: Réactions de formation des radicaux libres (Bensakhria, 2018).

III.2.3. Les antioxydants

Les antioxydants sont définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou inhiber l'oxydation de ce dernier (Bensakhria, 2018). Ceux sont des molécules de défense présentes dans la cellule,

notamment le glutathion, les vitamines E et C, la bilirubine, l'acide lipoïque, et des enzymes comme la catalase, la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, les peroxyrédoxines... elles ont la capacité de neutraliser les radicaux libre et empêcher leur accumulation (**Barouki, 2006**).

Chapitre IV

Matériel et Méthodes

IV.1. Matériel végétal

IV.1.1. Mixture traditionnelle à base de plantes

La mixture testée dans notre travail est utilisée traditionnellement dans la région de Mostaganem dans le traitement de quelques infections. Elle nous a été fournie par le professeur Bahri Fouad. Elle est composée de huit plantes : *Thymus vulgaris* (زعتر), *Ammi visnaga* (نوخة), *Menthapulegium* (فليو), *Zingibe officinale* (سكنجبير), *Cinnamomumverum* (قرفة), *Syzygiumaromaticum* (قرنفل), *Lavandulaangustifolia* (خزامة) et *Citrus sinensis* (تشينة). Ces plantes ont été achetées du commerce et la préparation de la mixture a été faite par le professeur Bahri Fouad.

IV.2. Extraction de l'huile essentielle par Hydrodistillation :

L'extraction de l'huile essentielle de la mixture a été effectuée par la méthode d'hydrodistillation à l'aide d'un hydrodistillateur de type Clevenger (**figure 15**). Cela consiste à introduire 100 g de matériel végétal dans un ballon de 2 Litres contenant de l'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 3H à l'aide d'une chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle, traversent le réfrigérant et se condensent ainsi avant de chuter dans une ampoule de décantation, l'huile se sépare par la suite de l'eau par différence de densité. L'huile obtenue est conservée à une température de 0°C dans des tubes en verre opaques, fermés hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière jusqu'à son usage. (Abdelli et al., 2019)

IV. 3. Calcul du rendement

Selon les normes AFNOR 2000, le rendement en huile essentielle (RHE) est défini comme la masse d'huile essentielle (M') obtenue après extraction en pourcentage de la masse de matière végétale utilisée (M). Ce rendement est exprimé en pourcentage et peut être calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = M' / M \times 100$$

Dans cette formule :

RHE : représente le pourcentage de rendement en huile essentielle.

M' : correspond à la masse d'huile essentielle obtenue (en grammes).

M : est la masse en grammes de matière végétale sèche utilisée.

Grâce à cette formule, le rendement en huiles essentielles pendant le processus d'extraction peut être calculé avec précision sur la base de normes établies.

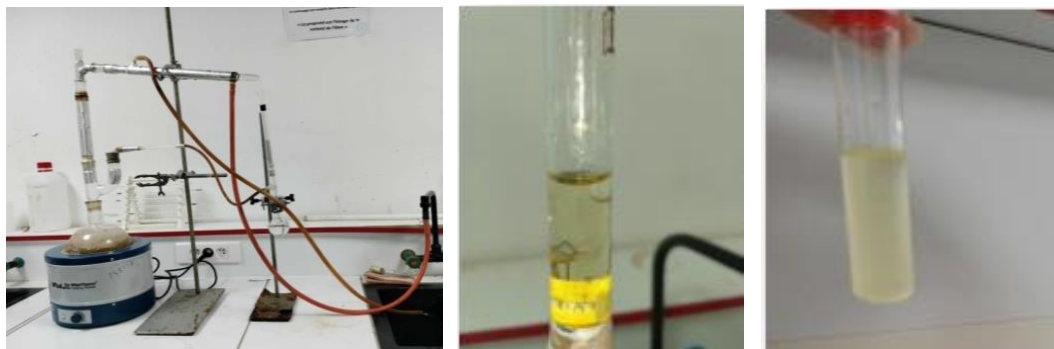


Figure 15 : Hydrodistillateur de type Clevenger pour l'extraction de l'huile essentielle

IV.4. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est une étape essentielle permettant d'identifier les diverses familles de composés chimiques présents dans les plantes étudiées. Ce processus implique la réalisation de tests phytochimiques qualitatifs, qui reposent sur des réactions de coloration ou la formation de complexes insolubles par le biais de réactions de précipitation spécifiques à chaque classe de principes actifs. L'objectif principal est d'extraire les composés de la matière végétale en utilisant des solvants de polarité croissante. L'analyse phytochimique a été réalisée sur la mixture ; en utilisant les tests standards décrits par **Bruneton (1993)**, **Sofowora (1993)** et (**Trease et Evans, 2002**).

IV.4.1. Alcaloïdes

- **Préparation de la solution à analyser**

Dans un erlenmeyer de 250 ml, 10 g de poudre végétale sont introduits. Une solution d'acide sulfurique (H_2SO_4) à 10% est préparée, dont 50 ml sont ajoutés à l'erlenmeyer contenant la poudre végétale. L'ensemble est soumis à une macération de 24 heures à température ambiante ; Le macéré est filtré et lavé à l'eau distillée de manière à obtenir 50 ml de filtrat.

Caractérisation

- 1 ml de filtrat est prélevé et introduit dans un tube à essai auquel 5 gouttes du réactif de Mayer (**annexe n°2**) sont ajoutées ;
- 1 ml de filtrat est prélevé et introduit dans un tube à essai auquel 5 gouttes du réactif de Wagner (**annexe n°2**) sont ajoutées.

La présence d'alcaloïdes est caractérisée par la formation d'un précipité de couleur blanc-jaunâtre pour la première réaction et brun pour la deuxième.

Test de confirmation

Dans un erlenmeyer, une quantité de 0,3 g de poudre végétale est combinée avec 3 ml d'acide chlorhydrique (HCl) dilué à 5%. Après agitation pendant 30 minutes, le mélange est filtré. Un échantillon de 1 ml du filtrat est ensuite transféré dans un tube à essai et mélangé avec quelques gouttes de réactif de Mayer. La présence d'alcaloïdes est confirmée par l'apparition d'un précipité ou d'une opacité blanche.

IV.4.2. Polyphénols

- **Préparation de la solution à analyser**

5 g de poudre végétale sont introduits dans 100 ml d'eau distillée bouillante contenue dans un erlenmeyer de 250 ml. Après une infusion de 15 min, la suspension est filtrée et rincée avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 100 ml d'infusé à 5%.

Caractérisation

IV.4.2.1. Tanins

- **Réaction de coloration**

5 ml d'infusé à 5% sont introduits dans un tube à essai auquel 1 ml d'une solution aqueuse diluée de chlorure de fer (III) (FeCl_3) à 1% est ajouté. La présence de tanins est caractérisée par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

Différenciation des tanins (réaction de Stiasny)

Dans un volume de 30 ml d'infusion à 5%, 15 ml de réactif de Stiasny (voir annexe n°3) sont introduits. Le mélange est ensuite chauffé à 90°C dans un bain-marie pendant environ 15 minutes. La formation d'un précipité rose de manière significative indique la présence de tanins catéchiques. Après filtration du mélange, une saturation est réalisée avec 5 g d'acétate de sodium (CH_3COONa), suivi de l'addition de 1 ml d'une solution à 1% de chlorure de fer (III) (FeCl_3). L'apparition d'une coloration bleu-noire confirme la présence de tanins galliques qui n'ont pas réagi avec le réactif de Stiasny.

IV.4.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes, pigments naturels, sont répandus dans les plantes et influent sur leur coloration. Leur diversité structurale suscite des études pour comprendre leurs propriétés biologiques. Ces composés phénoliques contribuent à l'attrait visuel des plantes en colorant fleurs, fruits et feuilles.

- **Anthocyanes**

A 5 ml d'infusé présentant une coloration plus ou moins foncée, 5 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) à 10% puis 5 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) à 50% sont ajoutés. Une coloration s'accroît par acidification puis virant au bleu violacé en milieu basique, conclut à la présence d'anthocyanes.

- **Réaction à la cyanidine**

5ml d'infusé sont introduits dans un tube à essai auquel sont ajoutés 5 ml d'alcool chlorhydrique (alcool à 95°, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volume de 5 ml) et 1 ml d'alcool isoamylique puis quelques copeaux de magnésium. Il se produit une réaction de crépitation pendant quelques minutes.

L'observation d'une coloration variant du rose orangé (flavones) au rouge (flavonols, flavanolols) dans la phase supérieure d'alcool isoamylique indique la présence de flavonoïdes libres, également appelés génines. Les colorations obtenues sont généralement moins prononcées en présence d'hétérosides flavoniques. En revanche, les réactions sont négatives en présence de chalcones, dihydrochalcones, aurones, catéchines et isoflavones

- **Leucoanthocyanes**

La réaction de la cyanidine est effectuée sans ajout de copeaux de magnésium avec chauffage au bain-marie pendant 15 min. L'apparition d'une coloration rouge cerise ou violacée indique une réaction positive. Une teinte brun-rouge est observée en présence de catéchols.

IV.4 .3. Dérivés anthracéniques

Préparation de la solution à analyser

- **Extrait chloroformique**

A 1 g de poudre végétale, un volume de 10 ml de chloroforme est ajouté. Le mélange est chauffé au bain-marie pendant 3 min puis est filtré à chaud et complété à 10 ml si nécessaire.

➤ **Hydrolysât**

Pour préparer la solution, une fraction du résidu provenant de la poudre épuisée par le chloroforme est combinée avec 10 ml d'eau distillée et 1 ml d'acide chlorhydrique concentré. Le mélange est chauffé dans un bain-marie à ébullition pendant 15 minutes, puis refroidi sous un courant d'eau et filtré. Enfin, la solution est ajustée à un volume final de 10 ml en ajoutant de l'eau distillée

Caractérisation

➤ **Dérivés anthracéniques libres (réaction de Bornträger)**

1 ml d'extrait chloroformique est introduit dans un tube à essai auquel 1 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) dilué à 50% est ajouté, le mélange est agité. Une coloration plus ou moins rouge indique la présence d'antraquinones libres.

➤ **Dérivés anthracéniques combinés**

• **O-Hétérosides**

Pour l'analyse, 5 ml d'hydrolysât sont combinés avec 5 ml de chloroforme, puis la phase organique est isolée et transférée dans un tube à essai. À ce mélange, 1 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) dilué est ajouté et le tout est soigneusement agité. La phase aqueuse est préservée pour l'étape suivante. Une réaction positive se manifeste par une coloration rouge de diverses intensités. En cas de réaction négative ou faiblement positive, une recherche approfondie est entreprise pour détecter les O-hétérosides à génine réduite.

• **O-hétérosides à génine réduite**

Un aliquote de 5 ml d'hydrolysât est supplémenté avec 3 à 4 gouttes de solution de chlorure ferrique (FeCl₃) à 10%. Le mélange réactionnel est incubé au bain-marie pendant 4 minutes, puis refroidi et extrait au chloroforme (5 ml). La phase organique est récupérée et traitée avec 1 ml d'hydroxyde d'ammonium dilué sous agitation. En présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthrones, une coloration intense se développe dans la phase aqueuse ammoniacale.

• **C-hétérosides**

Lors de la caractérisation des O-hétérosides, la phase aqueuse conservée est traitée avec 10 ml d'eau distillée, suivie de l'addition de 1 ml de FeCl₃ à 10%. Le mélange est chauffé dans un bain-marie pendant 30 minutes, puis refroidi et agité avec 5 ml de chloroforme. La phase

chloroformique est séparée et transférée dans un tube à essai, où 1 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) dilué est ajouté et agité. Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines de C-hétérosides.

IV.4.4. Autres caractérisations

- **Préparation de la solution à analyser**

Un décocté à 10% est préparé en introduisant 10 g de poudre végétale dans un erlenmeyer de 250 ml contenant 100 ml d'eau distillée. Le mélange est porté à ébullition pendant 15 min.

IV.4.4.1 Composés réducteurs

5 ml de décocté aqueux à 10% introduit dans un bêcher est évaporé au bain-marie jusqu'à sec. Le résidu est repris avec 1 ml de réactif de Fehling (0.5 ml de réactif A + 0.5 ml de réactif B). L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs

IV.4.4.2. Oses et holosides

5 ml de décocté aqueux à 10% introduit dans un bêcher est évaporé au bain-marie jusqu'à sec. Le résidu est repris avec 2 à 3 gouttes de H₂SO₄ concentré puis 3 à 4 gouttes d'alcool saturé avec du thymol 5 min après. Le développement d'une coloration rouge caractérise les oses et les holosides.

IV.4.4.3. Mucilages

Dans un tube à essai, 1 ml de décocté aqueux à 10% et 5 ml d'éthanol absolu sont introduits. L'obtention d'un précipité floconneux par mélange après 10 min, indique la présence de mucilages.

IV.4.4.4. Hétérosides cyanogénétiques

1 g de poudre végétale est introduit dans un tube contenant 5 ml d'une solution de même volume d'eau et de toluène. Un papier picrosodé imbibé de réactif de Guignard (**annexe n°3**) est alors déposé dans le tube. L'apparition d'une coloration rouge indique la présence d'hétérosides cyanogénétiques.

IV.5. Procédés d'étude microbiologique

IV.5.1. Souches bactériennes testées

Les cinq souches utilisées dans notre étude nous ont été fournies par Dr Boussena. Ces souches ont été isolées, identifiées et caractérisées génétiquement (**Boussena A. 2024**) (**Tableau 14**).

Tableau 14 : Nature des souches utilisées

<i>Souches</i>	<i>Gram</i>	Séquence ID:	Source
<i>Escherichia coli</i>	<i>Positive</i>	ON653022.1	Boussena, 2024
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Négative</i>	KJ819583.1	
<i>Enterobacter homaechei</i> <i>sub sp Xiangfangensis</i>	<i>négative</i>	MG923793.1	
<i>Enterobacter auxiensis</i>	<i>négative</i>	OP068064.1	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Positive</i>	OP068064.1	

IV.5.2 Milieux de culture utilisés :

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

- Bouillon nutritif ;
- gélose nutritive(GN)
- milieu Mueller Hinton (M.H) liquide et solide

IV.5.3. Préparation de l'inoculum

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

IV.5.4. Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des agents antibactérienne standards

La sensibilité bactérienne aux antibiotiques a été évaluée par diffusion de disque sur milieu gélosé (NCCLS, 1997). Des suspensions bactériennes standardisées à 10^8 UFC/mL (**Brahmi et al., 2014**) dans un volume de 100µl ont étéensemencées par étalement sur milieu gélosé Mueller Hinton (**Tableau 15**). Utilisez ensuite une pince stérile pour placer le disque d'antibiotique sur la surface du milieu correspondant.

Dans le même temps, des témoins ont été utilisés pour contrôler la croissance des souches testées. Fermer la boîte de Pétri et laisser diffuser 1 heure à température ambiante. Ils ont ensuite été incubés à 37°C pendant 24 heures. Les expériences ont été répétées trois fois pour chaque bactérie.

La lecture des résultats a été faite par la mesure de la zone d'inhibition, qui est représentée par une auréole formée autour de chaque disque où aucune croissance n'est observée.

(Mammeri *et al.*, 2022)

Tableau 15 : Liste des antibiotiques utilisés.

Antibiotique	Sigle	Charge du disque
Oxytétracycline	OXI	5 µg
Ceftriaxone	F ₃₀₀	300 µg
Ciprofloxacine	CN ₁₂₀	10 µg
Amikacine	AK ₁₀	30 µg

IV.5.5. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

IV.5.5.1- Technique d'aromatogramme (méthode de Vincent)

La réalisation de cette méthode repose sur le principe de d'aromatogramme (NCCLS, 1997). Des disques stériles de papier Wattman de 6 mm de diamètre ; contenant 5 µL d'huile essentielle à tester (Arabi *et al.*, 2017). Sont déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface d'un milieu gélosé approprié pour chaque souche, préalablement ensemencé avec 100 µl de suspension microbienne dont la turbidité a été ajustée à 10⁸ UFC/ml (Haddouchi *et al.*, 2009). Des témoins ont été utilisés comme contrôle négatif. Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 1H avant d'être incubées à 37°C pendant 24H.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition formée autour de chaque disque. L'importance des diamètres des zones reflète l'impact de l'huile essentielle sur les souches testées.

IV.5.5.2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) contre les souches bactériennes a été effectuée en utilisant la méthode de microdilution en milieu liquide décrite par (**Sharma et al., 2020**). Les solutions mères d'huile essentielle ont été préparées en les dissolvant dans du diméthylsulfoxyde (DMSO à 10%). Des dilutions successives par progression géométrique à base de 2 de chaque solution mère ont été réalisées dans des microplaques de 96 puits en utilisant du bouillon Mueller Hinton (MHB), afin d'obtenir les dilutions suivantes : (5 /1.25/0.62.... /0.004) La gamme de concentrations finales d'huile essentielle utilisée variait de 5mg/mL à 0.004mg/mL

Chaque puits de microplaque contenant 100 µL de dilution des échantillons testés a été complété par l'ajout de 10 µL de suspension microbienne (à une concentration de 10⁶UFC/mL) et de 90 µL de MHB pour obtenir un volume final de 200 µL. Le dernier puits de chaque ligne dans la microplaque, contenant le bouillon et l'inoculum, a servi de témoin positif, tandis que le 11ème puits a été utilisé pour le témoin négatif, contenant uniquement du bouillon. Après l'inoculation, les microplaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures.

Après l'incubation, 40 µL d'une solution de chlorure de triphényltétrazolium (TTC) à 0,4 mg/mL ont été ajoutés à chaque puits, et les microplaques ont été incubées à 37 °C pendant 30 minutes. Ensuite, les microplaques ont été examinées pour détecter tout changement de couleur. La présence d'une croissance microbienne a été indiquée par l'apparition d'une couleur rose (**Ouguirti et al., 2021**).

IV.5.5.3- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide est correspond à la plus faible concentration de l'extrait ou de l'huile essentielle qui produit une réduction de 99.9% de l'inoculum microbien initial (**Skandamis et al., 2001**)

Inoculer le contenu des puits de microplaques où aucun désordre n'est observé, en partant du tube correspondant au CMI, en inoculant à l'aide d'une anse le milieu gélose M.H par bandes de 5 cm de long. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24 h (**Oussou K.P. et al., 2004**).

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

Rapport CMB/CMI <4 : effet bactéricide

Rapport CMB/CMI >4 : effet bactériostatique.

IV.6. Etude de l'activité antioxydante

IV.6.1. Test de DPPH

Pour évaluer l'activité antioxydante, nous avons utilisé la méthode DPPH (2,2-diphényl-1-trinitrophénylhydrazine) (Boussena *et al.*, 2022).

➤ Principe

Le test DPPH° mesure la résistance aux radicaux libres de molécules pures ou d'extraits de plantes dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant (HA, généralement un composé phénolique) à réduire le radical libre chimique DPPH (2,2-diphényl-1-trinitrophénylhydrazine) via transfert d'hydrogène. DPPH°, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle. (Dangles B. 1999)

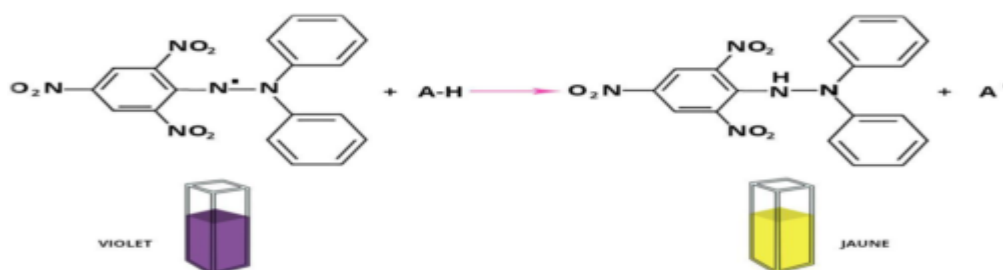


Figure 16 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant

La réduction du DPPH peut être facilement mesurée par spectrophotométrie à 515 nm (λ_{\max} DPPH). Selon la nature de l'antioxydant, la réaction sera plus ou moins rapide, Et la Quantité de DPPH-H formée dépendra de la concentration de l'antioxydant

• Préparation du DPPH

25 mg de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) est dissoute dans 100ml du méthanol pour obtenir une solution de DPPH. (Solution de stock)

Pour préparer la solution de travail ; prenez 10ml de solution de stock et ajoutez 45ml de méthanol. Ensuite ; ajustez le spectre à (515nm) pour obtenir une absorbance de $1,1 \pm 0,02$.stocké à l'arbi de la lumière et au réfrigérateur en attendant son utilisation

➤ Mode opératoire

150 μ L d'huile essentielle à différentes concentrations (5, 2,5, 1,25, 0,62, 0,31 mg/mL) ont été mélangés avec 2850 μ L de solution de travail DPPH (25 mg/100 mL dans du méthanol, diluée

pour obtenir une absorbance de $1,1 \pm 0,02$) pendant 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. Ensuite, l'absorbance a été mesurée à 515 nm. Nous procédons de la même manière pour l'acide ascorbique (antioxydant de référence). Ce test a été répété trois fois pour chaque échantillon.

Les concentrations des échantillons fournissant 50% de l'effet antioxydant (IC_{50}) ont été Déterminées à l'aide des graphiques des pourcentages d'effet antioxydant par rapport aux concentrations des échantillons (Boussena et al., 2022).

➤ Expression des résultats

L'activité anti radicalaire s'exprime par le pouvoir réducteur de la solution méthanolique DPPH (Rashid et al. 2010). Selon Dung et al. (2008) et Eyob et al. (2008), la puissance réduite est déterminée en appliquant la formule suivante :

$$\text{PR (Ac-AE)/Ac. 100}$$

PR: pouvoir de la réduction en %;

AE: absorbance de la solution de DPPH en présence de l'huile essentielle ou de la vitamine c

AC: absorbance de la solution de DPPH en absence de l'huile essentielle et de la vitamine C.

Diminution de la puissance en fonction de la concentration. Pour les mélanges d'huiles essentielles et d'acide ascorbique, les paramètres IC_{50} peuvent être calculés. Où représente la concentration efficace, qui est définie comme la concentration d'huile essentielle (ou de vitamine C) nécessaire pour réduire l'activité du DPPH de 50 % (Molyneux, 2004).

IV.6.2. Test de FRAP :

➤ Principe

Cette technologie repose sur la capacité des huiles essentielles à réduire le fer ferrique (Fe^{+3}) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ fer ferreux (Fe^{+2}), provoquant ainsi une modification de la couleur jaune du fer trivalent Couleur bleu-vert du fer au fer ferreux. L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm (Karagözler et al., 2008).

➤ Mode opératoire

Le pouvoir réducteur des huiles essentielles a été déterminé selon la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**. À cette fin, 1 ml de solutions éthanoliques d'huiles essentielles préparées à différentes concentrations ont été mélangées avec 2,5 ml de solution tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml de solution à 1% de ferrocyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$. Incuber dans un bain-marie à 50°C pendant 20 minutes, laisser refroidir à température ambiante et ajouter 2,5 ml d'acide trichloroacétique à 10 % pour terminer la réaction. Le mélange a été centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 min. Ensuite, 2,5 ml du surnageant ont été mélangés avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution aqueuse à 0,1% de chlorure ferrique $FeCl_3$. Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis JENWAY 7305 contre un blanc préparé de manière similaire, en remplaçant l'échantillon d'huile essentielle par de l'eau distillée. Des solutions d'acide ascorbique de différentes concentrations préparées dans les mêmes conditions ont été utilisées comme contrôles positifs.

La valeur EC_{50} est la concentration efficace de notre huile essentielle avec une absorbance de 0,5 et est déterminée par interpolation de l'équation de régression linéaire.

IV.7- Encapsulation de l'huile essentielle par coacervation complexe alginate de sodium et agar agar :

Les alginates ont des propriétés remarquables qui leur permettent de former des gels, Des sphères ou encore des micro ou nanoparticules en raison de leur capacité à agir comme un agent réticulent. Ils sont également utilisés en raison de leur caractéristiques biocompatibles, biodégradables et non toxiques (**HAMED et al., 2022**).

Le protocole de coacervation est une adaptation du protocole décrit par **Ollagnier et al., 2014**). Pour immobiliser l'huile sous forme de billes de gel, un mélange d'huile et d'alginate de sodium a été préparé. La solution d'alginate a été mélangée avec l'huile dans un rapport 1 :1 (v/v) pour obtenir une concentration finale en alginate de 2% (p/v). L'huile a été émulsionnée et le mélange est devenu crémeux après agitation magnétique pendant 20 à 30 minutes. Un autre polymère, l'agar agar, a été ajouté pour améliorer l'agrégation des billes. Les billes ont été produites en injectant un mélange de fluides dans une solution de chlorure de calcium à température ambiante. Après production, l ont été mesurées et immergées dans la solution de $CaCl_2$ pendant 30 minutes pour durcir. Une fois durcies, les billes ont été récupérées par filtration et lavées à l'eau désionisée.

IV.8. Activités biologiques et propriétés pharmacologique

IV.8.1. Etude de toxicité orale aigüe :

- **Matériel animal**

Afin d'évaluer la toxicité aigüe de notre mixture, nous a Choisis les rats comme modèle animal expérimental. A cet effet, Des rats blancs Mâles et femelles du Wister pesant entre 150g et 200g, sont récupérés de l'institut Pasteur d'Alger ; ont été utilisés pour le test in Vivo.

Les animaux sont mis dans des conditions appropriées de température 25°C, humidité 45% et dispensés d'un éclairage artificiel faisant Alternier des séquences de 12 heures de lumière et de 12 heures d'obscurité. Après leur Reproduction, les mâles et les femelles sont séparées dans des cages en plastique, d'une longueur de 34 cm, d'une largeur de 23cm et d'une hauteur de 16 cm.



Figure 17 : Les Rats Wistar

- **Principe**

L'étude de la toxicité aigüe par voie orale de l'huile essentielle a été conduite selon les Directives 423 d'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economique):

Toxicité orale aigüe –Méthode par classe de toxicité aigüe). La méthode utilisée dans cette Etude est celle de l'ajustement des doses qui permet d'estimer la DL₅₀.

- **Mode opératoire**

Les essais de toxicité aigüe ont été effectués conformément au Code directeur 423 de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) (OCDE, 2001a) (annexe 5). Les rats (femelles uniquement) étaient à jeun pendant 16 heures avant

l'expérience et avaient libre accès à l'eau. Chaque huile essentielle des espèces végétales étudiées a été administrée par voie orale à des doses de 50, 300 et 2000.

mg/kg à des groupes de souris (n=3). Respectivement. Le groupe témoin a reçu uniquement le véhicule (10 ml/kg 1 % Tween 80). Après le traitement, les animaux ont été observés en continu pendant 2 heures, puis ont reçu de la nourriture et de l'eau pour détecter des changements dans leurs réponses autonomes ou comportementales (mort, agitation, respiration, faiblesse) par rapport au groupe témoin.

La surveillance de la mortalité s'est poursuivie pendant 48 heures puis pendant 7 jours. Si aucun décès n'était enregistré dans le groupe de traitement, le test était répété sur un nouveau lot d'animaux (n = 3) en utilisant des doses d'huile essentielle plus élevées, jusqu'à 5000 mg/kg.) Figure 18.



Figure 18 : Méthode de gavage de l'huile essentielle

Chapitre V

Résultats et Discussion

V.1. Rendement en huile essentielle

Le rendement moyen en huile essentielle de la mixture extraite par hydrodistillation, a été calculé en fonction de la masse du matériel végétal traité selon la formule suivante :

$$Rd = \text{Masse d'huile essentielle (g)} / \text{Masse du matériel végétal utilisé (g)} * 100$$

Les résultats montrent que la mixture a donné un rendement en huile essentielle de 2.4%. C'est un très bon rendement. Ceci est peut-être dû au nombre des plantes qui constituent cette mixture.

De nombreux travaux effectués sur la mixture montrent des rendements variables comparés aux nôtres.

Une étude faite sur la mixture de plantes médicinales en région de Djelfa située dans la partie centrale du nord de l'Algérie qui est une région caractérisée par un climat semi-aride, à donner un rendement de (0,26%) (**Huzar et al., 2018**). Ce résultat est très inférieur au rendement qu'on a obtenu.

En dehors de l'Algérie, une étude a été faite en Egypte. Le rendement de l'huile essentielle de la mixture des plantes médicinales était de (1.1%) (**Sefidkonetal., 2006**). Il est largement inférieur à notre rendement.

Cette variabilité des rendements est peut-être due aux variations géographiques et climatiques des plantes collectées.

IV.2. Screening phytochimique

Une évaluation préliminaire de la composition phytochimique de la mixture a été réalisée à l'aide de réactions qualitatives de caractérisation. Cette analyse a permis de mettre en évidence la présence de différents groupes chimiques dans la mixture. Les résultats expérimentaux obtenus des tests phytochimiques sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 16: Résultats du screening phytochimique de la mixture.

Composition phytochimique recherchés		Mixture	
Alcaloïde	Réactif de Mayer	–	
	Réactif de Wanger	+++	
Tanins	Réaction avec FeCl ₃	+++	
	Tanins galliques	+++	
	Tanins Catéchiques	–	
Flavonoïdes	Anthocyanes	+++	
	Flavonoïdes libre	+++	
	Leucoanthocyanes	–	
<i>Anthraquinones</i>	<i>Dérivés anthracénique</i>	O-hétérosides	+++
	<i>combines</i>	<i>O-hétérosides génine réduite</i>	+++
		<i>C-hétérosides</i>	+
<i>Aautre</i>	<i>Mucilages Composés réductures</i>	+++	
<i>Caractérisation</i>	<i>Hétérosides cyanogénétiques Mucilages</i>	+++	

(+):Présents ; (++) : abondants ; (+++) : très abondants ; (-) : absents.

Le **tableau 16** présente les résultats du criblage phytochimique de la mixture. Effectivement, nous constatons que la mixture contient, avec des intensités plus ou moins variables, les alcaloïdes, les flavonoïdes (Flavonoïdes libre et Anthocyanes), les tanins, les dérivés anthracéniques combinés, et composés réducteurs, les mucilages et les hétérosides cyanogénétiques, tandis que, lesleucoanthocyaneset les tanins catéchiques sont absents. Même résultats a été trouvé par (Abdelli et al., 2019).

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par (Sefidkon *et al.*, 1993). En effet, ces derniers ont indiqué la présence de flavonoïdes, de tanins et d'alcaloïdes dans la mixture des plantes qui ont été récoltées dans le nord-est de l'Inde.

La nature des composants phytochimiques mise en évidence sont connus pour des propriétés pharmacologiques et biologiques intéressantes qui peuvent contribuer à l'utilisation des plantes étudiés. Nous citons les alcaloïdes qui ont été rapportés comme étant cytotoxiques, antihypertensifs et antiarhythmiques (Saxena *et al.*, 2013). Les tanins peuvent exercer des effets astringents, antidiarrhéiques, diurétiques, hémostatiques, antioxydants, et antimicrobiens (De Bruyne *et al.*, 1999 ; Dolara *et al.*, 2005; Geetha et Geetha, 2014). Des flavonoïdes qui sont souvent présentés comme des anti-allergiques, antispasmodiques, hypocholestérolémians, et cytotoxiques (Kokate, 1997 ; Ayoola *et al.*, 2008; Bruneton, 2009). Les composés réducteurs tels que les glycosides sont capables d'abaisser la tension artérielle (Nyarko et Addy, 1990).

Les phytoconstitués présents dans la mixture de plantes étudiées sont reconnus à la fois comme des composants chimiques médicinaux actifs (Lingarao et Savithramma, 2011) et comme des métabolites secondaires essentiels pour le bien-être des plantes. Leur large gamme de propriétés biologiques confère des effets bénéfiques significatifs aux végétaux. Selon (Molyneux *et al.*, 1996), les alcaloïdes jouent un rôle crucial dans la survie et la protection des plantes contre divers agents pathogènes tels que les microorganismes, les insectes et les herbivores. Ils peuvent même agir contre d'autres plantes susceptibles d'être nuisibles par le biais de leur activité allélopathique. D'autre part, Winkel-Shirley (2001) montrent que les flavonoïdes jouent un rôle très important en protégeant les plantes contre le stress hydrique et en générant leur tolérance aux métaux lourds présents dans les sols (figure 19).

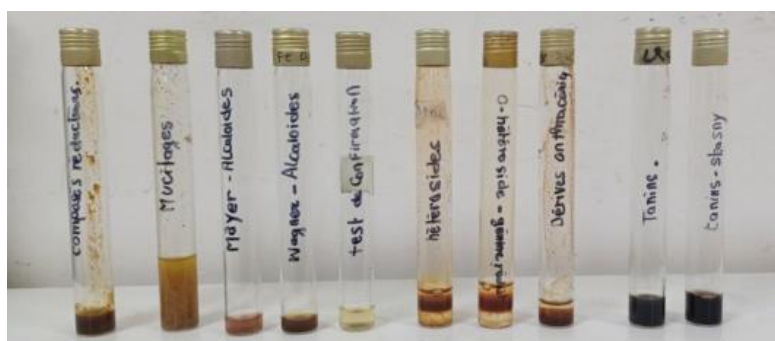


Figure 19 : Résultat de screening phytochimique.

V.3- Etude de l'activité antibactérienne

V.3.1- Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des agents antibactériennes standards

La sensibilité des souches microbiennes testées vis-à-vis des agents antibactérienne standards a été évaluée par antibiogramme. Les résultats obtenus sont exprimés dans **le tableau 17** et la **figure 20**. En se basant sur les résultats présentés dans **le tableau 17**, nous constatons que les souches bactériennes testées ont présenté différents degrés de sensibilité à la plupart des agents antibactérienne employés. Les diamètres des zones d'inhibition enregistrés varient entre 09 et 34 mm.

Les antibiotiques qui ont donné les plus grandes zones d'inhibition sont les suivants : Gentamicine (CN120) contre *Staphylococcus aureus* (32mm) et *Escherichia coli* (24mm), Amikacin(AK10) contre *Escherichia coli* (22mm),et *Staphylococcus aureus*(22 mm) . Les antibiotiques qui se sont montré inactifs contre plus de deux bactéries sont: Oxacilline(OX1) vis-à-vis *P. aeruginosa* ; *Escherichia coli* ; *E.homaechei* subsp *Xianfangensis*, et le Nitrofurantoin (F 300) contre *E.homaechei* subsp *Xianfangensis* ; *Staphylococcus aureus* et *P. aeruginosa* . concernant la boîte de (*E.auxiensis*) , il ya eu une contamination

Selon **Ponce et al.,(2003)** et **Moreira et al.,(2005)**, la sensibilité des germes a été classée par le diamètre des halos d'inhibition comme suit : non sensible (-) pour les diamètres moins de 8 mm ; sensible (+) pour les diamètres de 9 à 14 mm ; très sensible (++) pour les diamètres de 15 à 19 mm et extrêmement sensible (+++) pour les diamètres de plus de 20 mm.

Tableau 17 : Résultats de l'activité antibactérienne des antibiotiques exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.

Souches					
ATB	<i>E. c</i>	<i>P. a</i>	<i>E .h</i>	<i>S. a</i>	<i>E. a</i>
<i>OXI</i>	0	0	0	0	24
<i>F 300</i>	23	0	0	0	21
<i>CN120</i>	24	14	22	32	34
<i>AK10</i>	22	09	19	22	22

- E.c: Escherichia coli ON653022.1;
- P.a: Pseudomonas aeruginosa KJ819583.1;
- E.h : Enterobacter homaechei subsp Xiangfangensis MG923793.1;
- E.a : Enterobacter auxiensis OP068064.1 ;
- S.a : Staphylococcus aureus OP068064.1.

Toutes les valeurs (zone d'inhibition incluant le diamètre du disque de (6 mm) sont exprimées en moyenne de trois essais \pm écart type

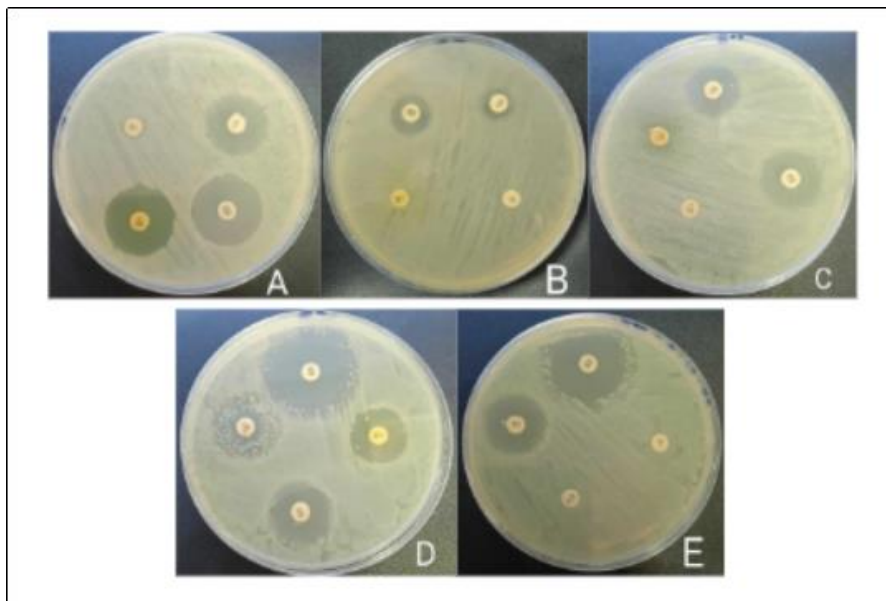


Figure 20 : Effet des antibiotiques sur les souches étudiées.

A: Escherichia coli ON653022.1;

B: Pseudomonas aeruginosa KJ819583.1;

C : Enterobacter homaechei MG923793.1;

D :Enterobacte rauxiensis OP068064.1 ;

E. : Staphylococcus aureus OP068064.1.

V.3.2- Etude de l'activité antibactérienne d'huile essentielle

V.3.2.1- Technique de l'aromatogramme (Méthode de Vincent)

Le test de l'aromatogramme consiste à déterminer la sensibilité d'huile essentielle vis-à-vis des souches bactériennes multi résistantes.

Cette sensibilité est exprimée par l'apparition d'une zone inhibitrice autour du disque de papier contenant de l'huile essentielle. Le diamètre de la zone inhibitrice diffère d'une bactérie à une autre.

En raison de la recrudescence préoccupante des micro-organismes résistants aux antibiotiques, les extraits végétaux apparaissent comme des alternatives thérapeutiques prometteuses pour inhiber efficacement la prolifération d'un large spectre de pathogènes multirésistants (Boussena et al., 2022). Face à ce défi sanitaire majeur, il est crucial d'explorer de nouvelles pistes de recherche afin de développer des traitements alternatifs innovants et durables, en s'inspirant des vertus antimicrobiennes des plantes.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de notre mixture a été réalisée sur cinq souches multirésistantes, les résultats obtenus et relatifs aux diamètres des zones d'inhibition sont regroupés dans le tableau n°18 suivant :

Tableau 18: Résultats de l'aromatogramme exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.

	Souches	Gram	Diamètre moyen (mm)	Sensibilité
1	<i>Escherichia coli</i>	+	20.52	Extrêmement sensible
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	9.45	Sensible
3	<i>Enterobacter homaechei</i>	-	12.69	Sensible
4	<i>Enterobacter auxiensis</i>	-	18.99	Très sensible
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	24.13	Extrêmement sensible

Toutes les valeurs (zone d'inhibition incluant le diamètre du disque de 6 mm) sont exprimées en moyenne de trois essais.

D'après le **tableau 18** et la **Figure 21** : ci-dessus, on constate que les zones d'inhibition varient entre (9mm) Et (24mm). On constate également que les bactéries Gram positif sont plus sensibles que les bactéries gram négatifs.

Le diamètre le plus faible était de 9.45mm. Il a été obtenu avec *Pseudomonas aeruginosa* par contre le diamètre le plus élevé était de 24.13mm. Il a été obtenu avec *Staphylococcus aureus*. La mixture testée à montrer un effet inhibiteur contre les bactéries multirésistantes

testées. Ce résultat est très important car ces bactéries testées causent beaucoup de problème dans les différents hôpitaux de notre pays.

Plusieurs études se sont concentrées sur l'activité inhibitrice des plants étudiés de la mixture, montrant leur efficacité contre divers micro-organismes

Une étude fait par (Saeed *et al.*, 2016) en Iran montre l'évaluation de l'activité antibactérienne de 4 antibiotiques sur *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

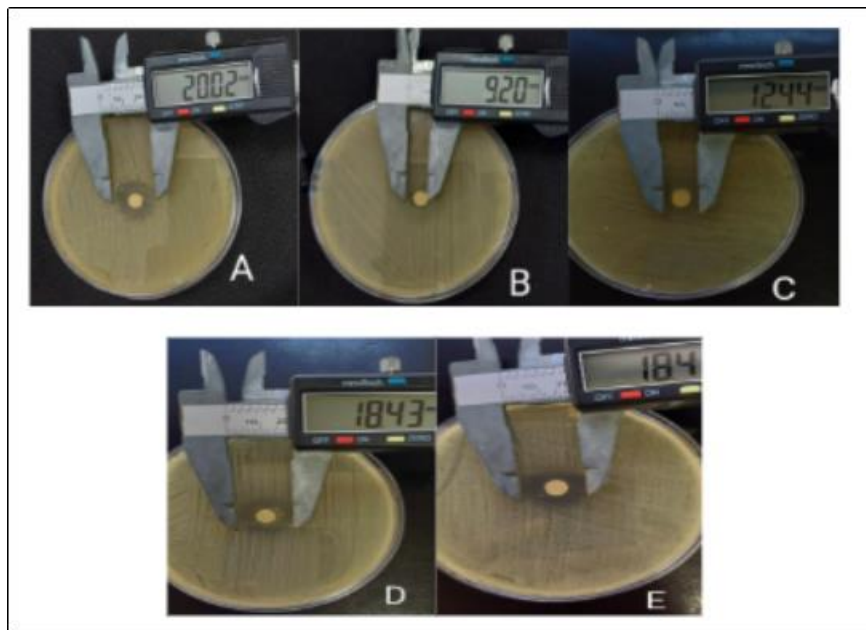


Figure 21 : Effet de l'huile essentielle de la mixture sur les souches étudiées

- E.c: *Escherichia coli*;
- P.a: *Pseudomonas aeruginosa*;
- E.h : *Enterobacter homaechensis* subsp. *Xiangfangensis*;
- E.a : *Enterobacter auxiensis* ;
- S.a : *Staphylococcus aureus*

Nous constatons que les souches bactériennes testées ont présenté différents degrés de sensibilité à la plupart des agents antibactérienne employée avec des zones d'inhibition enregistrés varient entre 7mm et 28 mm. Ces résultats sont relativement proches du rendement du nos résultats

V.3.2.2-Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), bactéricide(CMB)

La détermination des paramètres antibactériens (CMI, CMB) des huiles essentielles de la mixture a été effectuée seulement sur les germes ayant présenté une sensibilité par le test d'aromatogramme. Les résultats obtenus sont résumés dans **le tableau19 et annexe 4**.

Tableau 19 : Valeurs des paramètres antibactériens de la mixture, CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

Souche	CMI	CMB	CMB/ CMI	Activité
<i>E. coli</i>	0.62	5	8	Bactériostatique
<i>P. aeruginosa</i>	1.25	5	4	Bactéricide
<i>E .homaechei</i>	1.25	5	4	Bactéricide
<i>E. auxiensis</i>	1.25	5	4	Bactéricide
S.aureus	2.5	5	2	Bactéricide

Nous remarquons que la mixture a exercé une grande activité contre les cinq souches testées (Tableau 19). Les valeurs obtenues sont d'une gamme allant de 0.62 à 2.5 µl/ml pour la CMI, de 5 µl/ml pour la CMB

La susceptibilité a été particulièrement importante chez *E. coli*. Effectivement, le CMI et le CMB ont été enregistrés à la plus faible valeur, qui est de 0.62 µl/ml. Par contre, la sensibilité l'est beaucoup moins chez *S.aureus*; le CMI et la CMB ont été obtenus à une valeur plus élevée, de 2.5 µl/ml.

Selon **Marmonier (1990)**, si le rapport d'activité CMB/CMI d'une substance antibactérienne est inférieur ou égal à 4, cette dernière est qualifiée de substance bactéricide et si le rapport est supérieur à 4, elle est alors dite bactériostatique. En se référant aux résultats obtenus dans les tableaux n°19, nous constatons d'une part, que, l'huile essentielle de notre mixture est bactéricide envers les souches testées, néanmoins, une exception est à noter pour celle de *E. coli* le rapport CMB/CMI est estimé à 8, elle est alors considérée comme bactériostatique.

Des études ont démontré que la plupart des huiles essentielles testées pour leurs propriétés antibactériennes présentent un effet plus marqué contre les Gram positives que contre les Gram négatives (**Kalemba et Kunicka, 2003; Trombetta et al., 2005**). Cela est dû aux différences

structurales entre les parois cellulaires. En effet, les Gram négatifs possèdent une membrane externe composée de chaînes de lipopolysaccharides. Cette couche forme une barrière de perméabilité hydrophile qui restreint la diffusion de composés hydrophobes tels que ceux présents dans les huiles essentielles (Nikaido et Vaara, 1985; Trombetta *et al.*, 2005). Ceci pourrait expliquer la forte sensibilité observée chez *E. coli* envers l'huile essentielle des plantes étudiées par rapport aux autres souches testées. Toutefois, certaines études ne révèlent aucune activité antibactérienne sélective vis-à-vis des Gram positifs ou des Gram négatifs (Guesmi et Boudabous, 2006).

Selon, (Oussalah *et al.*, 2006) la propriété biologique d'une huile essentielle sont étroitement liée à sa composition chimique, notamment aux groupes fonctionnelles des composés majoritaire ainsi qu'aux interactions synergique entre ces derniers et les composée présents en plus faible quantités. Ceci pourrait expliquer les différences constatées dans les résultats obtenus par la présente étude ainsi que par les travaux antérieurs.

V.4. Activité antioxydante

L'effet antioxydants de l'huile essentielle est évalué par deux méthodes complémentaires : le piégeage des radicaux libres DPPH et la réduction du fer (FRAP).

- **Test de DPPH**

L'évaluation de l'activité antioxydant de l'huile essentielle de la mixture a été réalisée par la mesure de la capacité de cette dernière, à différentes concentrations, à piéger le radical libre DPPH. L'acide ascorbique a été utilisé, à différentes concentrations, comme antioxydant standard afin de comparer son pouvoir antiradicalaire à celui des plantes étudiées. IC50 (la concentration inhibitrice) a été également calculée. Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures 22 et 23 et le tableau 20

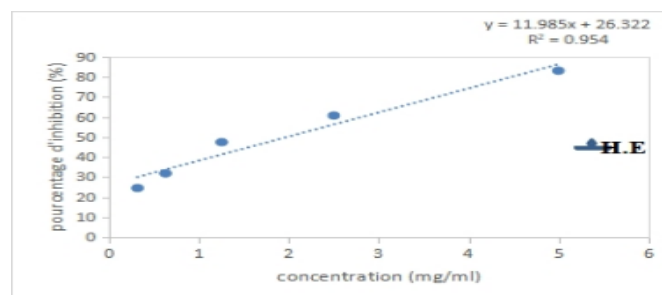


Figure 22 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes Concentrations utilisées pour l'huile essentielle de la mixture testée

La figure 22 indique une augmentation des pourcentages d'inhibition de l'absorbance de la solution du DPPH en fonction des concentrations de l'huile essentielle testée. A la plus faible concentration (0,03 mg/mL), l'huile de notre mixture a présenté un pourcentage inhibitrice (PI) de 24,58%, tandis qu'à la plus grande concentration (5 mg/mL), le PI a atteint 83.08%. Ceci montre que l'huile possède un grand potentiel antioxydant

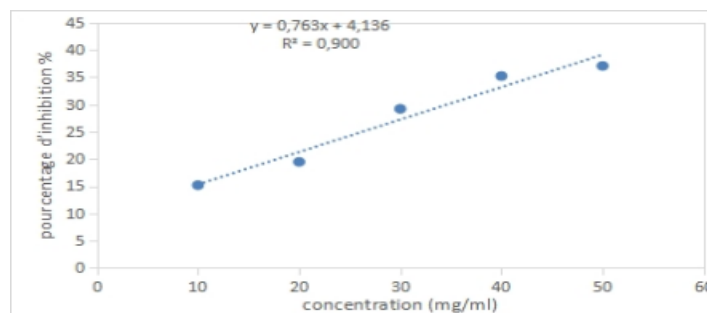


Figure 23: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des Différentes concentrations utilisées pour l'acide ascorbique

Nous notons d'après la figure 23, que l'acide ascorbique a provoqué une réduction presque totale du DPPH en sa forme non radicalaire DPPH-H. la réduction de l'absorbance du DPPH a été beaucoup plus importante, en effet, à seulement 10 mg/mL le PI a atteint 15,18%, puis à partir de cette concentration, une augmentation extrêmement intense a été observée donnant ainsi, à 40 mg/mL, un PI de 35 % qui atteint une réduction de 40% à la plus grande concentration (50mg/mL).

Tableau 20 : Valeurs de la concentration efficace 50 des huiles essentielles des espèces Étudiées et de l'acide ascorbique obtenues par le test de DPPH

Acide ascorbique	Huile essentielle
IC50 (µg/ml) 60,1 ± 0,09	IC50 (mg/ml) 1,97 ± 0,2

La IC₅₀ représente la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire de 50% la concentration du radical libre DPPH. Elle est inversement proportionnelle à la capacité antioxydant d'un composé : plus la valeur de la IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydant est élevée (Dung et al. 2008). La détermination de la IC₅₀ permet d'évaluer et de comparer l'efficacité de nos échantillons. Selon les résultats présentés dans le tableau 20 . Donc on peut distinguer que l'huile essentielle étudié à une activité antioxydant élevée

• **Test de FRAP**

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle a été réalisée par la mesure de l'aptitude de cette dernière, à différentes concentrations, à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). L'acide ascorbique a été utilisé, à différentes concentrations, comme antioxydant standard afin de comparer son pouvoir réducteur, exprimé en absorbances, à celui des plantes étudiées. La CE50 a été également calculée. Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures 24 et 25 et le tableau 21

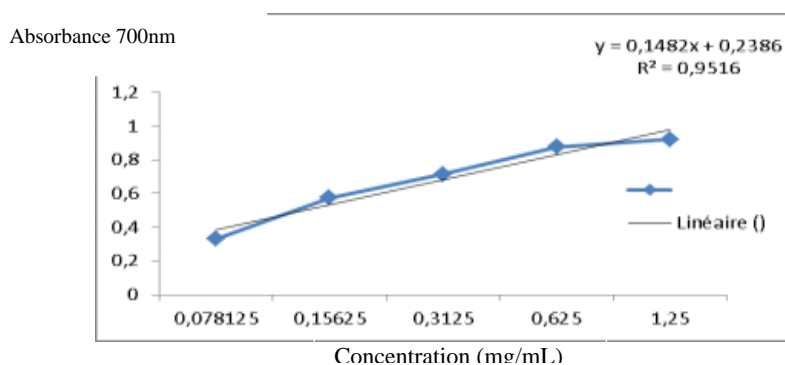


Figure 24 : Pouvoir réducteur de l'huile étudié

Nous remarquons que le pouvoir réducteur, exprimé en absorbances, de l'huile essentielle de la mixture est proportionnel à l'augmentation des concentrations, à la plus faible concentration (0,078 mg/mL), l'huile a présenté une densité optique (DO) de 0.398 Tandis qu'à la plus grande concentration (1,25 mg/mL), la densité optique est de l'ordre de 1.12 Ceci confirme le grand potentiel antioxydant de l'huile étudié

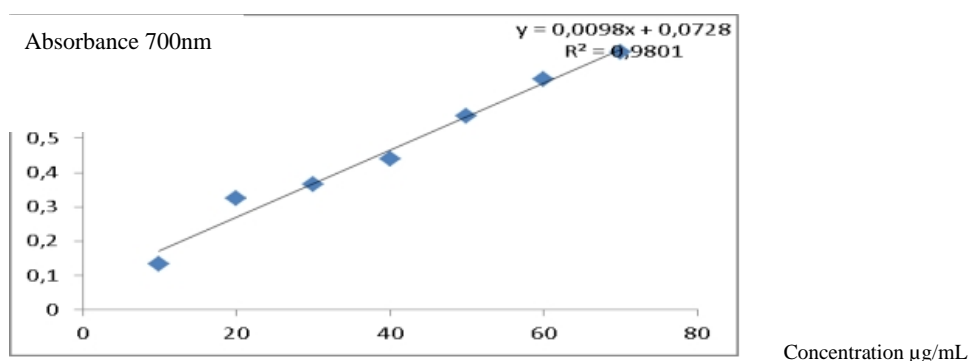


Figure 25: Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique

Nous notons selon les résultats de la figure n°4 que la réduction du fer par l'acide ascorbique, a été bien plus importante, en effet, la plus grande absorbance a été de (0,798) et ce, à (70 µg/mL.)

La détermination de la CE₅₀ permet d'évaluer l'efficacité des huiles essentielles et D'apprécier encore mieux les résultats selon le tableau n°21 l'huile essentielle des plantes étudiée présente les valeurs les plus faibles en CE 50 = 1,76 mg/mL.

Tableau 21 : Valeurs de la concentration efficace 50 des huiles essentielles des espèces Étudiées et de l'acide ascorbique obtenues par le test de FRAP

Huile essentielle	Acide ascorbique
CE ₅₀ (mg/mL) 1,763±0,08	CE ₅₀ (µg/mL) 44,38±0,4

les résultats du **tableau 21** la valeur de CE₅₀ de l'acide ascorbique est de (44,38µg/mL) tandis que celle de l'huile essentielle est de (1,763mg/mL).

Le criblage des huiles essentielles pour leurs activités antioxydants a nécessité l'utilisation de deux tests différents. En raison de la complexité des processus d'oxydation-réduction et des différences entre les systèmes d'essai étudiés, un seul test ne peut refléter de manière exhaustive l'activité des antioxydants (**Schlesier et al., 2002; Prior et al., 2005; Li et al., 2009**). Il est donc fortement recommandé d'utiliser au moins deux méthodes afin d'obtenir des informations complètes sur la réponse des composés présents dans les échantillons testés dans diverses conditions expérimentales (**Schlesier et al., 2002; Sariburun et al., 2010**). Nous avons choisi les tests de DPPH et de FRAP car ils sont parmi les plus couramment utilisés pour l'évaluation de l'activité antioxydante (Pérez-Jiménez et al., 2008). Les résultats nous ont permis de constater que l'huile essentielle des plantes étudiées possédaient un fort pouvoir antioxydant, cependant, nettement inférieur à celui de l'acide ascorbique.

Selon L'étude de **Bassolé et al. (2010)** a évalué l'activité antioxydante d'un mélange d'huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* (citronnelle) et de *Ocimum basilicum* (basilic) par le test DPPH et FRAP. Les résultats montrent que le mélange d'huiles essentielles présente une activité antioxydante significative, avec une valeur de CI₅₀ (concentration inhibitrice 50%) de 42,95 ± 0,001 µg/mL, Cette activité antioxydante est probablement due à la synergie entre les composés majoritaires des deux huiles essentielles, notamment le géraniol, le néral et le linalol. Les auteurs concluent que ce mélange d'huiles essentielles pourrait être une source naturelle d'antioxydants avec un potentiel d'application dans les domaines alimentaire, cosmétique et pharmaceutique.

En résumé, cette étude démontre l'intérêt des mélanges d'huiles essentielles pour leurs propriétés antioxydants, qui peuvent être supérieures à celles des huiles seules grâce à des effets synergiques entre leurs composés.

En comparaison, nos résultats montrent une activité antioxydante significativement plus élevée, avec une valeur de CI_{50} de 0,03 - 5 mg/mL. Cette différence peut être attribuée à la composition chimique des huiles essentielles utilisées dans vos études, qui peuvent contenir des composés plus puissants en termes d'activité antioxydante.

Les auteurs de l'étude de **Bassolé et al. (2010)** ont également souligné l'intérêt des mélanges d'huiles essentielles pour leurs propriétés antioxydants, qui peuvent être supérieures à celles des huiles seules grâce à des effets synergiques entre leurs composés. Nos résultats confirment cette hypothèse, montrant que le mélange d'huiles essentielles utilisé dans votre étude présente une activité antioxydante significativement plus élevée que les huiles seules.

Enfin, les résultats de l'étude de **Bassolé et al. (2010)** et nos résultats montrent que les mélanges d'huiles essentielles peuvent présenter des propriétés antioxydants supérieures à celles des huiles seules, grâce à des effets synergiques entre leurs composés.

V.5. Encapsulation de l'huile essentielle par coacervation complexe alginate de sodium et agar agar

Aujourd'hui, de nombreux compléments nutritionnels sont disponibles sous forme de gélules ou de comprimés qui libèrent les principes actifs de manière contrôlée. Le but de la présente étude est de développer une formulation des plantes médicinales de qualité alimentaire.

L'objectif visé dans cette étude est l'encapsulation de l'huile essentielle de notre mixture. Lorsqu'une solution d'alginate de sodium à 4%, a été mélangée avec l'huile essentielle de mixture qu'il n'a pas été complètement dissous, une couche de l'huile séparée s'est formée, du fait que ce dernier n'était pas miscible dans l'alginate. Ceci était en partie attendu car l'alginate est un polysaccharide dissous dans une solution polaire, tandis que l'huile essentielle insoluble dans l'eau. Une solution d'agar-agar à 1% a été ajoutée à la solution d'alginate, qui a permis à la solution s'amalgamer et former le mélange l'huile-alginate-agar. (**HAMED et al., 2022**).

Les billes ont été préparées en utilisant du $CaCl_2$ (0,2 M). Il a été enregistré que les concentrations de 1 et 2% d'alginate ne permettaient pas une bonne formation de, billes qui se

dissolvaient dans la solution de CaCl_2 . Ceci peut être expliqué par le non abondance d'alginate pour former de fortes liaisons croisées afin de produire un gel stable. En revanche, Des billes de résistance satisfaisante se sont formées lorsqu'une solution à 4% d'alginate a été utilisée, donnant plus de rigidité et de forme aux billes (**figure 26**)

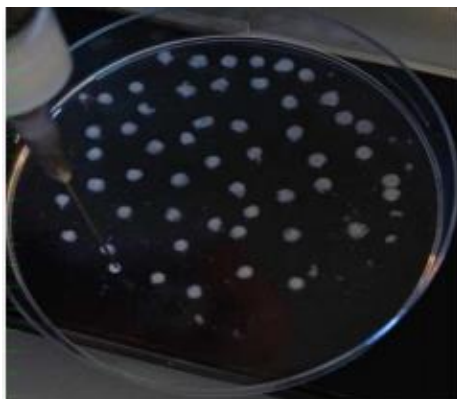


Figure 26 : Billes de l'huile encapsulée

V.6- Etude pharmacologique

V.6.1- Toxicité aigue

L'étude de la toxicité aigue des huiles essentielles de la mixture des plantes a été réalisée par administration orale chez des rats Wistar. Les résultats nous ont permis de constater après 24 heures, la mortalité totale du lot des rats (2 après 20min et 1 rat après 30min) à la dose de 4500 mg/Kg de p.c. Un sédentarisme et une très forte respiration ont aussi été observés durant les premières heures.

Notre étude a été fondée sur la méthode de toxicité aiguë par classe décrite par la ligne directrice de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OECD) code 423 (OECD, 2001). Cette méthode, validée à l'échelle nationale (**Schledeet al., 1992**) et internationale (**Schlede et al., 1995**), utilise trois animaux d'un seul sexe par étape pour réduire la variabilité et minimiser le nombre d'animaux utilisés. Dans notre cas, nous avons testé des femelles. Bien que les études de la littérature sur les tests de DL50 classiques montrent que les différences de sensibilité entre les sexes sont généralement minimales, il est noté que les femelles peuvent être plus sensibles dans certains cas (**Lipnicket al., 1995**). Selon la classification établie par GHS (Globally Harmonized System) (annexe n°4), L'huile de la mixture appartient à la catégorie 5 ($2000 < \text{DL50} < 5000 \text{ mg/Kg}$), Les substances d'essai rangées dans la catégorie 5 présentent un risque de toxicité aigue relativement faible mais qui, dans certaines circonstances, peuvent être un danger pour les populations vulnérables (OECD,

2001a). En conséquence, nous pouvons considérer que les huiles essentielles testées, sont relativement sans danger.

Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche, cet intérêt vient du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de composés naturels bioactifs d'une part, et du besoin de la recherche d'une thérapie avec le moins d'effets secondaires possible d'autre part.

L'objectif primordial assigné par ce présent travail est de valoriser la flore végétale algérienne, en particulier le mixture des plantes du nord-ouest algérien, qui restent toujours des plantes d'intérêt très important dans la médecine traditionnelle et dans le domaine alimentaire pour les populations locales. Le criblage phytochimique de la mixture a révélé la présence de différentes familles de métabolites secondaires.

Il s'agit essentiellement des alcaloïdes, flavonoïdes, tannins, les dérivés anthracénique combinés, et composés réducteur les mucilages et les hétérosides cyanogénétiques, Ces constituants sont connus de part leurs diverses propriétés biologiques pouvant ainsi, contribuer à l'utilisation de la mixture comme remèdes en médecine traditionnelle.

Par ailleurs, l'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de la mixture a donné un rendement de 2.4%. Les souches bactérienne testées ont présenté différents degrés de sensibilité à la plupart des agents antibactérienne employés. Les diamètres des zones d'inhibition enregistrés varient entre 09 et 34 mm. Les antibiotiques qui ont donné les plus grandes zones d'inhibitions sont CN120 et AK10)

De plus, l'activité antibactérienne des huiles essentielles a été réalisée sur cinq souches cliniques par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Les zone d'inhibition varient entre (9mm) et (24mm). Les souches les plus sensibles sont staphylococcus aureus, Escherichia coli présentant des diamètres de zones d'inhibition de 24,13 mm et 18,99 respectivement la Souche la moins sensible est P. aeruginosa avec un diamètre de zone d'inhibition de 9,45mm.

La méthode de macrodilution en milieu liquide a permis d'obtenir les concentrations minimales inhibitrices (CMI), bactéricide à des valeurs allant de 0.62 à 2.5 µl/ml, et de 5µl/ml pour la CMB

La susceptibilité a été particulièrement importante chez E. coli. Effectivement, le CMI et le CMB ont été enregistrées à la plus faible valeur, qui est de 0.62 µl/ml. Par contre, la sensibilité l'est beaucoup moins chez S.aureus ; le CMI et la CMB ont été obtenues à de valeur plus élevée, de 2.5 µl/ml. Toutefois, L'effet antioxydant de la mixture estimé in-vitro via le piégeage des radicaux libres DPPH, et le test FRAP a été significativement intéressant.

Les résultats obtenus ont permis de constater qu'ils possèdent une forte capacité antioxydante avec des IC50 entre 1.97 ± 0.2 , et $44.38 \pm 0.4 \mu\text{g/mL}$ '

Etude pharmacologique réalisée in vivo sur des rats Wistar a montré que l'huile essentielle administrée par voie orale est considéré modérément toxique avec sa DL50 entre 50 et 500mg/kg

Références Bibliographiques

- Abdelli, W., Bahri, F., Romane, A., Höferl, M., Wanner, J., Schmidt, E., et Jirovetz, L. (2017). Chemical Composition and Anti-inflammatory Activity of Algerian *Thymus vulgaris* Essential Oil. *Natural Product Communications*, 12(4), 611-614.
- Abdelli, W., Sysak, A., Bahri, F., Szumny, A., Pawlak, A., & Obmińska-Mrukowicz, B. (2019). Chemical composition, antimicrobial and cytotoxic activity of essential oils of algerian *thymus vulgaris* l. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*, 76(6), 1051–1059. <https://doi.org/10.32383/appdr/112477>
- Adam K.L. 2006. Lavender production, products, markets, and entertainment Farms.Related ATTRA Publications,12 .
- Adefegha S.A, Oboh G., Oyeleye S.I and Osunmo K. (2016). Alternation of Starch hydrolyzing enzyme inhibitory properties, antioxydant activities and phenolic profile of clove buds (*Syzygium aromaticum* L.) by cooking duration. *Food Science and Nutrition*. pp: 250-251.
- Adossides A, 2003, La filière plantes aromatiques & médicinales, FAO Projet. Assistance au recensement agricole, 70p
OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 1998, Réglementation des médicaments à base de plantes : La situation dans le monde. WHO/TRM/98.1, Genève, Suisse, 65p
- AFNOR (Association Française de Normalisation), 2000, Recueil des normes françaises
- AFNOR. ; 2000. Huiles essentielle. Echantionnageet méthode d'analyse monographies relative aux huiles essentielles (TOME 2).
- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Radicaux
- Agnihotri VK., Agarwal SG., Dhar PL., Thappa RK., Kapahi BK., Saxena RK.et Qazi GN., 2005:
- Albanie et en Algérie. Montpellier : CIHEAM / France Agri Mer Options Méditerranéennes :applications. CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC. Boca Raton. New York, 994p
Antioxidant Potential of *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel. 'Budrovka': A Comparative
- Avlessi F., Alitonou G.A., Djenontin T S., Tchobo F., Yèhouéno B., Menut C. & Sohounhloué D., 2012.- Chemical composition and Biological activities of the Essential oil extracted from the Fresh leaves of *Chromolaena odorata* (L. Robinson) growing in Benin. *ISCA Journal of Biological Sciences*, 1(3): 7-13.
- Baba Aissa F., 2000 : Encyclopédie des plantes utiles, librairie moderne, Rouïba, 368.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D.et Idaomar, M., 2008: Biological effects of essential oils. *Food and chemical toxicology*. 46 : 446-475.

- 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.
- BARBELET S. LE GIROFLIER : HISTORIQUE, DESCRIPTION ET UTILISATIONS DE LA PLANTE ET DE SON HUILE ESSENTIELLE. (Mémoire de fin d'étude Pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie) UNIVERSITE DE LORRAINE, 2015
- Barbier C. L'huile essentielle de cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Picardie Jules Verne : Amiens France, 2014, 83p.
Domínguez Salinas E. Etat des lieux de la filière de la cannelle à Mayotte : caractérisation et propositions pour son développement. Direction de l'agriculture et de forêt, Mémoire du Master Foresterie Rurale et tropicale. Ecole national de génie rural, des eaux et des forêts 2003, page 21
- Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/sciences*, 22(3), 266-271.
- Bandoniene D, Pukalskas A, Venskutonis PR, Gruzdiene D. (2000) Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil. *Food Research International*, 33(9), 785-791
- Baser K.H.C., Buchbauer G, 2010, Handbook of essential oils: Science, technology, and applications. CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC. Boca Raton. New York, 994p, Handbook of essential oils: Science, technology, and applications. CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC. Boca Raton. New York, 994p
- Baser K.H.C., Buchbauer G, 2010, Handbook of essential oils: Science, technology, and applications. CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC. Boca Raton. New York, 994p
- Baser K.H.C., Buchbauer G, 2010, Handbook of essential oils: Science, technology, and applications. CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC. Boca Raton. New York, 994p
- Baudoux D (2000). L'aromathérapie: se soigner par les huiles essentielles. Ed Atlantica.
- Bauer K, Garbe D, Surburg H. (2001) Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses. Wiley-VCH, Weinheim, 293
- Benghenim A S. Contribution à l'étude de l'effet inhibiteur de l'huile essentielle et de l'hydrolat de la cannelle de chine (*cinnamomum cassia*) vis-à vis des biofilms de *candida albicans*. Mémoire de Master en Biochimie Appliquée. Université Aboubaker Belkaid- Tlemcen, faculté des sciences de la nature et de la vie 2017, 16p.
- Bensakhria, A. (2018). Le stress oxydatif. *Toxicologie générale*, 70-86.
- Blažeković B., Vlamidir-Knezevic S., Branter A., Stefan M .B. 2010. Evaluation of

- Bode AM et Dong I F F, Wachtel-Galor S. 2011. Herbal Medicine-Biomolecular and
- Botineau M . Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs . Lavoisier Ed . 2010.1403 p
- Botineau M., 2010 : botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed TEC&DOC, la voisier, pari.1021-1043p.
- Bouguerra N., Djebbar F.T., Soltani N, 2017, Algerian Thymus vulgaris essential oil :
- Boussena, A., Bahri, F., Bouyahyaoui, A., Kouidri, M., & Meziane, M. (2022). Screening of Phytochemical, Evaluation of Phenolic Content, Antibacterial and Antioxydant Activities of Ephedra Alata From the Algerian Sahara. Journal of Applied Biological Sciences E, 16(2), 220–229. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6590258>
- Boyle W, 1955, Spices and essential oils as preservatives. Am. Performera Essent. Oil Rev.
- Boyle W., 1955. - Spices and essential oils as perspectives. American Perfumer Essential Oil Review. 66: 25-28
- Boz I., Burzo I., Zamfirache M.M., Toma C., Padurariu C, 2009, Glandular trichomes and
- Brada M., Achour D., Wathelet J.-P., Lognay G, 2009, Study of essential oils of some plants from Algeria (Salvia officinalis, Thymus vulgaris and Ruta chalepensis). In : 8ème congrès de la Société Algérienne de Chimie, Béjaia, Algérie, May 26-28, 2009
- Bremness L., 2001 : plantes aromatiques et médicinales. BORDAS, France, 303.
- Brodowska KM., Brodowska AJ., Śmigielski K., Łodyga-Chruścińska E. Antioxydant
- Brune ton J, 1993, Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 2ème édition, Tec & Doc. Lavoisier. Paris, 915p
- Bruneton J, 1999, Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Tec & Doc.Lavoisier, Paris, 1120p
- Bruneton J, 1999, Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Tec & Doc.Lavoisier, Paris, 1120p
- Bruneton.J (1993). Pharmacognosie et phyto chimie plantes médicinales, 2ème édition Paris, France, Lavoisier.
- Burt S, 2004, Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods: A review. Int. J. Food Microbiol. 94: 223-253 Cliniques sains et sécuritaires. 26.
- Burt S., 2004.- Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. International Journal of Food and Microbiology. 94: 223-253.

- care units in 5 European countries. French and Portuguese ICU Study Groups. JAMA,
- Carillon A, 2009, Place de la phytothérapie dans les systèmes de santé au XXIème siècle. In: Conférence SIPAM, Djerba, Tunisie, Mars 2009, 7p
- Carson CF, Hammer KA. (2011) Chemistry and Bioactivity of Essential Oils. In Thormar H. Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents. United Kingdom, John Wiley & Sons LTD, 338
- 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
- Chemical composition and larvicidal activity against the mosquito *Culex pipiens*. International Journal of Mosquito Research, 4(1), 37-42p

chemical Aspects. 2ed Edition CRC Press. Citer dans le Mémoire Master (2015) : Etude de cholesterol-fed rats. Journal of Medicinal food 2003 ; 3 : 183-191.

- chraka, A., Raissouni, I., Benseddik, N., Khayar, S., Mansour, A. I., Belcadi, H., ... & Bouchta, D. (2020). Aging time effect of Ammi visnaga (L.) lam essential oil on the chemical composition and corrosion inhibition of brass in 3% NaCl medium. Experimental and theoretical studies. Materials today: proceedings, 22, 83-88.
- Citrosupomo, Gembong, 1985, Morfologi Tumbuhan, 7-47, 76-85, 91, Gajah mada University Press, Yogyakarta
- Clevenger J.F. (1928). Appareil pour la détermination des huiles volatiles, description du nouveau Taper. Le Journal de l'American Pharmaceutical Association (1912), 17, 345-349p.
- Clos J, 2012, Immunité chez les animaux et les végétaux: Aspects fondamentaux et Physiopathologiques. Lavoisier, Paris, 432p
- Cosentino S., Tuberoso C.I.G., Pisano B., Satta M.V., Arzedi E., Palmas F, 1999, In vitro
- Cowan MM. (1999) Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews, 12(4), 564-582.

- Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R., Wyllie S.G, 2000, The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88(1), 170
- Daferera DJ., Ziogas BN., Polissiou MG, 2003, The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. And *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. *Crop. Protection*. 22:39–44
- Dangles B. (1999). Oxydation monoélectronique de la quercétine et des dérivés de quercétine dans des milieux protiques et non protiques. *Journal de la société chimique, Perkin Transactions Z*, 1387-1395. *Dentisterie*, 37: 413-423. Éd. Lavoisier. Paris, p. 43-46.
- Dozy reinhart, 1881, Supplément aux dictionnaires arabes ,leyde, Brill
- De Bruyne T., Pieters L., Deelstra H., Vlietinck A, 1999, Condensed vegetable tannins: Biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical System Ecology*, 27, 445-459p
- Degryse A.C., Delpla I and Voinier M.A, 2008, Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement-IGS-EHESP*, 87p
- Delaquis P.J., Stanich K., Girard B. & Mazza G. 2002.- Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 74:101-109.
- Delille L., 2007 : *Les plantes médicinales d'Algérie*. Berti Editions, Alger. 240 p.
- Demoré B., Grare M., Duval R.E, 2012, Généralités sur les antibiotiques par voie
- Derabla Ch., Zamouche A. Etude de l'activité antibactérienne des extraits alcooliques d'ail (*Allium Sativum*) et de cannelle (*Cinnamomum Zeylanium*) mémoire de master en Qualité des produits et sécurité alimentaire. Université 8 Mai 1945 Guelma 2016, 80p.
- Despinasse Y. 2015 . Diversité chimique et caractérisation de l'impact du stress hydrique chez les lavandes .Doctoral dissertation, Université Jean Monnet-Saint, Etienne, 181 p
- Dorman H.J., Deans S.G, 2000, Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of Plant volatils oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88: 308-316
- Dorman HJD. et Deans SG., 2000 : Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88(3): 308-31
- DUPONT F, GUIGNARD JL. *Botanique : les familles des plantes*. 15e éd. Issy-lesMoulineaux : Elsevier Masson ; 2012. p. 16.
- Ecribano B., Santos B. 2003. Polyphenols extraction from foods. In *Methods in polyphenol analysis*. Royal Society of Chemistry. Thomas Graham House,

Science.[100] Aggarwal Bb, Bhatt Id, IchikaH, Ahn K, Sethi G, Sandur S,et al. 2006.Curcumin–biological and medicinal properties. Turmeric: the genus Curcuma.Taylor and Francis Group; p. 297–368

- Edet F. La cannelle de Ceylan et ses activités biologiques. Thèse de doctorat. Université Joseph Fourier, Faculté de pharmacie de Grenoble 2004, 157p.
- Elizabeth.F, 2002. CDC definition for nosocomial infections, 1988 Am.J. Infect control. 1988; 16:128-40.
- Essential oil composition of *Mentha pulegium* L growing wild in the north-western Himalayas India. Flavour Fragr. J. 20: 607-610.

essentiels de différents genres *Thymus* récoltés dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement , Thèse de doctorat Universitébadjimokhtarannaba , algérie , 173p.

- Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore LAURENTIENNE, p 19-20(Aout 2008).

extracellulaire de différents segments de l'aorte chez les rats Albinos Wistar traité par

- Fillatre Y, 2011, Produits phytosanitaires : Développement d'une méthode d'analyse multirésidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat. Université d'Angers. France, 288p
- Fayad N.K., Al-Obaidi O.H.S., Al-Noor T.H, 2013, Water and alcohol extraction of thyme plant (*Thymus vulgaris*) and activity study against bacteria, tumors and used as antioxidant in margarine manufacture. Innovative Systems Design and Engineering, 4(1), 41-51p.
- Faria L.R.D., Lima C.S., Perazzo F.F., Carvalho J.C.T, 2011, Anti-inflammatory and antinociceptive activities of the essential oil from *Rosmarinus officinalis* L.
- Favier A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la Compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, 14, 108-115p
- Gamisans J. et Jeanmonod D., 1993 : Catalogue des plantes vasculaires de la Corse, secondes édition, Edition des conservatoires et jardins botaniques de la ville de Genève, Chambésy, 1993

- Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z. et Jore D., 2003 : Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? Mécanismes biochimiques, p 91-96

Garnéro J, 1996, Huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur, K 345, Paris, 39p

- Gigon. F.2010. Le gingembre, une épice contre la nausée. *Phytothérapie*, 10:87–9
- Goetz P et Ghedira K .2012 .Collection *Phytothérapie pratique* ,vol . 4 ,phytotérapie anti-infectieuse . springer , paris , 357-365p.
- Goldmann D.A., Weinstein R.A., Wenzel R.P., Tablan O.C., Duma R.J., Gaynes R.P,
- Gonny M., Bradesi P. & Casanova J., 2004.- Identification of the components of the essential oil from Corsican *Daucus carota* L. using ¹³C-NMR spectroscopy. *Flavour and Fragrance Journal*. 19: 424-433.
- Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11(2), 115-120
- Guignard JL et Dupont F (2004). *Botanique : Systématique moléculaire*, 13^{ème}éd. Ed. Masson, Paris. 237 p.
- Haddouchi F., Lazouni H.A., Meziane A., Benmansour A, 2009, Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique Science*, 5(2), 246-259p
- Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.V, 1999, Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *Journal of Applied Microbiology*. 86: 985–990. Indicateurs au réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin). *Bull Epidemiol Hebdo*, 32-33, 148-151p
- Hanberger H., Garcia-Rodriguez J.A., Gobernado L., Goossens H., Nilsson L.E., Struelens M.J, 1999, Antibiotic susceptibility among aerobic gram-negative bacilli in intensive
- Hashim, M., Abbas, A., Al-Rubaye, R., et al. (2014). *Study on the Botanical and Morphological Characteristics of *Ammi visnaga*.* *Journal of Plant Studies*, 3(2), 47-52.
- Heath H.B., 1981. *Source Book of Flavours*. Westport: Avi, pp.890.
- Hernandez-Ochoa L.R, 2005, Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné « Solvant/Actif ». D'origine végétale. Thèse de doctorat. Institut National Polytechniques de Toulouse. France

huiles essentielles: composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie* 2008 ; 6 :

- Il Edrissi A., 1982 : Thèse de troisième cycle: Etude des huiles essentielles de quelques Espèces Salivia, Lavandula et Mentha du Maroc, Faculté des Sciences de Rabat, Maroc, 18-22 .
- Imane, B., Ouafa, R., & Rachid, D. (2016). Antimicrobial and antioxidant activity of Ammi visnaga (L) phenolic extracts and their effects on planktonic and biofilm growth of food spoilage Bacillus cereus.
- Ingy I. Abdallah) September 2017KnE Life Sciences 2017(5):81-98
- Jahandiez E.et Marie R., 1934 : Catalogues des plantes du Maroc, Spermatophytes et ptérydophytes. Tome III, P. Lechevalier, librairie 12, rue de Tournon VIe, Alger Paris, 42.

Journal of Biological Research 2016 ; 6 (4): 310-316.

- Kalembe D. & Kunicka A., 2003.- Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry. 10: 813-829....
- Kalembe D., Kunicka A, 2003, Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr. Med. Chem, 10, 813-829p
- Kalembe D., Kunicka A, 2003, Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr. Med. Chem , 10, 813-829p.
- Kaloustian J., Chevalier J., Mikail C., Martino M., Abou L., Vergnes MF. Etude de six
- Kar A, 2007, Pharmacognosy and pharmacobiotechnology. 2nd edition, New Age International Publishers, 898p
- Karagözler A., Erdag B., Calmaz Emek Y, 2008, Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from Dorystoechas hastate. Food Chemistry, 111(2), 400-407p
- Kaskatepe B., kiymaci ME., Simske D., Erol HB., Erdem SA. Comparaison of the contents and antimicrobial activities of commercial and natural cinnamon oil. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences 2016 ; 78(4) : 541-546
- Kebissi H., 2004 : Encyclopédie des herbes et plantes médicinales, Dar Al-Kotob Al-Ilyah, Berouth-Liban, 56
- Khalil, N., Bishr, M., Desouky, S., & Salama, O. (2020). Ammi Visnaga L., a Potential Medicinal Plant: A Review. Molecules, 25(2), 301.
- Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments Antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition Clinique et métabolisme, 20(4), 165-177.

- Koh WS., Yoon SY., Kown BM. Cinnamaldehyde inhibits lymphocyte proliferation and modulates T-cell differentiation. *International Journal of Immunopharmacology* 1998 ; 20 : 643-660
- Kokate K.C, 1997, *Practical pharmacognosy*, 4th ed. Delhi: Vallabh Prakashan, 218p

l'effet d'un régime irrégulier du Zingiber officinale sur le réarrangement de la matrice

- Lahlou M, 2004, *Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils*.
- Laib I., BarkatM. 2011. Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *lavandula officinalis*, 89-101.
- Lobstein A., Couic-Marinier F. 2017. Huile essentielle de Lavande officinale. *Actualités Pharmaceutiques* (56) 565 : 57-60
- Lamiaceae). *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 7(2), 1-8p
- Lee JS., Jeon SM., Park Em., Huh TL., Kwon OS., Lee MK., Choi MS. Cinnamate
- Lee T., Dugoua JJ. Nutritional supplements and their effect on glucose control. *Current diabetes Reports* 2011 ; 11 :142-148.
- Lee T., Dugoua JJ. Nutritional supplements and their effect on glucose control. *Current Diabetes Reports* 2011 ; 11 :142-148
- Leffingwell J.C, (Consulté le 24 Janvier 2011), Rose (*Rosa damascena*).
- Libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies Rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7), 636-643.
- Lingarao M., Savithamma N, 2011, *Phytochemical studies of Svensonia hyderabadensis (Walp.) Mold, A rare medicinal plant*. *Der Pharm Lett*, 3, 51-55p
- Lobstein A., Couic-Marinier F. 2017. Huile essentielle de Lavande officinale. *Actualités Pharmaceutiques* (56) 565 : 57-60
- Loussert, R. (1989). *Les agrumes*. 2. paris : production Edition Lavoisier. 157 p.
- M.E. Lucchesi. 2015. *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des HEs*, Thèse, La Reunion.
- Mammeri, B., Bahri, F., Kouidri, M., Boudani, B., & Arioui, F. (2022). Evaluation of chemical composition , anti- inflammatory , antibacterial activity and synergistic effect between antibiotics and the essential oil of *artemisia campestris* L . *Journal of Applied Biological Sciences*, 16(2), 230–247. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6590285>

- Mancini E., Senatore F., Del Monte D., De Martino L., Grulova D., Scognamiglio M., Snoussi S.A., Djazouli Z.E., Aroun M.E.F., Sahli Z, 2003, Les plantes maraichères, industrielles, condimentaires, aromatiques, médicinales et ornementales. Annexes sur La Biodiversité Importante pour l'Agriculture en Algérie MATE-GEF/PNUD : Projet ALG/97/G31
médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en
- Mann C.M., Cox S.D., Markham J.L, 2000, The outer membrane of *Pseudomonas Aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca Alternifolia* (Tea tree oil). *Letters in Applied Microbiology*, 30: 294-297
- Marouf A, Tremblin G. (2009) *Abrégé de biochimie appliqué*. EDP Sciences, France, 490.
- Michel Botineau, *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*, éditions Tec & Doc.
- Mnayer D., (2014). *Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens*. Th. Doc. Avignon. 157 p.)
- Mnayer D., (2014). *Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens*. Th. Doc. Avignon. 157 p.
- Mnayer D., (2014). *Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens*. Th. Doc. Avignon. 157 p.
- Molyneux P, 2004, The use of the stable radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211-219p
- Molyneux. P. (2004). Use of DPPH to estimate antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* Vol. 26 № 2. 212p
- 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.
- Nyarko A.A., Addy M.E, 1990, Effects of aqueous extract of *Adenia cissampeloides* on blood pressure and serum analyse of hypertensive patients. *Phytotherapy Research*, 4(1), 25-28p
- OECD (Organization for Economic Co-operation and Development), 2001a, Test n°423: Acute oral toxicity – Acute toxic class method. Organisation for Economic Co-

operation and Development, Paris. <http://www.oecd-ilibrary.org/content/book/9789264071001-en>

- OECD (Organization for Economic Co-operation and Development), 2001b, Guidance document on acute oral toxicity testing. Environment, health and safety publications. Series on testing and assessment n°24, Paris
- Ouguirti, N., Bahri, F., Bouyahyaoui, A., & Wanner, J. (2021). Chemical characterization and bioactivities assessment of artemisia herba-alba asso essential oil from South-Western Algeria. *Natural Volatiles and Essential Oils*, 8(2), 27–36. <https://doi.org/10.37929/nveo.844309>
- Ouhibi B. (2015). Epidémiologie de l'infection nosocomiale en milieu de réanimation. thèse de doctorat en médecine. Université de Cadi Ayyad .Jerrada.50PP: 349
- Oulebsir-Mohandkaci H., Ait Kaki S, 2015, Essential oil of two Algerian aromatic plants *Thymus vulgaris* and *Eucalyptus globulus* as bio-insecticides against aphid *Myzus persicae* Homoptera : Aphididae). *Wulfenia Journal*, 22(2), 185-197p
- Oussou K.R., 2009. –Etude chimique et activité biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan, 241p.
- Oussou K.R., Kanko C., Guessennd K.N., Yolou S., Koukoua G., Dosso M., N'guessan Y.T., Figueredo G... ChalchatJ.-C. 2004, Activités antibactériennes de l'huile essentielle de trois plantes de Côte d'Ivoire. *C. R. Chimie*, 7(10-11), 1087-1086p
- Oussou K.R., Youlou S., Kanko C., Guessennd K. N., Boti J.B., Ahibo C. & Casanova J., 2008.- Etude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. *European Journal of Scientific Reaserch*. 1:94-103.*Phytotherapy Research*, 18, 435-448p review. *C.R.C Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*. 9: 345-373.
- Oyaizu M, 1986, Studies on product of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr*, 44, 307-315p
- Phaneuf, M. (2010). Les infections nosocomiales Agir ensemble pour des milieux
- Ponce A.G., Fritz R., Del Valle C.E., Roura S.I, 2003, Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie-LWT*, 36, 679-684p
- Portes E., (2008). Synthèse et Etudes de étrahydrocurcuminoïdes: Propriétés Photochimiques et antioxydantes, applications à la préservation de matériaux d'origine Naturelle. Thèse de doctorat. № 3695. Universities Bordeaux I, 244p.

- Prescott J.F, 2000, Antimicrobial drug resistance and its epidemiology, in Antimicrobialthérapie in veterinary medicine, Editor Iowa State University Press: p 27-49 profile of essential oils and extracts of cinnamon bark (*Cinnamomum cassia*). European
- Quézel P. & Santa S., 1962 : Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. CNRS. Ed. Paul Le chevalier, Paris.
- Quézel P. & Santa S., 1962 : Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. CNRS. Ed. Paul Le chevalier, Paris.
- Quezel P.,& Santa S., 1963 : Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. CNRS, Paris.
- Rahimi-Bashar, F., Karami, P., Khaledi, A., Dehghan, A., Seifrabie, M. A., et Hedayat Yaghoobi, M. (2018). Evaluation of the Prevalence of Nosocomial Infection in Different Wards of Be'sat Hospital of Hamedan. *Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection*, 5(2), 31–35
- RandrianariveloR. (2010). Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar: « *Cinnamosma fragrans* » Alternative aux antibiotiques en Crevetticulture. Thèse de doctorat en Sciences de la Vie, Université d'Antananarivo, Faculté de Biochimie (Biotechnologie-Microbiologie) 179p
- Sahi L., (2016). La dynamique des plantes aromatiques et médicinales en Algérie. In Ilbert H.,Hoxha V., Sahi L., Courivaud A., Chailan C. 2016. Le marché des plantes aromatiques et
- Salzer U.J., 1977.- The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings-acritical
- Snoussi S.A., Djazouli Z.E., Aroun M.E.F., Sahli Z, 2003, Les plantes maraichères, industrielles, condimentaires, aromatiques, médicinales et ornementales. Annexes sur La Biodiversité Importante pour l'Agriculture en Algérie MATE-GEF/PNUD : Projet ALG/97/G31
- Saxena M., Saxena J., Nema R., Singh D., Gupta A, 2013, Phytochemistry of medicinal plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(6), 168-182p
- Schlosser J., Martone W.J, 1996, Strategies to prevent and control the emergence and spread of antimicrobial-resistant microorganisms in hospitals. A challenge to hospital leadership. *JAMA*, 275(3), 234-240p
- Sell, C.S. 2006. *The Chemistry of Fragrance. From Perfumer to Consumer*. 2nd
- Senatore F, 1996, Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern

Italy). *J. Agric. Food. Chem*, 44, 1327-1332p Série B. Etudes et Recherches; n. 73 : 101- 140.

- Silva G.L., Luft C., Lunardelli A., Amaral R.H., Melo D.A., Donadio M., Oliveira J.R. 2015. Antioxidant, analgesic and anti-inflammatory effects of lavender essential oil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 87(2) : 1397-1408.
- Sipailiene A., Venskutonis P.R., Baranauskiene R. & Sarkinas A. 2006.- Antimicrobial Activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. *Journal of Essential Oil Research*. 18: 698-703.
Study with. *Molecules* 15(9): 5971-5987.
- Sujatha P., Bapi-Raju Soumya Nair and Jayanthi Abraham. (2020). Advances in Pharmaceutical Biotechnology, Natural Products from Actinobacteria for Drug Discovery. Doi: 10.1007/978-981-15-2195-9-23
Système et principes d'utilisation. In: *Pharmacie clinique et thérapeutique* (coordonné par J Calop., S Limat., C Fernandez et G Aulagner). 4ème édition, Elsevier Masson, Paris, pp 801-844

supplementation enhances hepatic lipid metabolism and antioxidant defense systems in high

- Tomi F & Casanova J., 2006.- ¹³C NMR as a tool for identification of individual components
- Touhami A. 2017. Etude chimique et microbiologique des composants des huiles

une dose cytotoxique du DL-Méthionine, 20 p.

- Who (World Health Organization), 2002, Prevention of hospital-acquired infections: A Practical guide. 2nd edition, Duce G., Fabry J., Nicolle L editors, Geneva-Lyon Winnipeg, 72p.
- Winkel-Shirley B, 2001, Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology and biotechnology. *Plant Physiol*, 126(2), 485-493p
- Ybert E et Delesalle-féat T. 2001. *Encyclopedia of Medicinal Plants*: Larousse 2ème édition, 335 p
- Zargari A., 1990: *Herbal Medicines*. Publication of Tehran University, Iran. pp: 14-18
- 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.

Annexe

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

Annexe n°2

Réactifs de screening phytochimique

1. Réactif de Mayer

Chlorure (HgCl ₂).....	1.358g	mercurique
Iodure de potassium (KI).....	5g	
Eau distillée	100mL	

Réactif de Wagner

Iodure de potassium(KI).....	2g
Iode(I ₂)	1.27g
Eau distillée.....	1 mL

3. Réactif de Stiasny

Formol à 30%.....	10mL
HCL concentré.....	5m

Annexe n°3

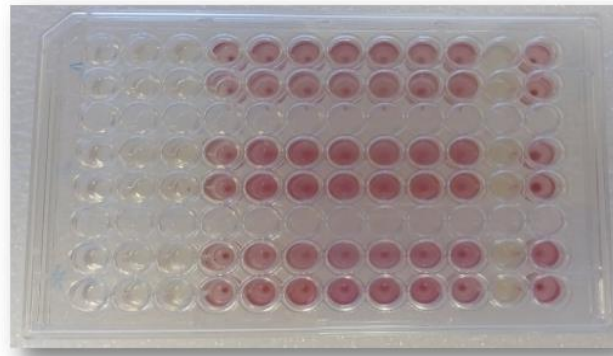
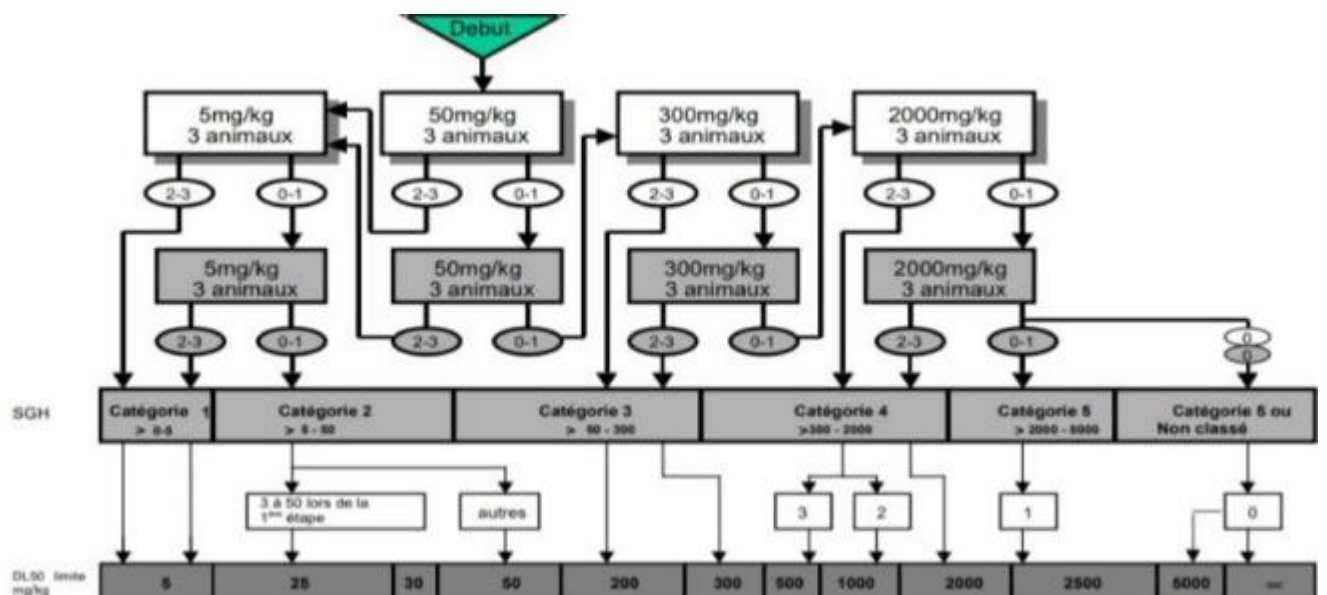


Figure 01 : Détermination des concentrations minimale inhibitrices (CMI)

Annexe n°04

Etude *in vivo* de la toxicité aigue selon la méthode décrite par la ligne directrice OECD code 423 et détermination des DL50 selon la classification établie par GHS (Globally Harmonized System) :



Trois animaux d'un seul sexe sont utilisés (généralement des femelles) ; 0, 1, 2, 3 : nombre d'animaux morts à chaque étape ; GHS : Globally Harmonized Classification System (mg/Kg p.c) ; ∞: inclassable