République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE

Présenté par

- **BERRAHAL SARA**
- **BESSEDIK IBTISSEM**

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: Pharmacotoxicologie

THÈME

L'étude de l'activité antibactérienne d'huile essentielle de *Salvia officinalis* .L sur deux souches (*E.coli* et *Staphylococcus aureus*)

Membres de Jury :

Présidente	**DOUICHEN S.**	**MCB**	**U. Mostaganem**
Examinateur	**BEKADA M A.**	**Professeur**	**U. Tissemsilt**
Promoteur	**CHADLI R.**	**Professeur**	**U. Mostaganem**

Année Universitaire :

REMERCIEMENTS

✓ ***A Mes Enseignants :***

J´ai eu l'honneur d'être parmi vos élèves et de bénéficier de votre riche enseignement. Vos qualités pédagogiques et humaines sont pour moi un modèle. Votre gentillesse, et votre disponibilité permanente ont toujours suscité mon admiration.

✓ ***A Mon encadreur : Mr CHADLI RABAH***

Votre compétence, votre encadrement ont toujours suscité mon profond respect. Je vous remercie pour votre accueille et vos conseils. Veuillez trouvez ici, l'expression de mes gratitudes et de ma grande estime..

Dédicace

✓ ***A ma très chère maman KARIMA***

Pour la décrire il me faudra quelque chose de plus que des mots, car quelque soit le terme et quelque soit l'expression, rien ne saura la tracer à mes yeux telle que mon cœur la voit et l'aperçois.

Celle qui me donne la force et la volonté

✓ ***Au meilleur des pères BERRAHAL MEKKI***

- ***Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que tu n'as cessé de formuler dans tes prières.***
- ***Que Dieu vous préserve santé et longue vie.***
- ***Qu'ils trouvent en moi la source de leur fierté***

A qui je dois tout à mes Frères BELCASEM, ABDALLAH et ma sœur NAIMA.

✓ ***A mon grand père Qui a toujours été dans mon esprit et dans mon cœur, je te dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, t'accueille dans son éternel paradis.***

✓ ***A mes amis : Houda, Wissem, Nedjdla et tout précisément Kaouther, qui ma beaucoup soutenue et qui n'a pas hésité à m'offrir son aide.***

A tous les gens qui m'aiment

SARA

Dédicace

✓ ***A ma très chère maman HOURIA***

Pour la décrire il me faudra quelque chose de plus que des mots, car quelque soit le terme et quelque soit l'expression, rien ne saura la tracer à mes yeux telle que mon cœur la voit et l'aperçois.

Celle qui me donne la force et la volonté

✓ ***Au meilleur des pères BESSEDIK BELKACEM***

- ***Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que tu n'as cessé de formuler dans tes prières.***
- ***Que Dieu vous préserve santé et longue vie.***
- ***Qu'ils trouvent en moi la source de leur fierté***

✓ ***A qui je dois tout à mes Frères MOHAMED AMIN, AHMED, ABDEL MONEIM et mes sœurs FATIHA, DJOMANA ARIDJ et KHAIRA***

✓ ***A mon marie AHMED.***

A tous les gens qui m'aiment

IBTISSEM

Résumé

L'émergence des microorganismes pathogènes, pose actuellement une problème de santé publique particulièrement préoccupant. En effet, la résistance des germes aux antibiotiques rend quelques fois le traitement thérapeutique inefficace et impose la recherche de nouveaux agents antimicrobiens. Le recours aux plantes médicinales constitue alors une des plus intéressantes pistes à explorer ; c'est dans cette perspective que nous nous somme intéressés à l'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la sauge officinale de la région de Mostaganem. Nous avons procédés à l'extraction de cette huile à partir des feuilles de la plante ainsi que l'évaluation de son pouvoir antibactérien vis-à-vis de quelques bactéries potentiellement pathogènes. Les résultats obtenus ont démontré que l'huile essentielle possède un pouvoir antibactérien intéressant principalement sur *E.coli*. La zone d'inhibition enregistrée pour cette souche (Ø= 15mm) dépasse légèrement celle provoquée par la vancomycine (Ø= 14mm). Ces résultats sont prometteurs et apportent une validation scientifique quant à l'usage massif de cette espèce. Ainsi l'effet des substances naturelles extraites des plantes médicinales pourraient bien rivaliser celui des antibiotiques.

Mots clés: activité antibactérienne - salvia officinalis - les huiles essentielles - lesantibiotiques

ملخص

إن بروز الكائنات المهجرية الممرضة يطرح حاليا مشكلا للصحة العمومية و بصفة جد مقلقة. في الواقع أن مقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية تجعل العلاج الاستدوائي غير فعال في بعض الأحيان و يستوجب البحث عن عوامل ضد الجراثيم, إن اللجوء إلى النباتات الطبية يمثل واحدة من أهم السبل الواجبة استغلالها, و لهذا الغرض نحن معنيون بدراسة النشاط البكتيري لزيت النبات المريمية لولاية مستغانم. في هذه الدراسة تطرقنا على استخلاص الزيت الطيار من أوراق نبات المريمية و كذا تقييم قدرته علي تثبيط البكتيريا اتجاه بعض الأنواع البكتيرية التي لها قابلية أن تكون ممرضة .النتائج المتحصل عليها تبين أن الزيت الطيار يملك القدرة على تثبيط البكتيريا و خاصة بكتيريا القولون. سجلت منطقة تثبيط لهذه البكتيريا 15مم تفوق بشكل طفيف تلك التي تأثرت بالفانكوميسين 14مم. النتائج المتحصل عليها تحمل تأكيدا علميا للاستعمال الواسع لهذا الصنف النباتي المريمية و بهذا فان تأثير المركبات النباتية المستخلصة بإمكانه مزاحمة تأثير المضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية : نشاط ضد البكتيري - المريمية الزيوت الطيارة - المضادات الحيوية.

Abstract

The emergence of pathogen microorganisms is currently a public health concern. Indeed, the resistance of germs to antibiotics makes sometimes the therapeutic treatment inefficient and requires the search for new antimicrobial agents. The use of medicinal plants is then one of the most interesting paths to explore; it is in this perspective that we were interested to study the antibacterial activity of essential oil of Mostaganem's sage (*salvia officinalis*). In this study, we performed the extraction of essential oils from the leaves of plant and the evaluation of its antibacterial activity against some potentially pathogenic bacteria. The antibacterial test revealed that the essential oil passes an interesting antibacterial effect principally against E.coli. The recorded inhibition zone (Ø= 15mm) slightly exceeds those caused by vancomycin (Ø= 14mm). These results are promising and provide a scientific validation to the massive use of this species. Thus the effect of natural substances extracted from medicinal plants may well rival that of antibiotics.

Key words: antibacterial activity - *salvia officinalis* - essential oils - antibiotics

Liste des abréviations

AFNOR : l'Association Française de Normalisation.

ATB : antibiogramme.

ATCC : American type culture collection

CA-SFM : Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie

CPG / SM : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

DL50: la dose létale médiane

AcrB : pompe d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries **(**Acquisition Career Record Bried)

H.E.C.T : Les chémotypes des huiles essentielles

LPS : lipopolysaccharide

Mef, NorA : pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries

MFP : Membrane Fusion Protéine

OMP : Orientation Membrane Protéine

PLP : Protéines de liaison aux pénicillines

QacA : pompe d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries

Liste des figures

Figure 1 : Structure de flavonoïde**……7**

Figure 2 : Structure de terpène**…….……8**

Figure 3 : Dispositif de l'hydrodistillation de type Clevenger **……..…...12**

Figure 4: Feuilles de la sauge officinale (*Salvia officinalis*) **……...16**

Figure 5: Structure générale d'une bactérie**…….……20**

Figure 6 : *Escherichia coli* vue au microscope photonique**…….…...21**

Figure 7 : *Staphylococcus aureus* vue au microscope photonique**……..…22**

Figure 8: Feuilles de la sauge (*Salvia officinalis* L.)**……..….32**

Figure 9 : Dispositif d'hydrodistillation des huiles essentielles**.....34**

Figure 10 : Les principales étapes d'hydrodistillation**…….…35**

Figure 11 : Activation de la souche**.....37**

Figure 12 : Technique de l'antibiogramme par la méthode de l'écouvillonnage**……40**

Figure 13 : Test d'identification des principes actifs de *Salvia officinalis***…….....44**

Figure 14 : Les antibiogrammes de différentes souches étudiées**…….……45**

Figure 15: L'aromatogramme de différentes souches étudiées**…….…..47**

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*……...18

Tableau 2: Les principaux antibiotiques et leur classification…….....26

Tableau 3 : L'origine des souches étudiées…….....36

Tableau 4 : critères de catégorisation selon les valeurs critique…….....38

Tableau 5 : Les diamètres critiques et règles de lecture interprétative pour les souches testées……...……..39

Tableau 6 : le diamètre de la zone d'inhibition d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des huiles essentielles……..…….....42

Tableau 7 : Résultats de l'antibiogramme…….. ..46

Tableau 8 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) de l'aromatogramme…….47

Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures ….....I

Liste des tableaux …..…….....II

Introduction……1

Partie bibliographique

Chapitre I : Les huiles essentielles

I-1- Historique…….3
I-2- Définition et caractérisation…….3
1- Définition……..…..3
2- Caractérisation……..….4
I-3- Répartition et localisation ……...4
I-4- Rôle physiologique des huiles essentielles…….5
I-5- Composition chimique des huiles essentielles……6
1- Saponosides……..…..6
2- Les alcaloïdes……...…..6
3- Les tanins……7
4- Les Flavonoïdes……...7
1- Localisation, distribution et biodisponibilité des flavonoïdes…….....7
5- Les Terpénoïdes……..8
I-6- Les chémotypes des huiles essentielles……..8
I-7- Facteurs de variabilité des huiles essentielles……..8
I-8- Propriétés des huiles essentielles……9
1- Propriétés physique……...……..9
2- Propriétés pharmacologiques…….……..……10
I-9- Procédés d'extraction des essences naturelles…....…….10
I- 10- Domaine d'utilisation des huiles essentielles……..…12
1- En pharmacie……12
2- Dans l'industrie…….12

I-11- Toxicité des huiles essentielles……...……13
I-12- Mode de conservation des huiles essentielles……..13
Chapitre II : Généralités sur *Salvia officinalis*
II-1- Historique…….15
II- 2- Description botanique et répartition géographique……..15
II- 3- Classification taxonomique……16
II- 4- Les principes actifs……..17
II-5- Culture de la Sauge……...17
1- Méthodes de culture de la Sauge…….…17
II-6- Conservation de la Sauge…….….17
II-7- La composition chimique de l'huile essentielle de la sauge……17
II-8- Paramètre influençant la composition chimique……...18
II-9- Utilisation Thérapeutique…….19
II-10- Toxicité……...19
Chapitre III : Bactéries et antibiotiques
III-1- Introduction……20
III-2- Définition de l'activité antibactérienne……...20
III-3- Bactériologie médicale……20
1- *Escherichia coli* ……..……..21
2- *Staphylococcus aureus*……...……...…21
III-4- Les antibiotiques……22
1- Généralités sur les antibiotiques……..22
2- Définitions……24
3- La notion de type d'activité…….……..25
4- Les Principaux antibiotiques et leur classification……...26
5- Modes d'action des antibiotiques…….….26
6- Les mécanismes de résistances des bactéries aux antibiotiques……...28
7- Modification de la perméabilité membranaire……..29

Partie expérimentale
I-Généralité……...31
II- Objectif de travail…….31
III- Matériel……...31

1- Matériels de laboratoire utilisé……...……...31
2- Matériel végétal……...……..32
IV- Méthodes……32
1- La récolte du matériel végétal……...……32
2- La conservation et le séchage de la plante……...…….32
3- - Tests phytochimiques……..33
V-Les huiles essentielles……...34
1- Extraction par hydrodistillation…….34
2- Calcul du rendement…….35
VI- Tests microbiologiques……...36
VI-1- Les germes étudiés……..36
VI-2- Activation des souches……36
VI-3- Conservation des souches……...36
VI-4- Mode opératoire……..37
VI-5- L'antibiogramme…….38
1- Méthode des disques……....39
VI-6- Test de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle……..41
1- L'aromatogramme……....41
Résultats et Discussion
I-Les tests phytochimiques……43
II- Le rendement en huile essentielle……44
III- L'antibiogramme……...45
IV- L'aromatogramme……..46
Conclusion……..48
Références bibliographiques……49
Annexe ……

Introduction

Pendant des siècles, l'homme est toujours soigné par les plantes, de manière empirique, guidé par la tradition ou les coutumes. La plupart des grands médecins du passé ont été des phytothérapeutes. **(Goeb, 1999)**.

Les vertus thérapeutiques des plantes ont été expérimentées depuis lors et leurs précieuses caractéristiques se sont transmises oralement de génération en génération ou consignés dans les vieux écrits. Les remèdes de bonne réputation ont prévalu malgré le développement de la médecine moderne qui est venue marginaliser le recours aux techniques médicales naturelles (**Tchamdja, 1995)**.

Les propriétés biologiques des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20ème siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser **(Yano et al, 2006)**. Plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques des plantes aromatiques et médicinales, en particulier leurs pouvoirs antibactériens **(Bourkhiss et al, 2007 ; Magina et al, 2009)**, antifongiques **(Moleyar et al, 1986. Soliman et al, 2002)**, antioxydants **(Bouzouita et al, 2008)** et insecticides **(Erler et al, 2006)**.Dans la littérature, les huiles essentielles les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des Lamiaceae : Thym, Origan, Sarriette, Lavande, Menthe, Romarin, Sauge, Hysope. Cette activité est due principalement à ces composés majoritaires tels que le thymol, le carvacrol, 1,8-cinéole, p-cymène, α et β pinène **(Pellecuer et al, 1980)**.

Ce travail a pour objet l'extraction et l'activité antibactérienne des huiles essentielles de mettre en évidence l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*. Cette activité a été évaluée sur des souches référenciées: *Escherichia coli* (urine), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Notre travail est réparti en quatre chapitres, initiés par une recherche bibliographique où nous apportant dans le premier chapitre sur les huiles essentielles.

Le second sera consacré à la présentation botanique de la famille des lamiacées et l'espèce étudiée (*Salvia officinalis*), sa localisation géographique et ses propriétés thérapeutiques.

Le troisième chapitre est un rappel sur les microorganismes potentiellement pathogènes et les principaux moyens de lutter contre eux (les antibiotiques).

Enfin, le dernier chapitre est consacré à la partie expérimentale, où nous avons traité le sujet de notre étude.

Chapitre I : Les huiles essentielles

I-1- Historique

L'utilisation des huiles essentielles remonte aux plus anciennes civilisations, tout d'abord dans l'Orient et le Moyen Orient et par la suite au nord de l'Afrique et en Europe .Il ya environ 3000ans, Les huiles essentielles étaient utilisées en Egypte. Les arabes participèrent activement aux techniques de distillation des HEs, ils inventèrent l'alambic grâce auquel, ils purent obtenir des HEs très pures dont la médecine et la parfumerie ont fait grand usage **(Odoul, 2003)**.

Au 16ème siècle, le médecin Suisse Paracelse étudie l'extraction de « l'âme »des végétaux à laquelle on donnera le nom « d'esprit d'essence »,ensuite « l'huile essentielle ».En 1877, Léopold Ruzicka a mis en évidence les « polyterpènes »,composants importants des essences.

En 1928, le chimiste français René-Maurice Gattefosse a utilisé le terme « Aromathérapie » pour décrire les propriétés curatives des huiles essentielles lorsqu'il a découvert par accident que la lavande a guéri une brulure à sa main **(Garneau, 2005)**.

De nos jours, l'usage es huiles essentielles est très large dans les domaines de la pharmacologie, la cosmétologie et l'agroalimentaire.

I-2- Définition et caractérisation

I-2-1- Définition

Il s'agit d'un extrait pur et naturel de plantes aromatiques **(Roulier. G 1990. Wegrzyn. R 2005)**.Elle concentre l'essence de la plante, autrement dit son parfum. Il s'agit de substances odorantes, volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs.**(Lardry J-M,2007)**. Il faut ainsi une très grande quantité de plantes fraîches pour obtenir quelques millilitres d'huiles essentielles. **(Nogaret-Gerhart. AS 2008)** On ne peut définir une essence sans définir sa méthode d'extraction.

Selon la pharmacopée européenne **(Mai 2008)** : « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée

de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

Selon l'AFNOR (l'Association Française de Normalisation) **(Paris. M1981)**, ce sont des produits généralement odorants, obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau, de végétaux ou de parties de végétaux, soit par expression du péricarpe frais de certaines citrus. Cette définition excluant les essences obtenues par d'autres procédés d'extraction.

I-2-2- Caractérisation

Les huiles essentielles sont des substances odorantes, huileuses, volatiles, très réfringentes, hydrophobes incolores ou jaunâtres, inflammables s'altérant facilement à l'air en se résinifiant. Elles sont liquides à la température ordinaire, elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes dont elles se distinguent par leur volatilité, suave, piquante au goût et ne laissent pas de taches durables sur le papier. La densité varie entre 0,8 et 1,2, la plupart sont plus légères que l'eau avec une densité de 0,8 à 0,98. Les eaux aussi parfumées sont mises dans le commerce sous le nom «d'eau aromatique».

Toutes les essences sont insolubles dans l'eau, mais sont solubles dans l'éther éthylique, le chloroforme, le sulfure de carbone, l'éther de pétrole, et dans l'alcool absolu. Leur solubilité dans l'alcool varie, elle fournit pour certaines essences un critère de leur puretés. Elles constituent elles-mêmes d'excellents dissolvants, elles dissolvent les résines, les matières grasses, le soufre etc.… **(Durvelle, 1930)**.

I-3- Répartition et localisation

Selon Lawrence (1995) les huiles essentielles existent chez 17 500 espèces végétales. Les genres riches en huile essentielle sont répartis dans un nombre limité de familles à haute teneur en matières odorantes tels que (*les Myrtaceae, les Lauraceae, les Rutaceae, les Lamiaceae, les Asteraceae, les Apiaceae, les Cupressaceae, les Poaceae, les Zingiberuceae, Piperaceae*, etc.…) **(lograda, 2010)**.

Les essences peuvent être localisés au niveau des :

- **Cellules sécrétrices** (Lauracées, Magnoliacées, Pipéracées). Elles peuvent être de deux types :
  - Cellules épidermiques comme celles des pétales de rose, de violettes ou de muguet.

- Cellules sécrétrices internes retrouvées au niveau du parenchyme corticale, du libère et du bois.

➢ **Organes sécréteurs**

- Poches sécrétrices : (Myrtacées)
- Poils excréteurs : (Labiées, Oléacées, Géraniacées)
- Canaux sécréteurs : (Conifères, Ombellifères) **(Duval, 2012)**.

Selon les espèces, les organes sécréteurs d'essence peuvent se trouver dans les fleurs (Oranger, Rose, Lavande), les feuilles (Citronnelle, Eucalyptus, Laurier noble), les écorces (Cannelier), les bois (Bois de rose, Camphrier, Santal), les racines (Vétiver), les rhizomes (Curcuma, Gingembre), sève (encens, myrte), bourgeons (pin), les fruits **(Anis, Badiane),**les graines (Muscade).Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une HE, la composition de cette dernière (qualitative et quantitative) peut varier selon sa localisation dans la plante **(DA Saliva, 2010)**.

I-4- Rôle physiologique des huiles essentielles

Beaucoup de plantes produisent des Huiles essentielles en tant que métabolites secondaires. Leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante reste encore mal connu. Selon **(Bakkali, 2008)**, les Huiles essentielles peuvent avoir plusieurs effets «utiles» pour la plante :

• Repousser ou au contraire attire les insectes pour favoriser la pollinisation

• Comme source énergétique.

• Facilitant certaines réactions chimiques.

• Permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques.

• Réduction de la compétition des autres espèces de plantes par inhibition chimique de la germination des graines.

• Par protection contre la flore microbienne infectieuse.

• Action répulsive sur les prédateurs par goût et effets défavorables.

I-5- Composition chimique des huiles essentielles

Sur le plan chimique, les HE (Huiles essentielles) sont des mélanges de structure extrêmement complexe, pouvant contenir plus de 300 composés différents **(Hallel, 2011)**.

C'est l'ensemble qui lui confère ses propriétés, et non pas seulement tel ou tel principe actif isolé. C'est aussi parce que les principes dits « actifs » sont entourés d'autres substances que notre organisme tolère les huiles essentielles. Tandis que dans les médicaments classiques, c'est justement leur « pureté » chimique (un principe actif, point) qui est à la fois responsable de leur action mais aussi de leurs effets secondaires **(Festy, 2009)**.

I-5-1-Saponosides

Le mot saponine est dérivé du mot latin sapo. Les saponines ont reçu leur nom du fait qu'elles produisent une mousse semblable à celle du savon **(Khenaka, 2011)**.

Les Saponosides sont des hétérosides de poids moléculaire élevé, appartenant aux stérols ou triterpènes. Ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes, ils sont caractérisés par leur action tensioactive (abaissement de la tension superficielle). Actuellement, les recherches montrent que les saponosides isolés à partir des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle, possèdent des propriétés anti-bactérienne et antifongique **(Bouhdjera, 2005)**.

I-5-2- Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques, le plus souvent d'origine végétale. La présence d'azote confère à la molécule un caractère basique. Ils sont de poids moléculaire extrêmement variables et certains peuvent atteindre un poids de 1000 g/mol. La plupart sont doués de pouvoir rotatoire (capable de dévier la lumière polarisée). Les drogues à alcaloïdes ont une importance considérable en thérapeutique. Les plus connus sont : morphine, colchicine, l'atropine, le curare et la cocaïne **(Bouhdjera, 2005)**.

I-5-3- Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3 000 Da. Ils peuvent former des complexes avec les protéines grâce à la présence de plusieurs groupements hydroxyles phénoliques.

Ils sont présents dans plusieurs plantes avec des proportions différentes, selon leur nature chimique. Ces composés sont divisés en deux classes: les tanins hydrolysables et les tanins condensés **(Khenaka, 2011)**.

I-5-4- Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, dont plusieurs sont responsables de couleur vive des fleurs, des fruits et des feuilles**(Pietta, 2000 ; Ghedira, 2005)**.

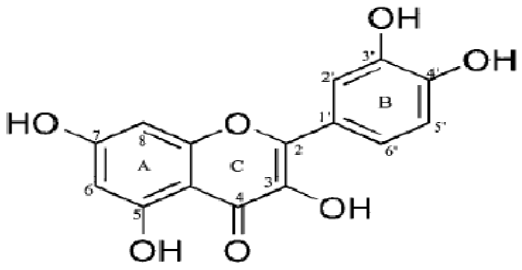


Figure 1 : Structure de flavonoïde.

I-4-1- Localisation, distribution et biodisponibilité des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes. Ces molécules ont été identifiées dans presque toutes les parties de la plante : les feuilles, les racines, les tiges, les fleurs, les graines et l'écorce **(Lee et al, 1994)**. Les flavonoïdes sont trouvés dans les fruits, les légumes, les noix, les herbes, les épices, aussi bien que dans le thé et le vin rouge. Ils sont consommés régulièrement avec l'alimentation humaine qui nous apporte environ 75 mg de flavonoïdes par jour. En effet, le thé, les agrumes, les pommes, l'huile d'olive, les oignons, le Cacao et plusieurs autres fruits et légumes sont très riches en flavonoïdes, les flavanols et les flavonols y seraient les plus abondants **(Schewe et Sies, 2003)**.

I-5-5- Les Terpénoïdes

Ils représentent le groupe le plus diversifié des métabolites secondaires végétaux **(Khenaka, 2011)**. Ils constituent entre autre le principe odoriférant des plantes. Les terpènes sont des hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte. La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 **(Bouhdjera, 2005)**. On distingués les dérivés des terpènes dans différentes classes selon le nombre d'unités isopréniques.

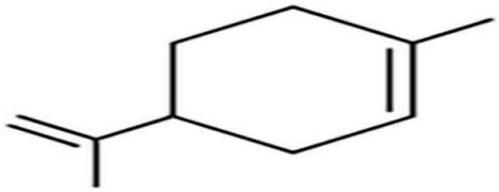


Figure 2 : Structure de terpène.

I-6- Les chémotypes des huiles essentielles

Les huiles essentielles chémotypes sont une forme de classification chimique, botanique et biologique de la molécule présente en majorité dans une HE. Par exemple, l'H.E.C.T.de Thymus vulgaris à carvacrol est connue pour son activité antiseptique, alors que l'H.E.C.T. de Thymus vulgaris à thymol a des propriétés anti-infectieuses majeures. Il est donc préférable de choisir une H.E.C.T. lorsqu'on utilise les HEs en thérapeutique **(Mayer, 2012)**.

I-7- Facteurs de variabilité des huiles essentielles

Ils sont très nombreux et problématiques. Ils résultent de la grande latitude laissée au fabriquant en terme de source (organe producteur, variété et origine géographique) et mode d'obtention:

- **l'existence de chémotypes**: (c'est-à-dire une subdivision au sein d'une même espèce en fonction de sa composition chimique), très fréquents dans les plantes à HEs (le thym par exemple) **(Coudderc, 2001)**.
- **l'influence du cycle végétatif**: qui peut faire varier de 50% la teneur d'un composé **(Coudderc, 2001)**.

- **l'influence de facteurs extrinsèques**: comme l'environnement (température, humidité relative, durée totale d'insolation ou encore régime des vents) ou les pratiques culturales (apport d'engrais, régime hydrique), en effet des variations de composition chimique des HEs d'une même espèce d'eucalyptus provenant de différentes zones ont été observées selon une étude au Maroc **(Zrira et al, 1994)**.
- **l'influence du procédé d'obtention:** la labilité des constituants des HEs entraine leur modification lors de l'hydrodistillation sous l'influence de l'eau, l'acidité et latempérature (réarrangements, isomérisation, racémisations, hydrodistillation) **(Coudderc, 2001)**.

I-8- Propriétés des huiles essentielles

I-8-1- Propriétés physique

- Les huiles essentielles sont en général liquides à température ambiante, parfois visqueuses (myrrhe) ou cristallisées (camphre); certains cristallisent à faible température (menthe).

- Les essences comme les citrus sont sensibles à la chaleur et finissent par se décomposer; il faut les conserver de préférence au frais. Les HEs sont plus résistantes à la chaleur à condition de ne pas les conserver trop longtemps car les composants volatils s'évaporent (surtout les résineux) et l'HE se prend en masse (aspect pâteux) et devient inconsommable.

- Elles sont volatiles (odorantes) ce qui leur permet leur entrainement à la vapeur d'eau lors de la distillation **(Zahalka, 2010).**

- Elles sont très altérables, elles s'oxydent au contact de l'air et de la lumière.

- Elles sont totalement solubles dans les huiles végétales (meilleurs solvants et véhicules), dans les alcools et les solvants organiques.

- Elles sont colorées et tout le spectre de l'arc-en-ciel est représenté : le bleu de la matricaire, le rouge de la sarriette, le rose de la gaulthérie, le vert de l'inule odorante, le jaune de la sauge officinale et sclarée.

- Elles sont dotées d'un pouvoir rotatoire, soit la faculté de dévier la lumière polarisée qui les traversent à droite (dextrogyre) ou à gauche (lévogyre).

- Elles présentent une densité d < 1 plus légères que l'eau ce qui permet leur séparation dans la vase florentin (essencier), sauf pour les huiles essentielles de clou de girofle, cannelle et sassafras **(Hallel, 2011)**.

- Elles sont inflammables et nécessitent de connaitre leur point éclair pour leur stockage et leur transport (l'HE de pin des landes étant la plus inflammable à cause de la térébenthine) **(Zahalka, 2010)**.

I-8-2- Propriétés pharmacologiques

Les qualités thérapeutiques des plantes aromatiques et médicinales et de leurs extraits ont été reconnues depuis l'antiquité, tandis que les essais pour caractériser ces propriétés au laboratoire datent de 1900 **(Benzeggouta, 2005)**.

Les huiles essentielles sont employées pour leur saveur et odeur en industrie des produits naturels et en industrie des parfums.

Elles ont des propriétés : dépuratives, cicatrisantes, analgésiques, cholérétiques, neurosédatives et anti-inflammatoires. Elles sont douées d'activités antimicrobiennes, antifongiques, antiparasitaires et antihelminthiques; et possèdent aussi des propriétés antioxydants.

Plusieurs études ont montrés que l'utilisation des huiles essentielles peut diminuer les troubles menstruels, le stress post-partum ainsi que les troubles ménopausiques **(Benzeggouta, 2005)**. Dans les domaines phytosanitaires et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs peuvent également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathologiques et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires **(Abraham, 2006).**

I-9- Procédés d'extraction des essences naturelles

De tous temps, on connait les vertus des «essences de plante» et on s'efforça de les extraire depuis la plus haute antiquité. C'est vers le 13ème siècle, en Europe, plus précisément dans le Sud de la France, au royaume des parfums, que l'on a commencé à explorer diverses méthodes d'extraction de ces huiles volatiles **(France-Ida, 1996)**. Connaissant mieux les constituants des huiles, des techniques se sont développées visant à optimiser la qualité de l'huile tout en maintenant un rendement intéressant. La distillation est de loin, le procédé le plus utilisé pour l'extraction des huiles essentielles.

- **La distillation**

La distillation peut être définie comme étant la séparation des constituants d'un mélange de deux ou plusieurs composants en fonction de leur température de passage à l'état gazeux (ébullition ou sublimation). La distillation peut s'effectuer avec recyclage de l'eau de distillation (cohobation), ou sans recyclage. La production des huiles essentielles se ferait donc en deux étapes: la diffusion de l'huile essentielle de l'intérieur des tissus vers la surface du matériel végétal, et l'évaporation et entraînement à la vapeur d'eau **(Benjilali, 2004)**.

Le principe de la distillation repose sur la propriété qu'ont les huiles essentielles d'être volatiles sous l'effet de la chaleur, l'huile est alors entraînée par la vapeur d'eau. Après condensation, l'huile essentielle se sépare du distillat par décantation **(Bruneton, 1999)**.

Il existe deux méthodes de base de distillation pour l'obtention des huiles essentielles qui reposent sur le même principe : entraînement des constituants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau. La différence entre eux réside dans le degré de contact entre l'eau liquide et le matériel végétal **(Benjilali, 2004)**.

- **L'hydrodistillation**

Le matériel végétal est en contact direct avec l'eau. Lorsque le végétal est broyé on parle de turbo distillation. Selon **Bruneton (1999)**, l'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. Les inconvénients de cette méthode sont : la calcination du matériel végétal, ce qui entraîne une modification de la composition et des caractéristiques chimiques de l'huile essentielle **(Abou Zeid, 2000)**. La non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de l'odeur, de la couleur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation **(Chaichat et al, 1997)**.

Figure 3 : Dispositif de l'hydrodistillation

I-10- Domaine d'utilisation des huiles essentielles

Ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tels que:

I-10-1- En pharmacie

Les Huiles essentielles peuvent être utilisées comme :

- L'aromatisation des médicamentsdestinésà la voie orale **(Ziming et al, 2005)**.
- Pour leurs actions physiologiques (Menthes, Verveine, Camomille)**(Paris et Hurabielle,1981)**.

I-10-2- Dans l'industrie

- **Parfumerie et cosmétologie**

De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines Huile essentielle constituent des bases des parfums.

- Exemples: Rose, Jasmine, Vétiver, Ylang-ylang, etc.… (**Paris et Hurabielle, 1981)**.

- **Alimentation**

Les Huiles essentielles (huile de citron, de menthe, de girofle) sont très utilisées dans l'aromatisation des aliments (jus de fruits, pâtisserie) **(Ziming et al, 2005)**. Tous les segments alimentaires sont consommateurs des huiles essentielles : alcools, boissons non alcoolisées, confiseries produits laitiers, produits carnés, sauces, soupe, snacks, produits de boulangerie, sans oublier la nutrition animale **(Bruneton, 2002)**.

I-11- Toxicité des huiles essentielles

Bien que d'origine naturelle, les huiles essentielles peuvent se révéler dangereuses pour la santé présentant une toxicité par voie orale avec des doses létales à 50% (DL50) supérieures à 5 g/kg, peut provoquer des effets néphrotoxiques, hépatotoxiques, neurotoxiques etc.…, et peut entraîner une insuffisance rénale chez l'enfant à doses élevées (**Lakhdar, 2015**).

L'usage des huiles essentielles en application locale, en parfumerie ou en cosmétique, peut générer des irritations et des allergies. Les essences d'agrumes (pamplemousse, citron etc.…) sont photo-sensibilisantes par des réactions épidermiques après exposition au soleil **(Lakhdar, 2015)**. L'utilisation des huiles essentielles doit s'accompagner de nombreuses précautions. La plupart des composés d'une huile essentielle sont lipophiles et sont donc rapidement absorbés, quel que soit la voie d'administration. Plusieurs facteurs jouent un rôle dans la dangerosité d'une huile essentielle comme la teneur en molécules toxiques, la manière d'appliquer l'huile essentielle, le dosage ou encore la durée de l'application. Il convient donc de tester une huile essentielle avant toute utilisation. De plus, il convient de ne jamais appliquer une huile essentielle pure sur les muqueuses (nez, yeux etc.…), ce type d'application nécessite une dilution systématique de l'huile essentielle. Elle est déconseillée aux femmes enceintes et aux femmes qui allaitent **(Chavanne, 2011;Muther, 2015)**.

I-12- Mode de conservation des huiles essentielles

Lorsque les archéologues découvrent les tombes des pharaons égyptiens, et autres dignitaires, ils n'ont aucun problème pour identifier ce qui était contenu dans les petits vases en albâtre. En les portant sous les narines pour capter l'odeur intacte... et vieille de 3.000 ans, pour preuve, on a retrouvé des essences dans des doubles jarres en terre cuite dans les pyramides d'Égypte. Actuellement, La conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables si l'on veut éviter leur oxydation et leur dégradation. Les récipients en verre doivent être teintés (brun ou bleu) afin de préserver les principes actifs de l'air et de la lumière. Toutefois, l'acier inoxydable ou l'aluminium, fermé avec des bouchons étanches et chimiquement inertes, peuvent également être utilisés. Ils doivent être conservés dans un endroit frais, de température inférieure à 20°C. Il est conseillé d'ajouter des billes de verre dans les flacons entamés, afin d'éviter le contact avec l'air au fur et à mesure de l'utilisation (l'oxygène étant également une cause d'altération). Les récipients en matière plastique sont fortement déconseillés, car ils sont attaqués par certains constituants des huiles

essentielles. Il faut adopter un bon système de conservation pour maintenir la qualité et en préserver les bienfaits. La durée de conservation de l'HE pure, dans de bonnes conditions, pour celle qui estplus légère que l'eau est de quatre ou cinq ans. Pour celles qui sont dites «lourdes » comme la cannelle (feuille, écorce) ou le clou de girofle, cette évaluation passe à plus de dix ans mais la durée de vie des essences est limitée à 12 mois pour la famille des agrumes (bergamote, citron, mandarine, orange …) **(Roux, 2008)**.

Chapitre II : Généralités sur Salvia officinalis

II-1- Historique

La sauge tire son nom du latin salvare (guérir) qui traduit son rôle ancestral en phytothérapie **(Hippolyte et al, 1904)**. Elle était une des plantes salvatrices du moyen âge. Elle est reconnue par les Chinois. Ces derniers n'hésitaient pas à échanger leurs feuilles de thé les plus précieuses contre des feuilles de sauge. D'après l'histoire, une variété de sauge appelait « Chia » était cultivée par les mexicains **(Madi, 2010**). Les Grecs, les Romains et les Arabes l'employaient communément comme tonique, et en compresse contre les morsures de serpents. En Egypte les femmes en buvaient pour être fertile **(Charles, 1809)**.

II-2- Description botanique et répartition géographique

Il y a plusieurs espèces de sauge dans le monde (environ 900 espèces); en Europe c'est la sauge officinale (ou grande sauge) qui est la plus utilisée comme plante médicinale **(Walker et al, 2004)**.

La sauge officinale est une plante commune dans les pays du pourtour méditerranéen, elle affectionne les lieux ensoleillés, on la cultive par semis au printemps. Les plantes sont remplacées tous les 3 ou 4 ans et les feuilles sont récoltées en été. La sauge est une plante très ramifiée, aux tiges de section carrée, à la base lignifiée mesure de 20 à 30 centimètres. La racine de la sauge est brunâtre et fibreuse. Les feuilles opposées, elliptiques, inférieures pétiolées, veloutées, oblongues, rugueuses, à bord dentelé réticulées, molles, à dessus blanchâtre, persistent l'hiver grâce au revêtement de poils laineux qui les protège. Les fleurs, bleu-rose, visibles de mai à août, sont grandes, groupées à la base des feuilles supérieures, l'ensemble forme de grands épis. Commune en Europe, plus spécialement dans les régions méridionales, elle est cependant rare à l'état sauvage. Sa hauteur est de 50 à 60 cm **(Maatoug, 1990)**.

II-3- Classification taxonomique

La sauge suit la classification suivante selon (**Cronquist, 1968)**.

Figure 4: Feuilles de la sauge (*salvia officinalis* L.)

Règne : *Plantae*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous class : *Asteridae*

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Salvia*

Espèce : *officinalis.* L

II-4- Les principes actifs

La plante contient de l'huile essentielle(les cétones mono terpénique sont considérées Comme des constituantes principales), des tanins catéchiques, des acides polyphénols carboxyliques (rosmarinique, caféique, chlorogénique, ρ-coumariqueetférulique), des principes amères di-terpéniques, des triterpénepentacycliques (acides ursolique, crategolique, oléanolique etc.), des phytostérols et des flavones **(Said et al, 2002)**.

II-5- Culture de la Sauge

II-5-1-Méthodes de culture de la Sauge

La Sauge se multiplie par semis division des touffes ou bouturage. Les plantations se font au mois d'avril. Si vous faites des semis semez en surface et laissez les graines prendre de la lumière pendant un ou deux jours avant de les recouvrir de terre.

- **La récolte**

Vous pouvez récolter les feuilles toute l'année au fur et à mesure de vos besoins mais la meilleur période se situe juste avant la floraison au printemps.

II-6- Conservation de la Sauge

Cette plante se conserve fraiche quelques jours dans le bac à légumes du réfrigérateur. Elle supporte très bien la congélation. Pour un séchage, cueillez les branches et faites les sécher tète en bas dans un endroit sec et aéré **(Patricia, 2014)**.

II-7-La composition chimique de l'huile essentielle de la sauge

La composition chimique de l'huile essentielle de la sauge a été déterminée par la méthode chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG / SM), cette composition est représentée dans le tableau 1.

Tableau 1 : Composition de l'huile essentielle de Salvia officinalis **(Wolter, 2007)**.

hydrocarbures terpéniques	Cétones
Myrcène 0,3 à 3%	Camphre 4, 1 à 27,5%
Limonène trace à 7,6%	α-thujone 1, 5 à 44,2%
Humulènetrace à 18,9%	β-thujone 1 à 36,7%
α-pinène 1,7 à 13,1%	Ester
β-pinène 0,5 à 17,9%	Acetate de bornyl l0,1 à 3,5%
Camphène 1,1 à 10,3%	Alcools
β-caryophyllènetrace à 9,4%	Linaloltrace à 1,8%
p-cymène trace à 1,1%	Bornéo l0,7 à 6,2%
	Viridiflorol l0 à 9,9%
	1,8- cinéole 0,7 à 20,8%

II-8- Paramètre influençant la composition chimique

Selon (**Teuscher et al, 2005)**, la composition chimique d'une plante est avant tout déterminée par sa biosynthèse et son profil génétique. Ainsi, pour une même espèce, de nombreux chémotypes aux profils chimiques différents peuvent exister. La composition chimique d'une plante varie selon :

- **La nature de ses organes:** car la biosynthèse y est nettement différencié. Ainsi, l'huile essentielle obtenue à partir de l'écorce de cannelier de Ceylan contient majoritairement de l'aldéhyde cinnamique, alors que celle obtenue à partir de la feuille est plutôt riche en eugénol. L'huile essentielle obtenue à partir de l'écorce de ce même cannelier est riche en camphre.
- **Les conditions de croissance de la plante :** ces conditions interviennent également dans sa composition chimique. Ainsi le teneur en carvone de l'huile essentielle de carvi augmente au détriment du limonène, tout au long de la maturation du fruit.
- **Les conditions environnementales:** le profil chimique peut également être modifié par la qualité et la quantité de la lumière, la température, la pluviométrie, les facteurs édaphiques, et le stress.
- **Les conditions de culture :** elles influencent également les profils qualitatifs et quantitatifs (dates du semis et de la récolte, traitements phytosanitaires, emploi

d'engrais, état de maturation et des conditions atmosphériques lors de la récolte, techniques de récolte, condition de coupe, traitement après récolte, mode de conditionnement, durée et conditions de stockage).

II-9- Utilisation Thérapeutique

Le nom scientifique de la sauge indique clairement l'importance de son rôle en phytothérapie: *Salvia* vient de salvare qui, en latin, signifie «guérir». Sa saveur est chaude, amère et astringente, elle agit contre les maux de gorge, les troubles de la digestion, elle est stimulante, tonique et stomachique. La sauge possède aussi à divers degrés des propriétés antispasmodiques, fébrifuges, antisudorales et emménagogues (action bénéfique sur les menstruations) **(Duke et al, 2002)**.

L'huile essentielle de la sauge officinale est neurotoxique, pouvant provoquer des crises nerveuses rappelant l'épilepsie, ainsi que des vomissements. Le thujone et le camphre en sont responsables. Elle est par ailleurs bactéricide et elle est à éviter lors de la grossesse (risque de fausse couche) ou de l'allaitement **(Jean-Michel, 2012)**.

II-10- Toxicité

Aucune toxicité aigue ou chronique n'a été signalée emplois aux doses usuelles des feuilles de sauge et de son huile essentielle (jusqu'à 15 gouttes par jours). **(Rayaud, 2006)**.

Il est recommandé de ne pas dépasser trois tasses d'infusion de sauge par jour pour que l'apport en thyone soit inférieur à 3 mg. Le traitement ne doit pas non plus excéder deux semaines.

Comme toute substance active, la sauge comporte des effets indésirables si on ne respecte pas les doses recommandées : nausées, vomissements, bouffées de chaleur, accélération des battements du cœur, vertiges et convulsions.

Du fait de leur action stimulante sur l'ovulation, les feuilles de sauge sont contre-indiquées pendant la grossesse et l'allaitement ou en cas de cancer hormono-dépendant (cancer du sein) Les produits à base de sauge pourraient en effet interagir avec les neuroleptiques, certains médicaments prescrits contre l'épilepsie et les médicaments pour diminuer les troubles du sommeil ou l'anxiété **(Anonyme[16], 2011)**.

Chapitre III : Bactéries et antibiotiques

III- Bactéries et antibiotiques

III-1- Introduction

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutanéo-muqueux. Pour résister à ces microorganismes de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut schématiquement en distinguer 3 groupes : les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle (ouinnés) et l'immunité acquise **(Kaufmann, 1997)**.

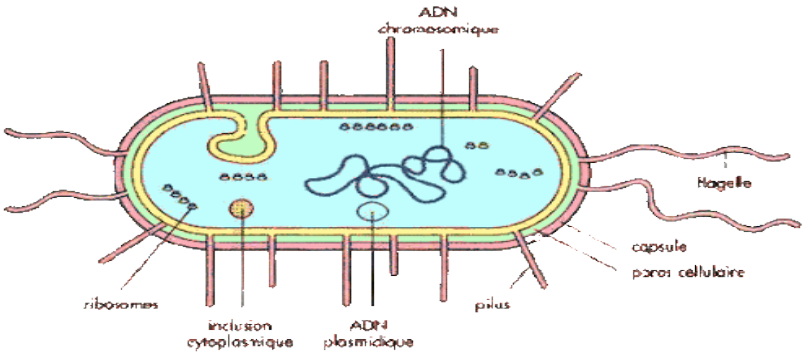


Figure 5: Structure générale d'une bactérie.

III-2- Définition de l'activité antibactérienne

L'activité antibiotique correspond à une activité d'une molécule ou composé présent au sein d'un végétal qui à très faible concentration, inhibe le développement d'une bactérie ou la tue La sensibilité d'une bactérie à un antibactérien varie selon la nature de l'antibactérien. Face à un antibactérien donné, la sensibilité d'une bactérie peut être très différente selon la souche d'appartenance **(Nicolas et Daniel, 1998)**.

III-3- Bactériologie médicale

1-*Escherichia coli*

- **Description**

Escherichia coli fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. Les genres constituant cette famille sont des bacilles à Gram négatif, aéro-anaérobies facultatifs. **(Vimont, 2007)** mesurant 0,3 à 1 µm de diamètre sur 1 à 6 µm de long. Ils sont non sporulés, parfois capsulés et possèdent une ciliature péritriche pour les espèces mobiles.

E. coli est sans doute l'organisme vivant le plus étudié à ce jour. En effet, l'ancienneté de sa découverte et sa culture facile (division toutes les 20 minutes) en font un outil d'étude de choix. **(Laukiadis, 2007)**.

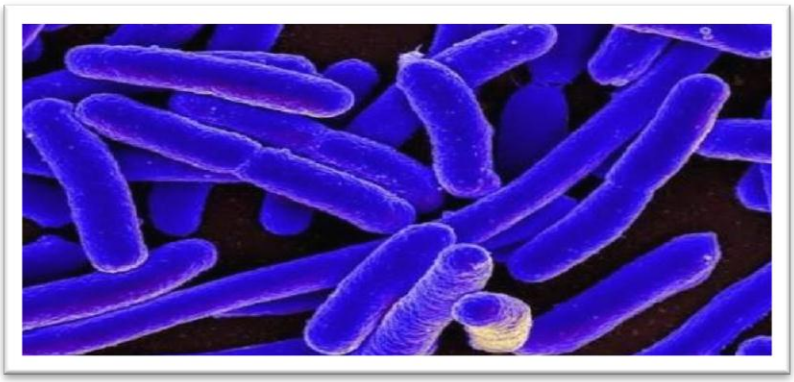


Figure 6 : *Escherichia coli* vue au microscope photonique.

2-*Staphylococcus aureus*

- **Description**

Le Staphylococcus aureus fait partie de la famille des *Micrococcaceae*. **(Hallel, 2011)** Ces cellules bactériennes ont la forme de coques (cocci) à Gram positif, groupés en amas, ayant la forme d'une grappe de raisin de 0.5 à 1 µm de diamètre, elles sont immobiles, non sporulées, à un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif, catalase positive. son optimum de croissance est atteint à 37°C **(Lavigne, 2012)**.

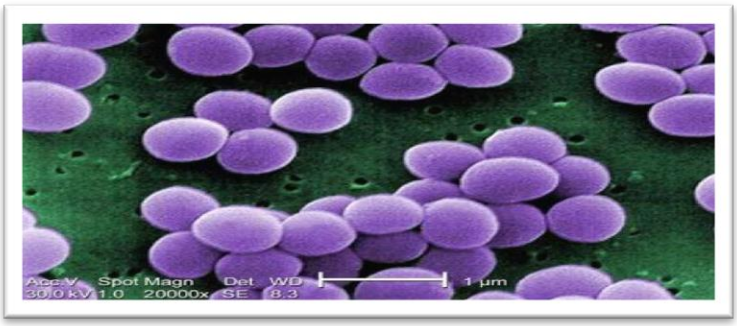


Figure 7 : *Staphylococcus aureus* vue au microscope photonique**.**

III-4- Les antibiotiques

1- Généralités sur les antibiotiques

- **Les antibiotiques et leur histoire**

Pour certains, on ne peut parler d'antibiotique sans évoquer **Sir Alexander FLEMING**, mais pour d'autres on se doit de rappeler l'étymologie du mot, car elle nous vient d'un mycologue nancéen, **Jean-Paul VUILLEMIN**, qui en 1889, introduit le terme "antibiose" (du grec anti : "contre" et bios : " la vie") ; une idée selon laquelle l'interaction biologique entre deux ou plusieurs organismes porte préjudice au moins à l'un d'entre eux **(Vuillemin. J-P, 2011)**.

L'histoire est célèbre : **Alexander FLEMING**, biologiste écossais brillant mais quelque peu distrait, laisse, faute de place dans le bain antiseptique, une boîte de culture sur sa table de travail durant ses vacances en 1928. A son retour, il découvre que ses cultures de staphylocoques ont été contaminées pendant son absence par le champignon *Penicillum notatum*, qu'étudie son voisin de paillasse. Il constate alors qu'autour des moisissures, la bactérie ne s'est pas développée et fait l'hypothèse que ces dernières sécrètent une substance qui bloque le développement de la bactérie, qu'il nomme pénicilline.

Mais devons-nous ne retenir que cet épisode ? Bien au contraire, la découverte de la pénicilline est le fruit d'un ensemble de travaux scientifiques menés par plusieurs chercheurs.

D'authentiques antibiotiques existent depuis des siècles dans la médecine populaire : il y a plus de 2500 ans que les Chinois soignent certaines infections superficielles avec une pâte moisie confectionnée avec de l'extrait de soja, où la moisissure constitue l'agent anti-infectieux **(Encyclopædia universalis, 1968)**.

50 ans avant FLEMING, **PASTEUR et JOUBERT** constataient que l'injection de bactéries du charbon (*Bacillus anthracis*) chez les animaux empêchait le développement de maladies bactériennes.

A la fin du XIX^{ème} siècle, **Ernest DUCHESNE**, médecin français, avait déjà remarqué que certaines moisissures pouvaient stopper la prolifération bactérienne mais cette découverte resta inappliquée jusqu'aux travaux de Fleming.

En 1910, un médecin allemand, **Paul EHRLICH**, met au point une molécule anti-infectieuse, le Salvarsan®, un dérivé de l'arsenic, utilisé dans le traitement de la syphilis jusqu'à l'arrivée de la pénicilline.

En 1930, **Gerhard DOMAGK**, médecin et chimiste allemand, directeur de recherche dans une industrie pour le textile, rechercha une activité anti-bactérienne dans les colorants fabriqués et trouva que l'un d'entre eux guérissait des souris infectées par un streptocoque. Il s'agit du sulfamydochrysoïtine (Rubiazol®), première molécule de la famille des sulfamides (**Michel-Briand. Y, Chabert. Y, 2009).**

Durant la même année, le biologiste français, **René DUBOS**, découvre une molécule produite par les bactéries du sol capable d'inhiber le pneumocoque. Mais l'arrivée massive des sulfamides à cette même période retarde ses travaux et ce n'est qu'en 1939 qu'il parvient à isoler la gramicidine, premier antibiotique naturel.

Le problème majeur de la pénicilline restait son extraction et sa purification et c'est en 1930 qu'il fut abordé avec **Ernst Boris CHAIN et Howard Walter FLOREY**. Ils mirent au point une forme stable et utilisable en thérapeutique employée pour la première fois sur l'Homme en 1941. Mais à ce moment-là, la seconde guerre mondiale fait rage, les besoins en pénicilline sont importants pour les soldats et les civils et la forme purifiée manque cruellement. Pour produire les quantités nécessaires, il a été décidé de demander de l'aide aux États-Unis qui ont mis au point des méthodes de culture au rendement plus important. Avec les encouragements de leur gouvernement, les sociétés pharmaceutiques américaines ont vaincu les difficultés de production de pénicilline à l'échelle industrielle (**Andremont. A, Tibon-Cornillot. M. 2007).**

L'équipe constituée de Fleming, Florey et Chain a reçu le prix Nobel de Médecine pour leur découverte en 1945.

2- Définitions

Les antibiotiques sont des agents dont la **toxicité sélective** résulte d'un mode d'action spécifique. Ils agissent à faible dose pour inhiber la croissance des micro-organismes ou pour les détruire. Ils peuvent être produits de manière naturelle par des champignons et des bactéries ou obtenus par synthèse et hémi synthèse.

Nous avons recours à leur utilisation de 2 manières selon leur spectre d'activité, c'est pour cela que l'on oppose les traitements documentés aux traitements dits probabilistes :

- Les traitements probabilistes sont administrés sans avoir une connaissance précise de la bactérie impliquée, ni même de sa sensibilité aux antibiotiques. On utilisera alors les antibiotiques dits à "large spectre", le choix de la molécule est basé sur les microorganismes infectants les plus probables avec un risque minimum d'allergie ou de toxicité.
- Les traitements documentés sont administrés après avoir déterminé la sensibilité des bactéries à l'antibiotique, ce qui sous-entend d'avoir préalablement isolé la bactérie en cause. Ce traitement peut être de première intention ou faire suite au traitement probabiliste une fois les données nécessaires connues (**Demoré. B, Grare. M, Duval R, 2012**).

  Leur classification est multiple, elle peut se faire selon :

  - La nature chimique car il existe souvent une structure de base sur laquelle il y a une hémisynthèse définissant ainsi une famille d'antibiotique (Ex : β-lactamines).
  - Le site d'action spécifique à chacun :
    - Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne (β-lactamines, glycopeptides, fosfomycine).
    - Inhibition de la synthèse protéique (aminosides, cyclines, phénicolés, acide fusidique, macrolides, oxazolidinones, mupirocine, synergistines).
    - Action sur la synthèse des acides nucléiques (quinolones, nitroimidazolés, rifamycines, sulfamides triméthoprime).
    - Action sur les membranes (polymyxines, daptomycine) (**Demoré. B, Grare. M, Duval R, 2012)**.

- Le spectre antibactérien : il représente l'ensemble des bactéries sur lesquelles l'antibiotique est actif et permet de prévoir son potentiel ainsi que ses limites.
    - Les antibiotiques à spectre large sont efficaces sur un grand nombre de types d'agents pathogènes. Ainsi, l'antibiotique sera actif sur une grande partie de tous les cocci et tous les bacilles. Ils sont utilisés lorsque la bactérie n'est pas identifiée et que la pathologie peut être due à différents types d'agents pathogènes.
    - Les antibiotiques à spectre étroit sont efficaces sur un nombre limité d'agents infectieux leur permettant de cibler une pathologie en particulier.
    - Les modalités d'action :
    - Un effet bactériostatique provoque une inhibition réversible de la croissance de l'organisme cible.
    - Un effet bactéricide entraîne la mort de celui-ci (**Demoré. B, Grare. M, Duval. R, 2012.).**

3- La notion de type d'activité

On distingue 4 notions pour qualifier l'activité d'un antibiotique. Ces paramètres définissent leurs critères d'utilisation (choix des doses, voie d'administration, intervalles de prises) :

- Activité dite "temps-dépendante" : l'activité dépend de la durée d'exposition des bactéries à l'antibiotique. Il s'agit notamment des pénicillines, céphalosporines, macrolides, fluoroquinolones et glycopeptides.
- Activité dite "concentration-dépendante" : l'activité dépend de la concentration en antibiotique. Cette notion est applicable pour les aminosides, l'imipenème et fluoroquinolones.
- Effet post-antibiotique : c'est le maintien d'une absence de reprise de la croissance bactérienne pour un couple bactérie/antibiotique donné, après exposition à l'antibiotique.
- Effet inoculum : c'est l'influence de la quantité de bactéries en contact avec l'antibiotique (**Demoré. B, Grare. M, Duval. R, 2012)**.

4- Principaux antibiotiques et leur classification

Tableau 2: Les principaux antibiotiques et leur classification **(Joffin, 2001)**.

Classe d'antibiotique	Exemples
Aminosides	Streptomycine, kanamycine, Gentamycine, Tobramycine, Amikacine
Molécules actives seulement sur les mycobactéries tuberculeuses	Ethambutol, Isoniazide
Antifongiques	Amphotéricine B, Fluorcytosine, Kétoconazole
Fosfomycine	Fosfomycine
Glycopéptides	Vancomycine
Imidazolés (Nitro-5-imidazolés)	Métronidazole…
Macrolides et apparentés	Macrolines vrais Erythromycine, Spiramycine, Josamycine Lincosamides Clindamycine, Lincomycine Streptogamines Pristinamycine, Virginiamycine

5- Modes d'action des antibiotiques

L'antibiotique doit posséder une cible qui soit unique au monde bactérien et absente, ou du moins inaccessible chez le patient. Cette contrainte fait qu'il n'y a que peu de stratégies disponibles pour qu'un antibiotique fonctionne efficacement. Les stratégies les plus exploitées sont les suivantes :

- ✓ **Action sur la paroi des bactéries**

La paroi bactérienne est une des caractéristiques essentielles des bactéries. Cette structure indispensable à la vie de celles-ci, n'existe en effet pratiquement pas chez les cellules humaines.

Un agent antibactérien efficace contre cette paroi aura donc une toxicité limitée chez l'homme. L'objectif de ces agents est de créer des déformations dans cette paroi, rendant plus difficile la division de la cellule (effet bactériostatique) ou diminuant sa protection contre le milieu, entraînant sa destruction (effet bactéricide).

L'action sur la paroi bactérienne se fait principalement au niveau de la synthèse du peptidoglycane. Cette synthèse est, en effet, un processus biochimique complexe qui fait intervenir de nombreuses enzymes. Les agents antibactériens peuvent ainsi agir à différents moments de cette synthèse.

Les bêta-lactamines, par exemple, se fixent sur des protéines de la membrane de la cellule, appelées PLP (Protéines de liaison aux pénicillines). Certaines de ces protéines interviennent dans les liaisons entre les chaînes de peptidoglycane de la paroi, ou assurent le remaniement de ces chaînes. D'autres ont des rôles particuliers, comme chez Escherichia coli. En se fixant à elles, les bêta-lactamines bloquent l'action de ces PLP, entraînant la destruction directe ou indirecte de la bactérie. **(Hllel, 2011)**.

- ✓ **Action sur la membrane cytoplasmique**

Les antibiotiques se fixent sur les phospholipides et les polyosides membranaires et désorganisent la membrane comme le cas de polymixine et colistine. **(Joffin.J.N., 2001)**.

- ✓ **Action sur la synthèse protéique**

Les ribosomes procaryotes ne sont pas constitués des mêmes protéines que les ribosomes eucaryotes, et ont d'ailleurs des coefficients de sédimentation différents [70S pour les ribosomes procaryotes (50S pour la sous-unité lourde et 30S pour la sous-unité légère) et 80S pour les ribosomes eucaryotes (60S pour la sous-unité lourde et 40S pour la sous-unité légère). **(Guindo, 2008)**.

Il existe des inhibiteurs :

- De la sous-unité 50S, qui empêchent la fixation d'un nouvel acide aminé sur la chaîne en croissance (phénicolés) ou le transfert de la chaîne en croissance du site A vers le site P (macrolides, lincosamides, streptogramines).

- De la sous-unité 30S, qui empêchent ou perturbent la liaison des aminoacyl-ARNt aux ribosomes (tétracyclines, aminoglycosides). **(Joffin.J.N, 2001)**.

- ✓ **Action sur les acides nucléiques**

Les quinolones sont des substances de synthèse qui agissent en inhibant des enzymes (topoisomérase ou ADN-gyrase) qui participent à l'enroulement des brins d'ADN. Les nitrofuranes et les nitro-imidazoles provoquent des cassures de l'ADN. La rifampicine est un

inhibiteur de l'ARN polymérase en se liant à une de ses quatre sous-unités et interfère avec la production d'ARN messager **(Delmée, 2004)**.

On distinguera les antibiotiques actifs d'une part sur la synthèse des ARN et d'autre part, sur la synthèse des ADN ou de leurs précurseurs. -Les Rifamycines sont inhibent la synthèse de l'ARN messager par blocage de la transcriptase qui est une ARN polymérase, ADN dépendante. Ils agissent par inhibition des synthèses protéiques. Par fixation sur les deux sous-unités bêta, elles empêchent l'initiation de la chaîne de transcription de l'ADN en ARN et son élongation **(Guindo, 2008)**.

6- Les mécanismes de résistances des bactéries aux antibiotiques

- **Support génétique de la résistance**

- La résistance naturelle

On parle de résistance naturelle lorsque toutes les souches d'une même espèce sont résistantes à un antibiotique. L'expression d'un caractère inné, partagé par l'ensemble de la communauté bactérienne, rend inappropriée l'utilisation de certains antibiotiques. Des particularités structurales de la paroi cellulaire, empêchant les antibiotiques d'accéder à leur cible, ou l'absence de cible sont autant de facteurs, qui conditionnent la résistance naturelle.

- La résistance acquise

La résistance acquise survient lorsque, seules, quelques souches d'une même espèce, normalement sensibles à un antibiotique, deviennent résistantes. Cette résistance peut être acquise par mutation ou par transfert de gènes. La résistance acquise par mutation est aussi qualifiée de résistance chromosomique. Le phénomène de mutation est conditionné par l'utilisation des antibiotiques. Ces derniers ne sont pas des agents mutagènes mais ils contribuent à sélectionner, de manière spontanée, des mutants résistants au sein d'une population bactérienne. En éliminant les bactéries sensibles, les antibiotiques permettent aux mutants résistants de se multiplier plus facilement. La cause principale de l'évolution et de l'extension des résistances aux antibiotiques est leur prescription à grande échelle en thérapeutique humaine. La transmission d'éléments génétiques mobiles, comme les plasmides et les transposons, favorise également l'acquisition des résistances par les bactéries. Elle peut s'effectuer par transduction, conjugaison ou transformation.

- ✓ **Mécanisme biochimique de la résistance**

Pour lutter contre l'action des antibiotiques, les bactéries ont élaboré plusieurs stratégies. Certaines ciblent directement les antibiotiques tandis que d'autres sont dirigées contre les mécanismes cellulaires, impliqués dans le transport de ces substances.

Aux niveaux physiologique et moléculaire, la résistance bactérienne est la résultante de trois phénomènes : la diminution de la concentration intracellulaire en antibiotique par diminution de la perméabilité membranaire et/ou sur-activation de l'efflux bactérien, l'inactivation des antibiotiques par dégradation ou modification enzymatique et l'altération de leurs cibles cellulaires.

Diminution de la concentration intracellulaire en antibiotiques : Les bactéries sont capables de se protéger de l'action des antibiotiques en réduisant la concentration intracellulaire de ces derniers. Pour cela, leur absorption dans les cellules peut être limitée par une modification de la perméabilité membranaire. Pour les antibiotiques ayant pénétré dans le milieu intracellulaire, une deuxième option est envisageable : leur prise en charge par les pompes d'efflux membranaires, qui assurent leur exportation active hors des cellules.

7- **Modification de la perméabilité membranaire**

La paroi des bactéries Gram positives est presque exclusivement constituée de peptidoglycane, auquel sont associés des polymères d'acide teichoïque. La paroi des bactéries Gram négatives est plus complexe. Le peptidoglycane, réduit à une fine couche, est entouré par deux membranes. La membrane interne comporte majoritairement des phospholipides alors que la membrane externe présente une structure asymétrique, avec une face interne constituée de phospholipides et une face externe, caractérisée par la présence du lipopolysaccharide (LPS). Le LPS représente 75% de la surface totale de la membrane externe et établit des interactions spécifiques avec des protéines membranaires, telles que les porines.

- ✓ **Les systèmes d'efflux bactériens**

Les premiers cas de résistance par efflux ont été mis en évidence pour des agents chimiothérapeutiques, efflués par la glycoprotéine P des cellules cancéreuses de mammifères. Les pompes d'efflux sont des transporteurs membranaires, impliqués dans la résistance aux antibiotiques par exportation active des drogues dans le milieu extracellulaire. Ces pompes peuvent être des transporteurs « drogue-spécifiques » et conférer une résistance vis-à-vis d'une seule classe d'antibiotiques. Tel est le cas des pompes Tet, qui effluent exclusivement les tétracyclines ou des pompes Mef, qui sont spécifiques des macrolides. Chez les bactéries

Gram négatives, les systèmes d'efflux sont des complexes protéiques tripartites constitués d'une pompe transmembranaire, d'une protéine périplasmique de jonction (MFP : Membrane Fusion Protein) et d'une porine, enchâssée dans la membrane externe (OMP : Outer Membrane Protein). Les pompes les plus fréquemment rencontrées sont les pompes AcrB chez Escherichia coli ou MexB chez P. aeruginosa. Chez les bactéries Gram positives, les systèmes d'efflux ne sont constitués que de la pompe. Les plus étudiés sont les pompes NorA ou QacA, chez S. aureus. **(Guinoisea. E, 2010)**.

Dégradation et modification enzymatique des antibiotiques : Les bactéries peuvent synthétiser des enzymes capables de détruire ou de modifier les antibiotiques comme :Le mécanisme de résistance aux bêta-lactamines le plus important est celui des bêta lactamases qui sont des enzymes qui hydrolysent le noyau bêta-lactame. Ces enzymes se retrouvent à la fois chez les bactéries Gram positif et Gram négatif, chez les espèces aérobies et anaérobies. La synthèse peut être médiée par le chromosome comme par un plasmide.

La résistance aux aminoglycosides s'opère le plus souvent par la production d'enzymes provoquant une acétylation, une phosphorylation ou une adénylation des molécules, ce qui empêche leur action au niveau ribosomial. De nombreux antibiotiques possèdent, dans leur structure, des liaisons chimiques sensibles à l'hydrolyse. Des enzymes du métabolisme bactérien ont évolué pour cliver ces liaisons, entraînant ainsi l'apparition de souches résistantes. Les modes de résistance par hydrolyse et par modification enzymatique sont les plus répandus. **(Delmée, 2004)**.

- ✓ **Altération des cibles cellulaires des antibiotiques**

La modification de la cible d'un antibiotique est un mécanisme commun de résistance. Elle est la conséquence d'une mutation spontanée au niveau d'un gène bactérien ou de l'acquisition du gène de résistance, par conjugaison, transduction ou transformation. Les changements occasionnés doivent inhiber l'action des antibiotiques tout en maintenant la fonction cellulaire de la cible. La modification peut toucher la structure de la cible mais aussi sa concentration **(Benzeggouta, 2005)**.

I-Généralité

A la différence des antiseptiques, les antibiotiques agissent sur des cibles bactériennes précisés, à des concentrations mille à dix mille fois plus faible que les antiseptiques.

En revanche, les bactéries avaient trouvées des moyennes pour résister et par conséquent, éviter l'action des antibiotiques significativement plus élevés que celle habituellement active sur les souches de cette espèce. Cette résistance due à une adaptation des bactéries aux antibiotiques. C'est pourquoi le traitement à base de pantes revient au premier plant **(Iserin, 2001)**.

II- Objectif de travail

- Extraction d'HE à partir de la sauge officinale.
- Recherche de l'activité antibactérienne d'HE sur deux germes pathogènes ubiquitaires responsables des infections urinaires *E. coli*, *Staphylococcus aureus.*

III- Matériel

Notre travail a été réalisé au laboratoire de biochimie et biologie végétal de l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie. Il a porté sur l'étude de l'activité antibactérienne d'huile essentielle de la sauge (*salvia officinalis* L.) sur deux souches bactériennes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

III-1- Matériels de laboratoire utilisés

- **Verrerie** : Becher, fiole, erlèn Mayer, tubes à essais, flacons, pipette pasteur, entonnoir, verre de menthe.
- **Autres matériels** : Bec benzène, anse à platine, disques en papier wattman (6mm), barreau (agiter les milieux), pince.
- **Appareils utilisées** : montage de hydrodistillation, ampoules à décantations, balance, étuve à **37°C**, autoclave, bain marie.
- **Les bactéries utilisées** : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.
- **Les milieux de culture utilisés** : Bouillon nutritif, Gélose de Muller Hinton, bouillon de Muller Hinton, Gélose Chapman,
- **Les antibiotiques** : la Vancomycine (Va).

III-2- Matériel végétal

On a utilisée dans notre travail une plante riche en huile essentielle qui est la sauge officinale et on a testé l'effet de l'H.E de cette dernière sur certaines souches bactériennes. La plante utilisé dans cette étude est collecté du jardin du site (ITA), université de Benbadis / Mostaganem.

Figure 8: Feuilles de la sauge (*Salvia officinalis*. L).

IV- Méthodes

IV-1- La récolte du matériel végétal

La plante a été récoltée dans la période au mois d'Avril 2020 de la ville de Mostaganem. La récolte des plantes a été effectuée très soigneusement de manière à ne pas détériorer les éléments organiques et minéraux présents.

IV-2- La conservation et le séchage de la plante

La plante, fraichement récoltée, est lavée et laissée sécher à l'ombre dans un endroit sec et aérer. Devenue sèche, la partie utilisée (feuilles) est récupérer d'un sac propre.

IV-3- Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existants dans la partie étudiée de la plante (feuilles), par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés.

- ✓ **Les saponosides**

A 2g de la poudre de plante, on ajoute 80 ml d'eau distillé et on met le mélange à ébullition. Après filtration, on laisse refroidir la solution. Par la suite on agite le filtrat verticalement. L'apparition d'une mousse qui dure quelques instants indique la présence des saponines. **(Karumi et al, 2004)**.

- ✓ **Les alcaloïdes**

On prend 10g de la drogue végétale pulvérisée. On ajoute à cette poudre quelques millilitres de HCL à 1% et on laisse le mélange en macération pendant 30 min. Le mélange est ensuite filtré. On ajoute le réactif de Mayer au filtrat. L'apparition d'une solution trouble indique la présence d'alcaloïdes **(Dohou et al, 2003)**.

- ✓ **Les tannins**

On prend 10g de poudre sèche de plante. On extrait les tannins avec 200 ml d'une solution aqueuse de C2H5OH à 1%. On filtre et on teste le filtrat avec quelques gouttes d'une solution aqueuse de Fecl3. L'apparition d'une couleur verte indique la présence de tanins. **(Karumi et al, 2004)**.

- ✓ **Les flavonoïdes**

On met 10g de poudre sèche de la drogue, dans 150 ml d'une solution d'HCL diluée à 1%. On la laisse macérer pendant 24h. Après filtration, on procède au test suivant : on prend 10 ml du filtrat, on le rend basique par l'ajout d'une goutte de NH4OH. L'apparition d'une couleur marron dans la partie supérieure du tube à essai indique la présence de flavonoïdes **(Okumu, 2005)**.

- ✓ **Stérols et terpènes**

A 2 ml de la solution aqueuse (filtrat de la poudre de plante), on ajoute 5 ml de CHcl3 et 2 ml d'acide acétique. Par la suite on ajoute quelques gouttes de H2SO4. Un cercle marron claire est formé dans la zone de contact entre les deux liquides. Ceci indique la présence de stérols et terpènes **(Rafia et al, 2010)**.

- ✓ **Mucilages**

A 1 ml de la solution à analyser, on ajoute 5 ml d'alcool absolu (alcool à 95 %). L'apparition de précipités floconneux montre la présence de mucilage **(Adiaratou, 2001)**.

V-Les huiles essentielles

V-1- Extraction par hydrodistillation

L'extraction des huiles essentielles des feuilles de plantes étudiée a été réalisé à l'aide d'un distillateur pour ce faire, 1Kg de matériel végétal est placé sur une grille qui surmonte l'eau en ébullition. Les vapeurs formées dans l'extracteur traversent la plante, libèrent l'huile du tissu végétal et l'entrainement avec elles. Après condensation dans le réfrigérant, celles-ci chutent et sont récupérées dans une ampoule de décantation, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité. L'huile obtenue est conservée à une température de 4°C dans des tubes en verre opaques, fermés hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière jusqu'à son usage. L'opération de distillation dure deux heurs, à la température de 100°C et une pression de 1,2 bar.

.

Figure 9 : Dispositif d'hydrodistillation des huiles essentielles.

V-2- Calcul du rendement

Le rendement est le rapport de la quantité d'huile essentielle récupérée sur la quantité de la plante qui a été traitée par hydrodistillation, il est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$R=Pb/PaX100$

R : rendement de l'huile essentielle

Pb : quantité de l'huile essentielle récupérée en gramme

Pa : quantité de la plante utilisée en gramme **(Hallel, 2011)**.

1. Les feuilles de Salvia officinale

2. Lavage et séchage

3. Hydrodistillation **4. L'extrait d'huile essentielle**

Figure 10 : Les principales étapes d'hydrodistillation

VI- Tests microbiologiques

VI-1- Les germes étudiés

Les souches bactériennes choisies pour cette étude sont des bactéries potentiellement pathogènes (*E. coli* isolé d'une urée d'un patient, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) **(tableau 3)**.

Tableau 3 : L'origine des souches étudiées**.**

Type de souche	Référence	Milieu de culture	Forme de conservation	gram	Aspects morphologique	Provenance

E coli	Urine	Mac Conkey	Desoxycolate	Négatif	Coccobacille	Laboratoire D'hygiène
S. aureus	25923	Gélose Chapman	Gélose de conservation	positif	Coccus en grappe de raisin	Laboratoire De pasteur

VI-2- Activation des souches

VI-3- Conservation des souches

On a conservé par la méthode suivante:

- Pour chaque souche utilisée, on ensemencé par stries une colonie bien isolée sur une gélose nutritive inclinée en utilisant une anse de platine préalablement flambée.

- Le tube à gélose inclinée est ensuite incubé à 37°C pendant 24 heures puis conservé à une température de 4 à 6 °C.

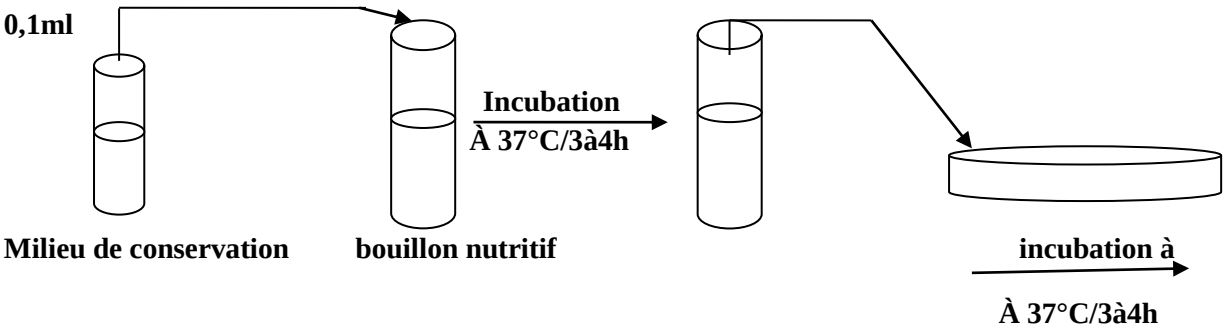


Figure 11 : Activation de la souche

VI-4- Mode opératoire

- **Préparation des boites de pétri**

- Placer la bouteille du milieu Muller Hinton (MH) pour toutes les bactéries dans l'autoclave en veillant à dévisser le bouchon.

- Laisser fondre jusqu'à ce que le milieu soit bien liquide.

- Répartir le contenu fondu dans les boites de pétri. Les fermer à reboucher tout de suite après remplissage en laissant le couvercle à moitié ouvert.

- Attendre que le milieu se solidifie pour fermer, retourner et conserver les boites à 4° C.

➢ **Préparation du repiquage**

- Prélever avec une pipette pasteur une colonie du chaque boite de pétri (Mac Conkey, Gélose Chapman) ensemencée respectivement avec les bactéries suivantes *E.coli, S. aureus.*

- Mettre à pousser à 35°C jusqu'au lendemain.

➢ **Préparation des suspensions de bactéries**

- Verser 2 ml d'eau physiologique stérile dans 2 tubes stériles.

- Prélever avec une pipette pasteur des colonies isolées sur les 2 boites de pétri de MH repiquées d*'E.coli, S.aureus.*

- Plonger et agiter la pipette dans l'eau physiologique stérile de manière à mettre les cellules en suspension dans l'eau.

➢ **Ensemencement**

L'ensemencement se fait par la méthode de (**Kirby-Bauer, 2004)**, par écouvillonnage

- Plonger un écouvillon stérile dans une suspension bactérienne et laisser s'imbiber.

- Le sortir du tube en l'essorant doucement sur la paroi.

- Ensemencer la boîte de Muller-Hinton dont l'épaisseur de la gélose est de 4 mm, en frottant l'écouvillon sur sa surface et en tournant la boîte 2 fois de 60° afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum.

- Laisser sécher les boîtes pendant 15 à 20 min.

VI-5-L'antibiogramme

- Principe

L'antibiogramme est un test qui permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne in vitro. Il renseigne, par conséquent, sur la sensibilité des germes vis-à-vis des agents anti-infectieux **(Hallel, 2011)**.

- **Choix des antibiotiques utilisés**

La société française de microbiologie a créer un comité de l'antibiogramme (CA-SFM) chargé de déterminer les valeurs critiques qui délimitent les catégories cliniques et de proposer un guide pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Les valeurs critiques définies pour les diamètres des zones d'inhibition (voir tableau 4),

Catégorie	Diamètre (mm)
S	≥ D
R	≤ d
I	≥d

R : (résistante), S (sensible), I(intermédiaire).

Tableau 4 : critères de catégorisation selon les valeurs critique

NB: On a utilisé dans l'antibiogramme : **la Vancomycine (VA).**

Tableau 5 : Les diamètres critiques et règles de lecture interprétative pour les souches testées

Les souches testées	Sigle (charge)	Famille	Nom de l'ATB	Diamètre critique Mm	
				d	D
(*E.coli*)	VA (30 µg)	Glycopeptide	Vancomycine	≥17	-
(*S. aureus*)	VA (30 µg)	Glycopeptide	Vancomycine	≥7	-

VI-5-1- Méthode des disques

- **Préparation des disques**

Les disques sont confectionnés avec du papier wattman à raison 6 mm de diamètre, Ils sont ensuite stérilisés dans l'autoclave pendant 20mn, puis déposés dans l'extrait d'huile essentielle, ainsi dans la solution de la Vancomycine , puis 5 disques préparés précédemment sont déposés à la surface de chaque boite. Les boites sont enfin incubés à 37°C/24h.

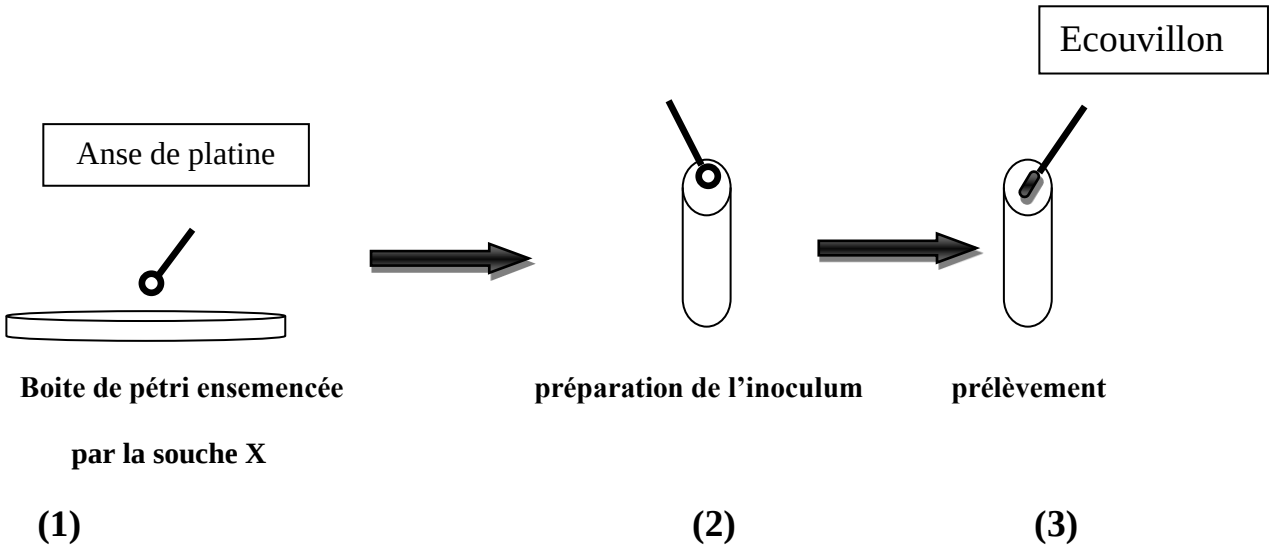
- **Lecture**

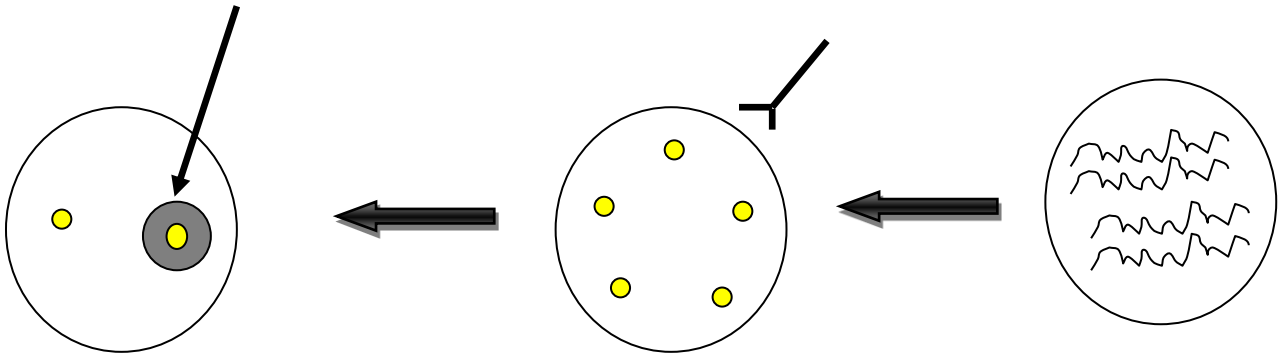
Pour chaque souche, et pour chaque antibiotique :

- Mesurer avec précision en millimètre le diamètre de la zone d'inhibition.

- Reporter cette mesure sur l'échelle de concordance correspondante.

- Les résultats de l'antibiogramme indiquent alors si la bactérie est sensible (S), Intermédiaire (I) ou résistante (R) à l'antibiotique selon le tableau des recommandations 2010.





Ecouvillonnage **Application des disques d'ATB** **Lecture**

(4) **(5)** **(6)**

Figure 12 : Technique de l'antibiogramme par la méthode de l'écouvillonnage

VI-6- Test de l'activité antibactérienne d'huile essentielle

VI-6-1- L'aromatogramme

- **Principe**

Cette méthode au même principe que l'antibiogramme, sauf que les disques à antibiotiques sont remplacés par d'autres, imprégnés d'huile essentielle et l'activité de notre huile sera évaluée par la mesure du diamètre d'inhibition autour des disques

Mode opératoire

- **Préparation de l'inoculum**

L'inoculum a été préparé à partir d'une culture jeune de 18 heures de la même manière qui a été préparé l'inoculum de l'antibiogramme.

- **Préparation des disques**

Des disques stériles de papier wattman de 6mm de diamètre ont été imprégnés d'huile essentielle brute de la sauge officinale.

- **Ensemencement**

- Le milieu Mueller-Hinton a été fondu puis refroidi. Il a été ensuite coulé en boites de Pétri à une épaisseur de 4 mm.

Après solidification, la surface de la gélose a été ensemencée avec une suspension de la souche bactérienne correspondante (*E.coli*, *S.aureus*), par écouvillonnage.

- Les disques de papier wattman préalablement imprégnés d'huile essentielle ont été placé a la surface des boites de pétri ensemencées.

- Des disques vierges ont été également placés à la surface des milieux ensemencés en guise de témoins.

- Incubation à 37° pendant 24 h.

- **Lecture**

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des huiles essentielles

Tableau 6 : le diamètre de la zone d'inhibition d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des huiles essentielles.

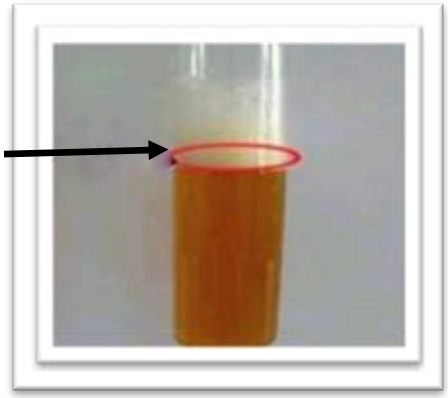
Résistante	-	Diamètre < 8 mm
Sensible	+	Diamètre compris entre 9 à 14 mm
Très sensible	++	Diamètre compris entre 15 à 19 mm
Extrêmement sensible	+++	Diamètre > 20 mm

Résultats et Discussion

I- Les tests phytochimiques

Les résultats des tests phytochimiques sur la poudre des feuilles de *Salvia officinalis* indiquent la présence des composés : les saponosides, les tanins, les flavonoïdes, stérols et terpènes et une absence des alcaloïdes et mucilages. Ils sont représentés par les images suivantes:

Les saponosides



Apparition d'une mousse indique la présence des saponosides

Les alcaloïdes (-)

Absence d'un précipité orange indique l'absence des alcaloïdes

Les tanins (+)

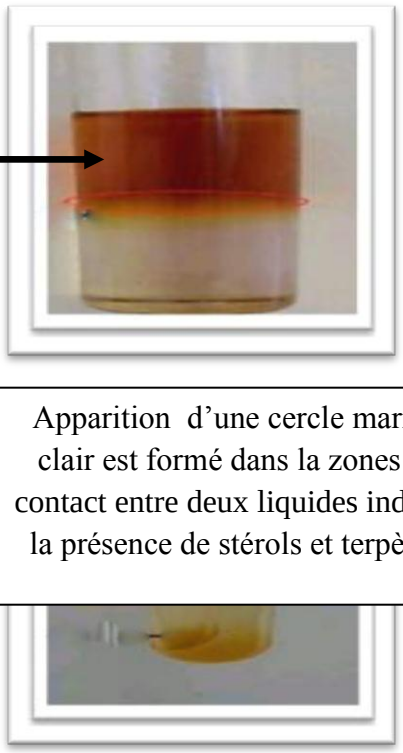
les flavonoides (+)

Apparition d'une couleur verte indique la présence de tanin

Apparition d'une couleur marron dans la partie supérieure indique la présence de flavonoïdes

Stérols et terpènes (+)

Mucilages (-)



Apparition d'une cercle marron clair est formé dans la zones de contact entre deux liquides indique la présence de stérols et terpènes

Absence des précipités floconneux montre l'absence de mucilage

Avant

(+) : test positif (-) : test négatif

Figure 13 : Test d'identification des principes actifs de *Salvia officinalis.*

Revues de la littérature sur *Salvia officinalis* ont révélé qu'il y avait peu d'études phytochimiques menées sur les espèces algériens de sauge, et en raison de l'activité antibactérienne de son extrait aqueux et de criblage phytochimique qui a été trouvé pour contenir des groupes de produits naturels phytochimiques. **(Muttalib et al, 2012)**

Nos résultats n'ont pas révélé l'existence de mucilage et des alcaloïdes. Les feuilles de la plante sont riches en flavonoïdes, tanins, saponosides, et stérols et terpènes.

II- Le rendement en huile essentielle

On a extrait, l'huile essentielle de la sauge officinale à partir de ses feuilles. Ces dernières ont été cueillies de la Wilaya de Mostaganem de mars. Nous avons récoltés une quantité de l'huile essentielle avec un rendement égale à 0,8%. On remarque que ce taux est faible comparé aux résultats d'autres études **(Chalchat et al, 1998)** sur la même espèce récoltées d'autres pays.

Cette variation dans le rendement peut être attribuée non seulement à l'origine de la plante et à la technique d'extraction mais également à la période de la cueillette de la matière végétale. Il est connu également que la quantité de l'HE est influencée par le cycle végétal de la plante **(Fellah et al, 2006)**.

III- L'antibiogramme

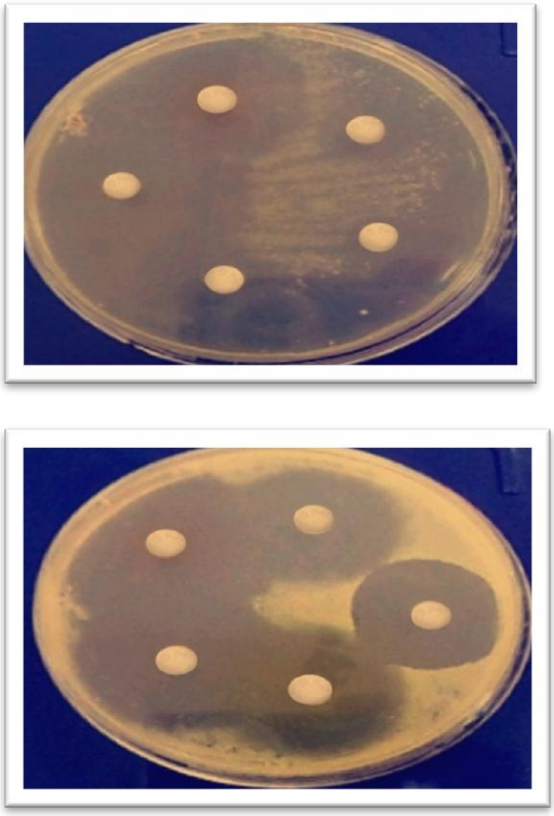
Les résultats de l'antibiogramme sont représentés dans **la figure 15** et le **tableau7**. On remarque :

- que l'*Escherichia coli* est plus résistant que sensible à l'antibiotique. On note que l'antibiotique utilisé (VA), avec un diamètre (Ø= 14mm).

- *Staphylococcus* aureus est sensible à l'antibiotique utilisé (VA) et le diamètre d'inhibition le plus grand (Ø= 29mm).

- de ce deux résultats, on remarque que *Staphylococcus* aureus est la plus sensible à l'antibiotique suivit d'*Escherichia coli*.

Ces résultats sont en accord avec la littérature selon laquelle les bactéries Gram+ montrent la plus grande sensibilité par rapport aux bactéries à Gram- . Chez les bactéries à Gram-, la membrane externe constitue une barrière de perméabilité efficace ; le lipopolysaccharide, grâce à ses charges négatives de surface empêche la diffusion des molécules hydrophobes alors que les bactéries à Gram + sont moins protégés parce que la paroi est formée d'une couche de peptidoglycane seulement qui n'entrave que la diffusion des poids moléculaire à 50 KD.



a). *Escherichia coli* b). *Staphylococcus aureus*

Figure 14 : Les antibiogrammes de différentes souches étudiées

Les souches testées	Sigle (charge)	Famille	Nom de l'ATB	Ø lu mm	Catégorie clinique initiale
(*E.coli*)	VA (30 µg)	Glycopeptide	Vancomycine	14	R
(*Staph*)	VA (30 µg)	Glycopeptide	Vancomycine	29	S

Tableau 7 : Résultats de l'antibiogramme **(Joffin et al, 2001**)

IV- L'aromatogramme

L'évaluation du test de l'activité antibactérienne in vitro de l'huile essentielle brute de *Salvia officinalis* a montré qu'*E.coli* a été la plus sensible à cette huile avec un diamètre d'inhibition égale à 15mm suivit de *S.aureus* avec un diamètre égale à 10mm vis-à-vis de cette huile **(voir tableau 8 et figure 16).**

Ce résultat concorde avec plusieurs travaux :

Salah benkhrara et al, **(2011)** ont étudiés l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* sur quelque entérobactérie pathogène en utilisant une méthode différente de l'aromatogramme utilisé dans notre travail (la méthode de diffusion sur gélose en puits). Les résultats ont montrés que cette huile est très active sur les souches d'*E.coli*.

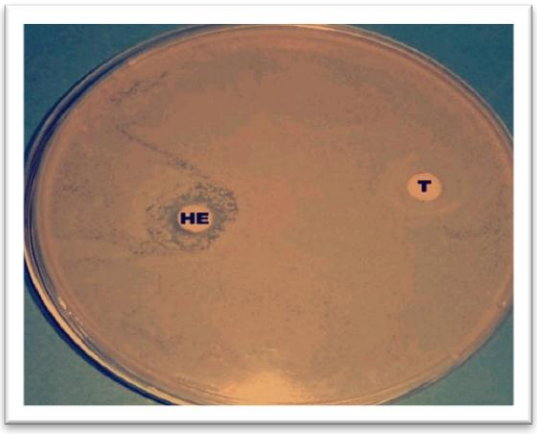
Une autre étude **PIBERI, (2005)** a montré que *S.aureus* est sensible à plusieurs huiles essentielles de différentes plantes aromatiques.

En testant l'activité antibactérienne de l'huile essentielle, d'*E.globules* et du thym sur les trois souches (*E.coli*, *S.aureus* et *P.aeruginosa*), un groupe de chercheurs :
Hersh – Martinez et al, **(2005)** et **Bouhdid et al, (2006)** ont constatés que le diamètre de la zone d'inhibition le plus grand est celui d'*E.coli* suivit de *S.aureus*

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de différentes plantes aromatiques s'explique par la lyse des membranes bactériennes. Les huiles essentielles, flavonoïdes, alcaloïdes voire même les tanins pourraient induire une fuite d'ions potassium au niveau de la membrane et par voie de conséquences des lésions irréversibles au niveau de cette membrane. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur mort.

Souches	Diamètres des zones d'inhibition en mm	Résultats
Escherichia coli	15mm	Très sensible
Staphylococcus aureus	10mm	Sensible

Tableau 8 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) de l'aromatogramme.



a) *Escherichia coli* b) *Staphylococcus aureus*

Figure 15: L'aromatogramme de différentes souches étudiées.

En comparant chaque aromatogramme de chaque souche étudiée à l'antibiogramme de la même souche, on constate que **(voir tableau 7 et tableau 8**) :

- Pour *E.coli*, le diamètre de la zone d'inhibition de l'huile essentielle (Ø= 15mm)

De là, on peut conclure qu'*E.coli* présente une sensibilité à l'huile essentielle supérieur à celle de la VA.

- Pour *S.aureus*, le diamètre de la zone d'inhibition de l'huile essentielle (Ø= 10mm) est inférieur aux diamètres des antibiotiques utilisés dans la même souche.

On peut donc dire que l'effet des antibiotiques face à *S.aureus* est bien meilleur que l'huile essentielle.

Conclusion

Un grand nombre de plantes aromatiques contiennent des composés chimiques dotés de propriétés biologiques différentes. De nombreuses recherches ont porté sur les huiles essentielles extraites de ces plantes aromatiques. Parallèlement, les recherches sur les propriétés antioxydants, antibactériennes et fongicides chez certaines plantes sont rares. Par conséquent, l'évaluation de ces caractéristiques reste une tâche intéressante et utile, en particulier pour trouver de nouvelles sources d'agents antimicrobiens naturels, dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer les activités antibactériennes in vitro des huiles essentielles extraites des feuilles de *Salvia officinalis*. Notre plante est riche en métabolites secondaires, où nous avons constaté la présence des flavonoïdes, des stérols et terpènes et des tanins. Les huiles essentielles ont été extraites par hydro distillation. Le rendement était proche de 0,8%. L'évaluation de l'activité antibactérienne nous a permis de mettre en évidence l'effet d'huile essentielle de feuilles de *Salvia officinalis* vis-à-vis ces bactéries (*E.coli, S.aureus*) ou les zones d'inhibition étaient comprises entre 15 et 10 mm. Par apport aux antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme (Vancomycine) vis-à-vis deux bactéries (*S.aureus, E.coli*) ou zone d'inhibition étaient compris entre 29 e 14, ainsi que Enfin, nos résultats indiquent que les huiles essentielles de feuilles de *Salvia officinalis* ont une exercé activité antibactérienne variable selon les espèces testées.

Perspectives

- Pour confirmer les résultats de l'effet antibactérien de la sauge officinale, on doit tout d'abord :
- Elargir l'échantillonnage c'est-à-dire utilisé un nombre élevé des souches bactériennes.
- L'aromatogramme doit être refait plusieurs fois.
- Utiliser la CPG couplée à la spectrométrie de masse pour identifier les différents composés actifs de l'huile essentielle de sauge et leurs concentrations exactes.
- Faire une extraction et tester individuellement l'effet antibactérien des composés actifs de l'huile essentielle et leur synergie.
- Déterminer si l'effet antibactérien de l'huile est de type bactéricide ou bactériostatique.
- Calculer la CMI (concentration minimale inhibitrice) et la CMB (concentration minimale inhibitrice).

Références

ABOUZEID. 2000.الزيوت الطيارة الدار العربية للنشر و التوزيع القاهرة 256صفحة

ABRAHAM. E.2006. Bio-raffinage de plantes aromatiques et médicinales appliqué à l'*Hibiscus sabdarifJa* L. et à *l'Artemisia annua*, Thèse de doctorat à L'institut national polytechnique de Toulouse, 185p.

ADIARATOU.T. 2001. Étude de la phytochimie et de l'activité antipaludique d'*Alchornea cordifolia* Schmach *(Euphobiaceae)*. Doctorat en pharmacie, Bamako (Mali), 60p.

ANDREMONT. A et TIBON-CORNILLOT. M. 2007. Le triomphe des bactéries : la fin des antibiotiques. Paris: Milo. 255 p.

BAKKALI. F, AVERBECK. S, AVERBECK. D et **IDAOMAR. M**. 2008. Biological effects of essential oils. Journal of Food and Chemical Toxicology. vol : 46: 40 – 42p.

BELBACHE. H.2010. Investigation phytochimique de l'extrait chlorofome de *centaurea parviflora*, Mémoire de Magister, à l'Université Mentouri Constantine, 136p.

BENJILALI. B. 2004. Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements Manuel pratique. Huiles essentielles de la plante à la commercialisation, 17-59 pp.

BENZEGGOUTA. N. 2005. Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments, Mémoire de Magister, à l'Université Mentouri Constantine, 135p

BOUHDJERA. K. 2005. Contribution a l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales Sahariennes *Oudneya africana* R.Br. et *Aristida pungens* L, Thèse de Doctorat en Chimie Organique Appliquée a l'Université AbouBekr Belkaid. 149p.

BOURKHISS. M, HNACH. M, BOURKHISS.B, OUHSSINE, M et *al.*(2007). Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc, Afrique Science, 3 (2), 232-242pp.

BOUZOUITA.N, KACHOURI. F, BENHALIMA. M et **CHAABOUNI. M.** (2008). Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*, J. Soc. Chim. Tunis. 10 : 119-125pp**.**

BRUNETON. J. 1999. Pharmacognosie : Phytochimie des plantes médicinales. 3éme édition, Ed. TEC et DOC, Paris.

BRUNETON. J. 2002. « Pharmacognosie : Phytochimie des plantes médicinale. 3éme Ed., Paris, 544p.

CHAICHAT J. K, **CARRY L. P**, **MENUT. C**, **LAMATY. G et *al***. 1997. Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some Afncan essential oils. J. Essent. Oil Res., 9: 67-75pp.

CHARLES. J et **SCHWILGNE. A**. 1809. Traité de matière médicale, 2ème Edition, J.A. Brosson, 347p.

CHAVANNE. P. 2011. 200 remèdes au citron. Editions First – Grund, Paris, 255p.

COUDERCV. L.2001. Toxicité des huiles essentielles. Thèse de doctorat en vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse 6, 7,12pp.

CRONQUIST. A. 1968. The Evolution and Classification of Flowering Plants. 396p.

DA SALIVA. F.2010. Utilisation des huiles essentielles en infectiologie ORL, Thèse de doctorat en Pharmacie, à l'université Henri Poincare - NANCY 1, 160p.

DELMEE. M. 2004. Microbiologie Médicale, Université Catholique de Louvain, 176p.

DEMORE. B, GRARE. M et **DUVAL. R**. 2012. Pharmacie clinique et thérapeutique. Chapitre 40 : Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. 4éme édition Elsevier Masson).

DUHOU. N, YAMNI. K et **TAHROUCH. S**. 2003. Screening phytochimique d'une plante endémique Ibéro-Marocaine, Thymeloealy thyroïdes. Bull Soc Phrm. Bordeaux 142 : 6178p.

DUKE J. A, **BOGENSCHUTZ-GODWIN DU CELLIER M. J** et **DUKE P A. K**. 2002. Medicinal Herbs. Edition CRC Press LLC.201p.

DURVELLE J. R. 1930. Fabrication des essences et des parfums. Ed, Paris, 200 p.

DUVAL. L. 2012. Les Huiles Essentielles à L'officine, Thèse de doctorat, à l'Université de Rouen-France, 154p.

Encyclopædia universalis. Paris: Encyclopædia universalis France; 1968. 20p.

ERLER. F, ULG. I and YALCINKAYAB. (2006). Repellent activity of five essential oils Against Culex pipiens, Fitoterapia, 77 : 491-494pp.

FELLAH. S, ROMDHANE. M et **ABDERRABA. M.** 2006. Extraction et Etude des Huiles Essentielles de *saliva officinalis*, Cueillie dans Deux Régions Différentes de la TUNISIE, J. Soc. Alger. Chim., 16(2), 193-202 pp.

FESTY. D. 2009. Les huiles essentielles ca marchent tous les bons gestes pour se soigner autrement, Le duc S, 320p.

FRANCE-IDA. **J**. 1996. Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. Info-essence 3,5-6 pp.

GARNEAU F. X. 2005. Le matériel végétal et les huiles essentielles Huiles essentielles de la plante à la commercialisation. Manuel pratique. Éd. corporation la sève .université de Chicoutimi, Québec.

GHEDIRA. K. 2005. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie 4: 162-169 pp.

GOEB P.H. 1999, Aromathérapie pratique et familiale. Ed. MDB., France, 130 p.

GUINDO A. Y. 2008. Etude prospective de la prescription et de la consommation des antibiotiques dans le centre de sante de référence de la commune III du district de Bamako, Thèse de Doctorat, à l'Université de Bamako, 59p.

GUINOISEA. E. 2010. Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat, à l'Université de Corse Pasquale Paoli, 184p.

HALLEL. Z. 2011. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes des citrus application sur la sardine (*sardina pilchardus*). Mémoire de magister a l'université Mouloud Mammeri Tizi-ouzou, 120p.

HEIM E. K, TAGLIAFERRO A. R et BOBILYA D.J. (2002). Flavonoïd antioxidants : chemistry, metabolism and structure-activity relationships. The Journal of Nutritional Biochemistry, 13: 572-584 pp.

HIPPOLYTE. I, **ALLAIN. P** et **PELLECUER. J**. 1904.Variation de la teneur de certains composés d'huile essentielle de la sauge (*salvia officinalis* L.) en fonction de divers états physiologiques huile essentielle, biochimie, *salvia officinalis*, micropropagation, vitroplant, terpène, société botanique de France. Acta Bot. gall. Bull. Soc. Bot. Fr. Tome 140Fascicule 2, p 225-225.

JEAN-MICHEL. 2012. plantes médicinales et huiles essentielles : phytothérapie des plantes médicinales aromathérapie des huiles essentielles.

JOFFIN. J. N. et **LEYRAL. G**. 2001. Microbiologie Techniques : 1 Dictionnaire des techniques, 3ème Edition, Bordeaux, CRDP d' Aquitaine, 320p.

KAUFFMAN C.A. and **CARVER P.L**. 1997. Antifungal agents in the Current status and future developments. Drugs53: 539–549pp.

KHENAKA. K.2011. Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Mémoire de Magister, à l'Université Mentouri Constantine, 81p.

KARUMI. Y., ONYEYILI. P. A et **OGUGBUAJA. V. O**. 2004. Identification of active principales of *M. balsamina* (balsam Apple) leaf extract .J. Med. Sci. 4:179-182pp.

LAKHDAR. L. 2015. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles.

LARDRY. J et **HABERKOM. V**. 2007. L'aromathérapie et les huiles essentielles. Kinesither Rev, 61 : 14-7pp.

LAVIGNEJ. P.2012. Staphylocoque, DFGMS2 « Infectieux », 26p.

LEE Y.J, ERDOS G, HOU Z, KIM S.H &*al*. 1994. Mechanism of quercetin-induced suppression and delay of heat shock gene expression and thermotolerance development in HT-29 cells.Molecular and cellular biochemistry.137: 141-154 pp.

LOGRADA. T. 2010. Etude Caryologique et Phytochimique de Six Espèces Endémiques du genre *Genista L*. en Algérie, Thèse de Doctorat en sciences, à l'Université Ferhat Abbas Setif, 163p.

LOUKIADIS. E. 2007. Facteurs de virulence et dissémination dans l'environnement via les effluents d'abattoirs d'animaux de boucherie d'*Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC). Thèse de Doctorat, à l'Université Toulouse-France, 225p.

MAATOUG, Février (1990). « Nos plantes médicinales ». Lexiques cliniques des plantes médicinales non toxiques employées en Tunisie.

MADI. A. 2010. Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques, mémoire de magister, à l'Université Mentouri Constantin, 116p.

MAGINA. M D A, DALMARCO. E M, WISNIEWSKI A, SIMIONATTOO. EL et *al.* 2009. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Eugenia species*, J. Nat. Med. 63 : 345-350pp.

MAYER. F. 2012. Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite. Thèse de doctorat en Pharmacie, Université de lorraine .France. p11, 25, 26,27.

MICHEL-BRIAND Y et **CHABERT Y.**2009.Une histoire de la résistance aux antibiotiques à propos de six bactéries. Paris: L'Harmattan, 27-31 p.

MOLEYAR. V, and NARASIMHAM. P, (1986). Antifungal activity of some essential oil components, Food Microbiology, 3 : 331-336pp.

MUTHER. L. 2015. Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant. Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie. Université d'Auvergne. 156p.

NICOLAS. M et **DANIEL. C**. 1998. Activités technologiques en microbiologiel-Techniques de base et méthodologie. Éditeurs CRDP d'Aquitaine-Bordeaux.152p.

NOGARET-EHRHART A. S. 2008. La phytothérapie : se soigner par les plantes. Ed. Eyrolles, Paris.

ODOUL. M. 2003. Les huiles essentielles .La lettre de l'institut français de Shiatsu, n°2, 1-12pp.

OKUMU. D. E. 2005. Vitamines and mineral contents of two Nigerian plants. Int. J. Mol. Adv. Sci. 1:375-38pp.

PARIS. M et **HURABIELLE. M**.1981. Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie, Tome I, édition Masson, paris. 300p.

PATRICIA. P. 2014. « Plantes médicinales ». Ed., Masson, Paris, 159 p.

PELLECUER. J, JACOB. M et **SIMEON BOUCHBERG. M**. 1980. Essais d'utilisation d'huiles essentielles de plantes aromatiques méditerranéennes en odontologie conservatrice. Plant Médicin Phytothér; 14: 83-98pp.

Pharmacopée européenne. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de santé (Afssaps) Mai 2008.

PIETTA P. G. 2000**.** Flavonoïdes antioxidants. Jornal of natural products. 63 : 1035-1042pp.

RAFIA. R, BASHIRA. G, SEEMA. A, AZRAN. K et ***al***. 2010. Phytochemical screening of prunella vulgaris L. an important medicinal plant of Kashmir, Département of biochemistry, Regional Research in Unani Medicine Plant Tissue Culture Laboratory, Centre of Research for Development University of Kashmir, Srinagar-190006, J&K, India, Pak. J. Pharm. Sic., Vol.23, 399-402pp.

RAYAUD. J. 2006. Prescription et conseils en aromathérapie. Ed. Lavoisier. Paris. 400 p.

ROULIER. G. 1990. Les huiles essentielles pour votre santé : traité pratique d'aromathérapie. Propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Editions Dangles.

ROUX. D. 2008. Conseil en aromathérapie, 2ème Edition, Wolters Kluwer, France. 187p.

SAID. O, **KHALIL. K**, **FULDER. S** and **AZAIZELS. H**. 2002. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in israil, the golen height and the wast bank region, Journal of Ethnopharmacological, 83:251-263pp.

SCHEWE T. & SIES H. 2003. Flavonoids as protectantsagainstprooxidant enzymes. Biologie médicale. 34: 243-253pp.

SOLIMAN. K M, and BADEAA. RI. 2002. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi, Food Chem. Toxicol. 40 : 1669-1675pp.

TEUSCHER .E, **ANTON. R** et **LOBTEIN. A**. 2005. Plantes aromatiques épices aromates, condiments et huiles essentielles. Ed., Lavoisier, Paris, 444 p.

TCHAMDJA. KM.1995. Etude de performance d'un extracteur artisanal pour la production d'essence de citronnelle. Mémoire d'ingénieur des travaux biologiques, ESTBA, UB, 95 p.

VIMONT. A. 2007. Optimisation de la recherche des *Escherichia coli* producteurs de Shigatoxines (STEC), Thèse de Doctorat, à l'Université Claude Bernard, LYON 1. 318p.

VUILLEMIN.J-P. 16 Juin 2011. Inventeur nancéien de l'antibiotique. L'Est Républicain.

WALKER. JB, **SYTSMA, K J, TREUTLEIN, J and WINK, M.** 2004. *Salvia(Lamiaceae)* is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of Salvia and tribe Mentheae. Am. J. Bot. 91 :1115–1125pp.

WEGRZYN. R.**LAMONDINH H**.2005. Huiles essentielles et aromathérapie bucco-dentaire. Chir Dent. Fr.1225 :62-66pp.

WOLTERS. K. 2007. Botanique pharmacognosie phytothérapie.1, rus Eugène et Armand Peugeot.92500 Rueil-Malmaison Cedex.

YANO. Y, SATOMI. M, OIKAWA. H. 2006: Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. International J. Food Microbiology, 111: 6-11pp.

ZAHALKA J. P. 2010. 230 Huiles Essentielles, 170 maux traités, Dauphin, Paris, 367p.

ZIMING. W, **LAN. D, TIECHUN. L, XIN. Z, HANQI. Z** et ***al***. 1981. Abrégé de Matière Médicale (Pharmacognosie). Ed. Tome 1, Masson, Paris, 300 p

ZRIRA. S, **EL KHIRAN. F** et **BENJLLAL. B**. 1994. Huiles essentielles de six espèces xérophyles d'Eucalyptus: effet du milieu sur les rendements et la composition-chimique. Actes Inst. Agron. Veto (Maroc), Vol. 14 (l): 5 – 9pp.

Web graphie

Anonyme (2011) [16]. http://www.eurekasante.fr/parapharmacie/phytotherapie-plantes/saugeofficinale-*salvia-officinalis*.html. Le 14 Juin 2011

Annexe

Composition des milieux de culture en g /l

Milieux Chapman

Extrait de viande……..……..…01 g.

Extrait de levure……..……..03 g.

Tryptone……..…..05 g.

Peptone bactériologique……....10 g.

Chlorure de sodium…….....70 g.

Mannitol…….……..….10 g.

Rouge de phénol……...0,025 g.

Agar …….....15 g.

PH=7,4

Gélose Mueller Hinton

Extrait de viande……...03 g.

Hydrolysat acide de caséine …….....17,5 g.

Agar……...…18 g.

PH=7,4

Bouillon nutritif

Peptone …….....….5g

Extrait de viande ……..…1g

Extrait de levure.....….2g

Chlorure de sodium …….….5g

Ph final à 25°C : Ph 6,8

Mac konkey

Peptone pancréatique de gélatine .....17 g.
Tryptone.....1,5 g.

Peptone pepsique de viande .....1,5 g.

Lactose ……..……10 g.

Sels biliaires.....1,5 g.

Chlorure de sodium.....5 g.

Rouge neutre .....30 mg.

Cristal violet .....1 mg.

Agar bactériologique.....13,5 g.

PH=7,1.