

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



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE SCIENCES ALIMENTAIRES

N°...../SNV/2018

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BENKHEDDA Fatima

&

DJADAOUADJI Mimouna

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité: NUTRITION ET PATHOLOGIE

THÈME

**Activité antimicrobienne des polyphénols
d'*Elettaria cardamomum***

Soutenue publiquement le 03/07/2018

DEVANT LE JURY

Président	Mokhtar Meriem	MCA U. Mostaganem
Encadreur	Boufadi Mokhtaria Yasmina	MCA U. Mostaganem
Examineurs	Bouziane Nabil	MAB U. Mostaganem
Co-encadreur	Moulai Hacene Faiza	Doct U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de LMBAFS

Remerciements

*Nous remercions notre dieu, tout puissant, de nous avoir donné l'énergie nécessaire pour mener à bien ce projet.
Une longue étape s'achève, et notre mémoire n'aurait sans doute pas vu le jour sans l'aide de nombreuses personnes ;*

*A Madame BOUFADI. Y M,
Maitre de conférences « A » à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, pour avoir veillé continuellement à notre formation, et pour ses conseils précieux et encouragements qui nous ont permis de progresser dans la réalisation de ce travail, pour son enthousiasme, son accueil toujours bienveillant au laboratoire et son soutien permanent malgré son planning bien chargé.*

*A Mademoiselle MOULAIE HACENE. F, doctorante
Un Remerciement spécial et sincère à mademoiselle pour sa confiance, son soutien, sa précieuse aide, ses encouragements nous oublions jamais ses précieux conseils. Merci de nous avoir toujours aidé.*

*A Madame, MOKHTAR. M,
Maitre de conférences « A » à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, en lui exprimant notre profonde et respectueuse gratitude pour la bonne formation reçue de mon cursus universitaire, et pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider mon jury.*

*A Monsieur, BOUZIANE. N,
Maitre assistant « B » à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, pour ses conseils précieux et innombrables pour la réalisation de ce mémoire, et pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'examiner mon travail.*

A tout le personnel du Laboratoire des aliments fonctionnels des microorganismes bénéfiques et santé plus particulièrement madame Djahéra

Nous tenons à remercier nos très chers parents du plus profond de cœur, pour leurs innombrables sacrifices et de nous avoir tant aidé, soutenu, réconforté, et encouragé dans les moments de doute.

Dédicace

Avec l'aide de Allah le tout puissant qui nous a éclairé les chemins du savoir, nous avons pu réaliser ce modeste travail que nous dédions à :

Nos très chers parents, avec tout notre amour, notre tendresse et notre estime, nous n'arriverons jamais à leurs rendre ce qu'ils ont fait pour nous, que dieu vous protège.

*A nos sœurs, nos frères, nos oncles, nos tantes, nos cousins, nos cousines
et toute notre famille.*

A mes chers amis pour leurs encouragements et à tous les gens que nous connaissons qui ont cru en nous et qui nous ont motivé d'y aller en avant.

Abstract

The present study proposed to test the antimicrobial activity of ethanol extract of *Elettaria cardamomum* (EEC) on a series of microbial strains; pathogenic gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Bacillus cereus* ATCC 10876 and *Bacillus subtilis* ATCC 6633) and gram-negative (*Shigella sonnei* CECT 584, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Escherichia coli* ATCC 25922), *Candida albicans* ATCC 10231 and *Aspergillus niger* ATCC 106406.

In our study, the ethanolic extract of *Elettaria cardamomum* (EEC) obtained by cold maceration with ethanol following a well established protocol was used to study antimicrobial activity. Its antimicrobial activity was evaluated using the disk diffusion and micro-dilution method using microplates.

The results obtained revealed zones of inhibition of diameters exceeding 30 mm, for *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa* concerning the 50% concentration of EEC extract; suggesting a high sensitivity of these bacteria. The 12.5% concentration of EEC extract is active and has an inhibitory effect on *Candida albicans* and *Aspergillus niger*, very weak on *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* and almost none on *Escherichia coli*. Minimal Inhibitory Concentrations (MIC) showed values ranging from 40 to 10 mg / mL EEC extract on pathogenic strains. The EEC extract has a broad and effective effect on *Staphylococcus aureus* and *Shigella sonnei* (MIC: 10 mg / mL EEC extract) compared to other microbial strains.

In contrast, a MIC of EEC extract of 40 mg / mL EEC was recorded against *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa*. Moreover, we have found that the *Elettaria cardamomum* extract studied has an antibacterial and antifungal effect against the pathogenic germs used in the present study.

Key words: *Elettaria cardamomum*, pathogenic bacteria, antimicrobial activity, inhibitory potency, minimal inhibitory concentration (MIC).

Liste des abréviations

A : Aspergillus

ACF : foyers de crypte anormaux

Ach: acetylcholine

AOM: azoxyméthane

ATCC: American Type Culture Collection

ARNr : acide ribonucléique ribosomique

B: bacillus

BN : bouillon nutritif

C: Carnobacterium

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

COX-2 : cyclooxygenase-2

DMBA: 7, 12-dimethylbenzanthracene

DMSO: Diméthylsulfoxyde

EFB: European Federation of Biotechnologies

E. cloacae: Enterobacter cloacae

E. coli: Escherichia coli

FDA: Food and Drug Administration

iNOS: monoxyde d'azote inductible synthase

ISO: International Standard Organization

MH: Mueller Hinton

Mm: Millimètre

P: pseudomonas

Rdt: Rendement

S: Staphylococcus

UFC: Unité Formant Colonie

µm: Micromètre

Table des matières

Liste des tableaux

Tableau 01 : Composition Chimique et Naturelle de Cardamome	06
Tableau 02: Liste des souches microbiennes utilisée	07
Tableau 03 : Diamètres des zones d'inhibitions incluant 6 mm de disque de huit souches pathogènes cultivées en présence de quatre dilutions d'extrait éthanolique d' <i>Elettaria Cardamomum</i>	37
Tableau 04 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) (d'extrait éthanolique <i>D'Elettaria cardamomum</i>) des souches pathogènes.....	42

Liste des figures

Figure 1: La plante <i>E. cardamomum</i> (A), tiges portants des fleurs et des fruits (B)et(C)	05
Figure 02 : Les cibles de l'action des antibiotiques.....	13
Figure 03 : Aspect morphologique de la souche de <i>Staphylococcus aureus</i> observée au microscope électronique.....	16
Figure 04: <i>Candida albicans</i> vue au microscope électronique et colorée	17
Figure 05: <i>Escherichia coli</i> observée au microscope électronique(Gx10000).....	18
Figure 06 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vue au microscope artificiellement et colorée.....	21
Figure 07 : Observation microscopique de <i>Bacillus subtilis</i>	24
Figure 08 : Fruits d' <i>Elettaria cardamomum</i> secs (A) ; broyés (B).....	26
Figure 09 : Protocole d'extraction des fruits d' <i>E. Cardamomum</i>	27
Figure 10 : Méthode d'extraction d' <i>E. Cardamomum</i>	28
Figure 11 : schéma de la méthode de diffusion par disque.....	33
Figure 12 : Schéma de détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	35
Figure 13 : les zones d'inhibition effectuées d'extrait d'EECsur <i>Escherichia c</i>	39
Figure 14: les zones d'inhibition effectuées d'extrait d'EEC sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39
Figure 15 : les zones d'inhibition effectuées d'extrait d'EEC sur <i>Staphylococcus aureus</i>	40
Figure 16 : les zones d'inhibition effectuées d'extrait d'EEC sur <i>Bacillus subtilis</i>	40

Figure 17 : les zones d'inhibition effectuées d'extrait d'EEC sur <i>Bacillus cereus</i>	40
Figure 18 : les zones d'inhibition effectuées d'extrait d'EEC sur <i>Shigella</i>	40
Figure 19 : les zones d'inhibition effectuées d'extrait d'EEC sur <i>Aspergillus niger</i>	41
Figure 20 : les zones d'inhibition effectuées d'extrait d'EEC sur <i>Candida albicans</i>	41
Figure 21 : Concentrations minimales inhibitrices d'EEC vis-à-vis des souches pathogènes.....	44

Table des matières

Remerciement	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Résumé	
Abstract	
Introduction.....	01
Chapitre I: La cardamome et ses vertus thérapeutiques	
I.1.Définition.....	03
I.2. Historique	03
I.3. Description botanique	04
I.4. Classification d'Elettaria cardamomum dans le règne végétal.....	05
I.5. Noms communs	06
I.6. Compositions Chimiques	06
I.7. Utilisation traditionnelle.....	07
I.8. Propriétés fonctionnelles	08
I.8.1 Action anti-inflammatoire.....	08
I.8.2 Action anti spasmodique, anti-ulcère.....	08
I.8.3 Action de livraison transdermique de médicaments.....	09
I.8.4. Action anti-cancer.....	09
I.8.5. Action hépato-protective	09

I.8.6. Action cardioprotective.....	09
I.8.7. Action antimicrobienne.....	10

Chapitre II : L'activité antimicrobienne de la cardamome

I.1. L'activité antimicrobienne.....	11
I.2. Les agents antimicrobiens	11
I.2.1. Mécanisme d'action.....	11
I.3. Les antibiotiques.....	12
II.4. L'activité antimicrobienne des extraits des plantes.....	14
II.5. Les microorganismes et les maladies.....	15
II.5.1. Classification des microorganismes pathogènes par ordre de pathogénicité....	14
II.5.2. La culture des bactéries.....	15
II.6. Description des bactéries étudié	15
II.6.1. Staphylococcus aureus.....	15
II.6.2. Candida albicans.....	17
II.6.3. Escherichia coli.....	18
II.6.4. Shigella.....	19
II.6.5. Pseudomonas aeruginosa.....	19
II.6.6. Bacillus cereus	21
II.6.7. Bacillus subtilis.....	21
II.6.8. Aspergillus niger.....	22
II.7. Traitement et prévention des microorganismes pathogènes.....	23

Partie III : Matériels et méthodes

III.1. Objectif.....	24
III.2. Matériel végétal.....	24
III.3. Extraction.....	25
III.4. Matériel biologique	26
III.4.1. Les souches microbiennes utilisées.....	26

III.4.2. Milieux de culture utilisés.....	27
III.4.2.1. Milieu bouillon nutritif (BN).....	27
III.4.2.2. Milieu de Mueller Hinton (MH).....	27
III.4.3. Mise en évidence et détermination de l'activité antimicrobienne D'extrait d' <i>Elettaria cardamomum</i>	28
III.5. Méthode de diffusion par disques sur milieu de Mueller-Hinton gélosé.....	28
III.5.1 Mode opératoire.....	28
III.5.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	30

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Activité antimicrobienne de la cardamome	32
IV.1.1. Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion des disques.....	32
IV.1.2. Concentration minimale inhibitrice(CMI).....	37
Conclusion et perspective.....	42
Références bibliographiques	
Annexe	

Synthèse bibliographique

*Le commencement de toutes les sciences c'est l'étonnement de ce
que les choses sont ce qu'elles sont)*

aristote

Introduction

Introduction

Au travers des âges, l'utilisation thérapeutique des vertus extraordinaires des plantes pour le traitement des maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité. La recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via le screening de sources naturelles a résulté dans la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines (Gurib-Fakim, 2006).

Les plantes aromatiques sources de ces substances sont largement répandues dans la nature. L'Algérie abrite un ensemble d'espèces importantes et variées et témoigne de ce fait d'une richesse floristique incontestable (Aouadhi, 2010). L'utilisation d'extraits de plantes et de composés d'origine végétale sont des sources précieuses pour la médecine traditionnelle dans le traitement et la prévention d'un large éventail de maladies ; notamment des maladies infectieuses (Al-Bayati, 2007).

L'utilisation d'extraits de plantes et des composés d'origine végétale sont des sources précieuses pour la médecine traditionnelle dans le traitement et la prévention d'un large éventail de maladies ; notamment des maladies infectieuses (Al-Bayati, 2007).

Le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques a conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse (Rauter et al., 1989).

Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien. Ainsi, les huiles végétales commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives (Bruneton, 1999 ; Teuscher et al., 2005).

La cardamome, *Elettaria cardamomum* : est une plante qui appartient à la famille des Zingibéracées, populairement connues sous le nom « Reine des épices » (Sengupta et al., 2005). Il s'agit d'une herbe vivace à gros rhizomes superficiels, horizontaux, ramifiés et subligneux (Gilly, 2005 ; Arvy et Gallouin, 2015). Cette plante est utilisée depuis des millénaires par la médecine ayurvédique pour soigner de nombreux troubles digestifs, gastro-intestinaux, stomacaux et antiémétiques (Marongiu et al., 2004 ; Sereshti et al., 2012). Elle

peut être incorporée aux mélanges destinés à des utilisations culinaires (Nair, 2006 ; Iserin et al., 2007 ; Botineau, 2010).

Les plantes constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives donc l'objectif de notre travail consiste à l'extraction de la cardamome ou *Elettaria cardamomum* et l'étude son activité antimicrobienne.

Dans ce contexte, l'étude se structure en trois parties :

- La première se répartit en deux chapitres. Le premier est consacré à une étude bibliographique sur la plante. Le deuxième chapitre traite l'activité antimicrobienne de la plante.
- La deuxième partie illustre le matériel et les méthodes utilisées : extraction de la cardamome, détermination de l'activité antimicrobienne
- La troisième partie est consacrée aux résultats obtenus, accompagnés d'une discussion et ponctués d'une conclusion générale.

Chapitre I

La cardamome et ses vertus thérapeutiques

Chapitre I : La cardamome et ses vertus thérapeutiques

I.1. Définition

La cardamome, *Elettaria cardamomum* est une plante qui appartient à la famille des Zingibéracées, populairement connues sous le nom « Reine des épices ». Originaire des forêts tropicales de Sud de l'Inde et du Sri Lanka, la cardamome fut introduite, il y a plus de mille ans en Asie du Sud-Est ([Sengupta et al., 2005](#)).

I.2. Historique

La cardamome est souvent qualifiée comme la reine d'épices à cause de son arôme très agréable et goût et dans le passé c'était suivant seulement pour le poivre noir dans l'importance. La cardamome est toujours un du plus coûteux d'épices dans le marché mondial classant après le safran et la vanille. La cardamome est un type spécial de plante de récolte qui a une distribution naturelle très limitée; son autochtone à la maison est les forêts à feuilles persistantes moites des Ghats Occidentaux de l'Inde du sud (connu comme la cardamome des Collines) ([Korikanthimath et al , 2006](#)).

La cardamome du commerce est les fruits séchés de la plante de cardamome. Jusqu'au début du 20^{ème} siècle, les fruits de cardamome ont été rassemblés des populations naturelles abondantes d'usines de cardamome distribuées dans les régions forestières des élévations plus hautes des Ghats Occidentaux. Aujourd'hui la production mondiale est partagée par l'Inde, le Guatemala et le Sri Lanka, bien que les quantités négligeables soient produites dans le Salvador, le Nicaragua, le Costa Rica, la Tanzanie, le Viêt-Nam, le Laos, la Thaïlande et Nouveau Guinée Papua ([Korikanthimath, 2002](#)).

Le nom *Elettaria* est tiré de la racine tamoule "elattari" (le fruit de cardamome de moyens, tari signifie des granules ensemble signifiant les graines de fruit de cardamome). Van Rheed a utilisé ce terme dans son travail monumental *Hortus Malabaricus*, le premier rapport écrit sur les usines de la Côte Malabar de l'Inde. Le nom *cardamomum* est tiré de la cardamome, le terme de Grec pour la cardamome. Dans l'Antiquité, le commerce d'épice a été contrôlé par les Arabes et ils ont pris la cardamome et d'autres épices de la côte Kerala à l'époque Romantique et la Grèce et ce monopole des Arabes continu jusqu'à la découverte d'une route maritime à la côte ouest de l'Inde par Vasco de Gama dans 1498 ([Ravindran, 2002](#)).

I.3. Description botanique

La cardamome est une monocotylédone grande, éternel, herbacé qui appartient à la famille au gingembre. Le genre *Elettaria* consiste en 11 espèces (Katzner, 2010). Les plantes de cardamome comprennent un groupe de feuillus qui résulte d'une tige souterraine rhizomatous (Ravindran, 2017; Madhusoodanan et al., 2002).

Les fleurs de cardamome sont bisexuelles, zygomorphe et ouvertes dans la succession de la base en avant à l'apex. La structure d'une fleur de cardamome est prédisposée pour la pollinisation d'insecte. Les abeilles à miel sont les insectes de pollinisation les plus importants. Le taux de pollinisation et l'ensemble de fruit peuvent être augmentés significativement en gardant des colonies d'abeille à miel dans des champs de cardamome (Madhusoodanan et al., 2002).

La cardamome a trois variétés distinguables taxonomies basées à la nature d'inflorescence, que l'on connaît comme Mysore, Malabar et vazhukka. La variété Mysore, une variété robuste s'étendant en hausse de 4 m dans la hauteur, produit des panicules droites. Les capsules sont ovoïdes, grasses et vert foncé, adaptées aux élévations plus hautes (900-1200 m) et sages de qualité le mieux. La variété Malabar, une usine (plante) plus petite atteignant 2-3 m dans la hauteur, produit des panicules prostrées et des fruits, ils sont meilleurs adaptés pour baisser les élévations de 600-1000 m. La variété vazhukka est un type intermédiaire et est considérée un hybride naturel Mysore et Malabar et caractéristiques d'intermédiaire d'expositions; les usines sont robustes comme le var. Mysore, les panicules sont semi-droites et les capsules grasses, ovoïdes ou globule et les usines sont adaptées à un moyen élévation la gamme (800-1200 m). En plus des trois ci-dessus, deux autres types (connu comme mysorensis et laxiflora) sont parfois distingués, mais ne sont pas importants commercialement (Madhusoodanan et al., 2002).

La production de cardamome est très gênée par la fréquence de maladies virales (comme le virus katta), phytophthora la pourriture de bloc et des parasites d'insecte, nécessitant l'utilisation fréquente de pesticides.

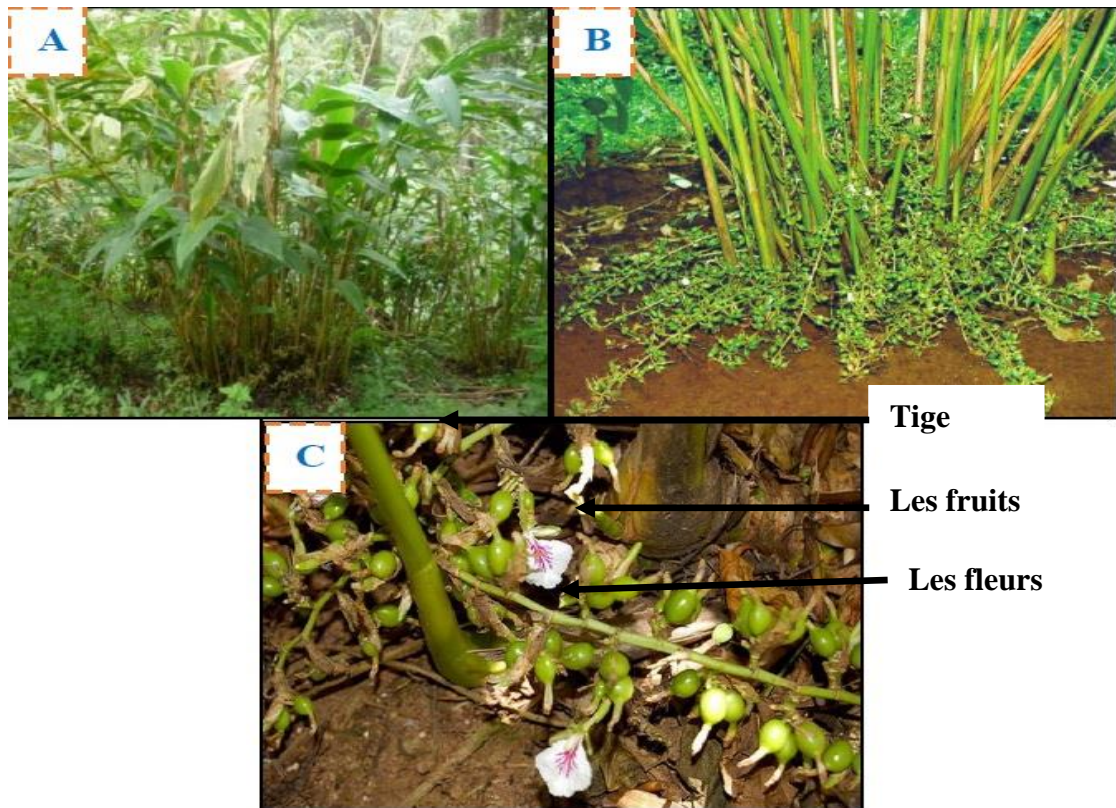


Figure 1: La plante *E. cardamomum* (A), tiges portant des fleurs et des fruits (B) et(C)
(Arvy et Gallouin, 2015 ; Biju, 2013)

I.4. Classification d'*Elettaria cardamomum* dans le règne végétal

La plante d'*Elettaria Cardamomum* dans la classification systématique botanique est la suivante (Cronquist, 1981).

Règne : *Plantae*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Liliopsida*

Ordre : *Zingiberales*

Famille : *Zingiberaceae*

Genre : *Elettaria*

Espèce : *Elettaria Cardamomum*.

I.5. Noms communs

Cardamome, Graines de cardamome, Petite cardamome, Cardamome moindre, Malabar cardamome, Alleppey cardamome, Alleppey cardamome verte, Cardamome du Ceylan (Ravindran, 2017).

I.5. Noms régionaux/vernaculaires

En français : cardamome, cardamomier, cardamone

En anglais : cardamom, small cardamom, cardamon

En arabe : Heil, Hab el Hal, hab hab, Hhabbahân (Seidemann, 2005 ; Al-Mailiki, 2011 ; Lim, 2013).

I.6. Compositions Chimiques

La composition chimique de la cardamome varie considérablement avec la variété, la région et l'âge du produit. L'analyse chimique des fruits secs de la cardamome révèle la présence des huiles essentielles, Cires, stérols, des pigments, des protéines, la cellulose, les sucres, l'amidon, l'oxalate de calcium, des minéraux (Ravindran et Madhusoodanan, 2003 ; Nair, 2006; Sharma et al., 2011).

Tableau 1 : Composition Chimique et Naturelle de Cardamome (Ravindran et Madhusoodanan, 2003 ; Nair, 2006 ; Sharma et al., 2011).

Elément	Composition
Humidité	20.0 g
Protéine	10.1 g
Graisse	2.2 g
Minéraux	5.4 g
Glucide	42.1 g
Énergie	229.0 cal
Calcium	13.0 mg
Phosphore	160.0 mg
Fer	5-0 g
Thiamine	0.22 mg

Riboflavine	0.17 mg
Acide nicotinique	0.8 mg
Vitamine A	0.1 mg
Vitamine C	0.1 mg

La teneur en huile volatile dans les graines dépend fortement des conditions de stockage, mais peut atteindre 8% (Noleau et Toulemonde, 1987). L'huile volatile contient environ 1,5% d' α -pinène, 0,2% de β -pinène, 2,8% de sabinène, 1,6% de myrcène, 0,2% d' α -phellandrène, 11,6% de limonène, 36,3% de 1,8-cinéole, 0,7% de γ -terpinène, 0,5 % de terpinolène, 3% de linalol, 2,5% d'acétate de linalyle, 0,9% de terpinène 4-01, 2,6% d' α -terpinéol, 31,3% d' α -terpinyl acétate, 0,3% de citronellol, 0,5% de nerd, 0,5% de géraniol, 0,2% de méthyleugénol et 2,7% de trans-nérolidol (Korikontimath et Zachariah, 2002). L'arôme de cardamome de base produit par une combinaison des composants principaux, le 1,8-cinéole et l' α -terpinyl acétate (Zachariah et Lukose, 1992).

I.7. Utilisation traditionnelle

La cardamome est une des plus anciennes épices. En Égypte, on en faisant un grand usage dans l'Antiquité pour fabriquer des parfums (Johnya et al., 2002). Cette plante est utilisée depuis des millénaires par la médecine ayurvédique pour traiter de nombreux troubles digestifs (indigestion, flatulences), gastro-intestinaux, stomacaux, résolvents, retentissants et antiémétiques (Marongiu et al., 2004 ; Sereshti et al., 2012). Une infusion de cardamome peut être utilisée comme un gargarisme pour soulager la plaie la gorge. Ils sont aussi ajoutés au thé pour faire un fortifiant afin de soulager les symptômes de stress dus au surmenage ou la dépression. On donne des graines de cardamome aux patients qui ont la mauvaise haleine et une capsule de cardamome prise avec le miel est réputée pour améliorer la vue.

Les utilisations traditionnelles de cardamome pour traiter des affections cutanées ont attiré l'attention d'entre ceux qui développent la cosmétique à base de plantes, d'autant plus qu'il a été utilisé traditionnellement pour traiter les zones du corps qui ont la dépigmentation. Elle est souvent incorporée dans des savons et la main crème (Singa et al., 1996).

Dans la plupart des pays européens ; la cardamome est utilisée principalement comme un agent d'arôme dans la cuisine, le mâchement et comme un ingrédient commun d'assaisonnement spécial et des poudres de curry et pour des sucreries d'arôme, des pâtisseries, des gâteaux, le pain, le pouding et d'autres préparatifs culinaires. Son huile est utilisée pour des alcools d'arôme, traitée la nourriture, la parfumerie et dans des boissons. Il est aussi utilisé pour masticatoire, le thé d'arôme et la confiserie (Henaryn et Ridly, 1999).

I.8. Propriétés fonctionnelles

Les propriétés fonctionnelles de cardamome sont essentiellement les propriétés de ses composants chimiques Sengupta et Bhattacharjee (2009) ; comme elles sont mentionnées ci-dessous :

I.8.1. Action anti-inflammatoire:

L'huile de cardamome a une action anti-inflammatoire; il a inhibé la croissance d'œdème de patte induit par la carrageenan chez les rats. Il a été constaté que les suspensions aqueuses de cardamome ont des effets protecteurs sur la carcinogénèse. L'effet anti-inflammatoire de l'huile de la cardamome a résulté en partie ; la modulation d'expression de protéine pro-inflammatoire. Les enzymes modulées par l'huile de cardamome incluent cyclooxygénase-2 (COX-2) et le monoxyde d'azote inducible synthétase (iNOS). L'inhibition de ces enzymes mène à son tour à une réduction de la production d'acide arachidonique, prostaglandines, leukotriènes et PAS, qui sont les médiateurs cruciaux d'inflammation. L'inhibition de ces enzymes est un mécanisme cellulaire important impliqué dans la propriété anti-inflammatoire de cardamome (Sengupta et Bhattacharjee, 2009).

I.8.2. Action anti spasmodique, anti-ulcère

L'extrait de cardamome a marqué l'activité antispasmodique, il a été testé sur une préparation d'intestin de lapin utilisant le neurotransmetteur acétylcholine (Ach). L'extrait de cardamome a fonctionné comme un agoniste (Sarkar, 2011). Ach est le neurotransmetteur le plus commun à la terminaison nerveuse parasympathique pour inciter des contractions de muscle lisses, qui sont inhibées par l'extrait de cardamome.

D'après (Jamal et al., 2006) ; l'extrait de cardamome a un effet significatif anti-ulcère contre l'éthanol et des lésions gastriques induites par l'aspirine, mais pas contre ceux induits par la ligature du pylore. La cardamome augmente la sécrétion d'acide gastrique.

I.8.3. Action de livraison transdermique de médicaments

L'extrait d'éthanol/eau de cardamome a significativement amélioré la livraison transdermique indométacine (Huang et al., 1999). L'agent responsable de cet effet est 1, 8-cineole et trois composants mineurs dans huile de cardamome (α-pinene, β-pinene, α-terpineol) ; ont l'effet synergique avec 1, 8-cinéole et d-limonène, améliorant la pénétration d'indométacine. Ce résultat indique l'utilité d'huile de cardamome comme l'améliorateur de pénétration dans des crèmes de peau.

I.8.4. Action anti-cancer

Une suspension aqueuse de cardamome significativement a inhibée des foyers de crypte anormaux (ACF) la formation dans azoxyméthane (AOM), la carcinogénèse induite dans des souris d'albinos suisses. ACF sont reconnus comme des lésions tôt pré-néoplasiques (Bhattacharjee et al., 2007). Cette étude indique une bonne corrélation entre la capacité de cardamome pour empêcher ACF AOM-INDUIT par une réduction de la prolifération cellulaire et améliorer l'apoptose (Sengupta et Bhattacharjee, 2009). Sengupta et al. (2005) a exploré l'efficacité préventive chimio de cardamome contre le cancérigène puissant DMBA (7, 12-dimethylbenzanthracene), induisant la carcinogénèse de peau promue d'huile dans des souris albinos suisses (Sengupta et Bhattacharjee, 2009).

I.8.5. Action hépato-protective

Le principe actif qui est impliqué dans l'hépatoprotection est 1, 8-cineole. Les études ont montré que le 1,8-cinéole de la cardamome protège la blessure de foie induite par la galactosamine et lipopolysaccharide chez les souris. Santos (2007) a montré que le prétraitement avec 1, 8-cineole (à 400mg/kg .po) 60 min, avant les traitements avec galactosamine-lipopolysaccharide offert assure une protection complète contre le choc mortel du foie endommagé (Santos et al., 2000).

Le prétraitement d'extrait aqueux de la cardamome (aux doses de 100 et le po 200mg/kg.) a significativement réduit des dégâts aigus de foie induits par gentamycine.

L'effet protecteur d'extrait de cardamome contre l'hépatotoxicité induit par paracétamol (Abdelkader *et al.*, 2015).

I.8.6. Action cardioprotective

Le traitement de cardamome a aussi amélioré l'histopathologie et les changements ultra-structuraux, qui spécifient le sauvetage de cardiomyocytes des effets délétères d'ISO (d'organisme international de normalisation). La cardamome protège significativement le myocarde et exerce des effets cardio-protecteurs par le radical libre enlevant des ordures et des activités d'antioxydantes. L'inhibition d'accumulation plaquettaire, qui est une cause de beaucoup de crises cardiaques, est significativement inhibée par le traitement avec l'extrait de cardamome (Suneetha et Krishnakantha, 2005).

I.8.7. Action antimicrobienne

Les propriétés antimicrobiennes et antifongiques des extraits de la cardamome étaient également bien reconnues (Elgayyar *et al.*, 2001 ; Sekine *et al.*, 2007 ; Khan *et al.*, 2011).

Chapitre II

L'activité antimicrobienne et la phytochimie

Chapitre II : L'activité antimicrobienne de la cardamome

II.1. L'activité antimicrobienne

Un microbe, ou micro-organisme, fait partie d'un groupe large et extrêmement divers organismes. Ces organismes sont regroupés sur la base d'une seule propriété : ils sont si petits qu'ils ne peuvent être visualisés sans l'aide d'un microscope. Les microbes sont indispensables à la vie. Parmi leurs nombreux rôles, ils sont nécessaires au cycle géochimique et la fertilité de sols. Ils sont utilisés pour produire des aliments ainsi que des composants pharmaceutiques et industriels. D'un autre côté, ils peuvent être la cause de nombreuses maladies végétales et animales et des contaminations alimentaires. Enfin les microbes sont largement utilisés dans les laboratoires de recherche pour étudier les processus cellulaires (Belkheir.F, 2009)

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (Billing et Sherman, 1998).

II.2. Les agents antimicrobiens

Un agent antimicrobien ou désinfectant est défini par son pouvoir de tuer des populations microbiennes. On attend d'un agent désinfectant généralement une action à large spectre et plus rarement une action ciblée sur un germe en particulier (désinfection sélective).

Pour une action bactéricide globale sur les bactéries on doit s'assurer de l'activité bactéricide de l'agent antimicrobien aussi bien sur les espèces à Gram positif que négatif, sans exclure le groupe CNM (Corynebacterium, Nocardia, Mycobacterium). Ces trois groupes de bactéries se distinguent par la composition et la structure de leur paroi cellulaire dont dépend la perméabilité aux agents antimicrobiens (Pibiri, 2006).

II.2.1. Mécanisme d'action

Les mécanismes d'action des produits antimicrobiens autres que les antibiotiques restent encore généralement peu et mal connus. Les agents chimiques antimicrobiens se classent en deux catégories selon leur effet. Le premier est létal, c'est-à-dire qu'il entraîne la mort de

l'individu. On le nomme par le suffixe CIDE : virucide, bactéricide, fongicide, insecticide. Le second correspond à une inhibition de croissance en présence du produit actif. On le nomme avec le suffixe STATIQUE : bactériostatique, fongistatique.

Parmi les produits BIOCIDES, on distingue ;

- Les composés chimiquement très réactifs qui se caractérisent par une action brutale, rapide et temporaire et souvent non spécifique, par exemple ; les oxydants et l'eau oxygénée, les halogénés (chlore et iode) et l'oxyde d'éthylène, les acides et les bases fortes, les aldéhydes et les phénols.
- Les composés chimiquement stables à actions plus spécifiques comme les ammoniums quaternaires, les dérivés phénoliques autres que le phénol, la chlorohexidine parmi d'autres.

Les inhibiteurs de croissance avec un effet biostatique comprennent essentiellement les métaux (mercuriels et dérivés du cuivre, du zinc, de l'argent,..) et les colorants.

Selon leur nature et la concentration utilisée, les antiseptiques et les désinfectants ont une ou plusieurs cibles. Dans la majeure partie des cas, l'accès à la cible nécessite le franchissement de la paroi cellulaire qui est un obstacle à la fois chimique et physique.

M.R.J. Salton en 1968 a décrit cinq étapes dans l'action des agents antimicrobiens (Fleurette et Freney, 1995) :

1. Adsorption sur la cellule suivie de la pénétration dans la paroi.
2. Réactions complexes avec la membrane cytoplasmique conduisant à sa désorganisation.
3. Echappement des composants de faible poids moléculaire du cytoplasme.
4. Dégradation des protéines et des acides nucléiques.
5. Lyse de la paroi causée par les enzymes auto-lytiques.

II.3. Les antibiotiques

Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques.

Actuellement en compte environ 250 antibiotiques disponibles (Belkheir.F, 2009). Le mode d'action des antibiotiques est connu car ils sont développés en fonction de leurs cibles (figure02) c est à dire leur effet destructeur désiré (Pibiri, 2006)

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques (Belkheir.F, 2009).

On classe les antibiotiques d'ailleurs selon leur mécanisme de destruction de la cellule bactérienne (Pibiri, 2006).

1-Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne.

2-Antibiotiques inhibant la synthèse de la membrane cytoplasmique.

3-Antibiotiques inhibiteur la synthèse protéiques.

4-Antibiotique inhibiteur du métabolisme des acides nucléiques et de la synthèse de l'ADN.

5-Antibiotiques agissant par inhibition compétitive.

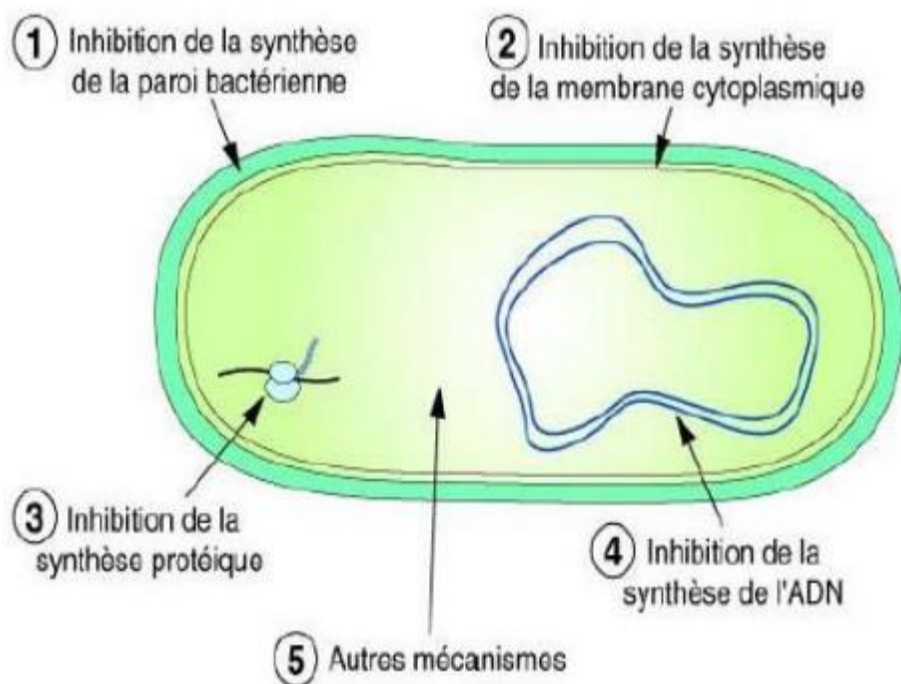


Figure2 : Les cibles de l'action des antibiotiques (Pibiri, 2006).

II.4. L'activité antimicrobienne des extraits des plantes

L'utilisation des antibiotiques conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes. Cette résistance est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons, intégrons). Ces résistances ont conduits à chercher de nouveau agents antimicrobiens possédant une efficacité plus importante que les drogues synthétiques d'une part et bien accepté par l'organisme d'autre part (sans exercer des effets délétères sur la santé humaine (Jürgen *et al.*,2009).

Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que fenel (*Foeniculum vulgare*), peppermint (*Menthapiperita*), thyme (*Thymus vulgaris*), ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mai aussi contre les champignons, les levures et les virus (Jürgen *et al.*,2009).

D'autres groupes de chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industries pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle (Huang *et al.*, 2008).

II.5.Les microorganismes et les maladies

II.5.1. Classification des microorganismes pathogènes par ordre de pathogénicité

Les microorganismes, ou microbes sont des êtres vivants de très petite taille. Parmi ceux-ci, certains sont pathogènes (peuvent provoquer des maladies), mais d'autres sont inoffensifs voir indispensable à notre survie (bactéries de la peau ou du tube digestif).

D'après l'EFB (European Federation of Biotechnologies) les microorganismes sont classées ont quatre classes selon leur pathogénicité ;

- **Classe 1** : Cette classe contient les micro-organismes qui n'ont jamais été décrits comme agents causal de maladies chez l'homme et qui ne constituent pas une menace pour l'environnement .Ils ne sont pas repris dans les classes supérieures.

- **Classe 2** : Cette classe contient des microorganismes qui peuvent provoquer des maladies chez l'homme, et qui peuvent donc constituer un danger pour le personnel de laboratoire. La dissémination dans l'environnement est peu probable. Des moyens prophylactiques et/ou des traitements efficaces existent.

- **Classe 3** : Cette classe contient les microorganismes qui représentent une menace importante pour la santé du personnel de laboratoire mais un risque mineur pour la population. Des moyens prophylactiques et/ou des traitements efficaces existent.

- **Classe 4** : Cette classe contient des micro-organismes qui causent des maladies graves chez l'homme et représentent un danger important pour le personnel de laboratoire.

Habituellement, on ne dispose pas de moyens prophylactiques et aucun traitement efficace n'est connu (Zalta et al,2000).

II.5.2. La culture des bactéries

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides. La solidification des milieux est obtenue par l'addition de l'agar, un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à l'ébullition et se solidifier à des températures inférieures à 40°C. En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'œil nu, que l'on appelle colonie (Si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe). L'emploi de milieux solides permet ainsi le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon (Nauciel et Vildé, 2005).

II.6. Description des microorganismes étudiés

II.6.1. *Staphylococcus aureus*

La *S.aureus* étant un organisme vivant procaryote et une bactérie à Gram positif, il se retrouve donc dans le règne bacteria puis dans le phylum firmicutes .Sa taxonomie complète le positionne dans la classe des bacilli puis dans bacilliales.

En 2001, les chercheurs Garrity et Holt ont proposé de radier les *S.aureus* de la famille des Micrococcaceae (genre *Micrococcus* et *Stomatococcus*) grâce l'analyse des séquences de la sous-unité 16S de l'acide ribonucléique ribosomique (ARNr 16S) ainsi que d'autres analyses génétiques.

Sa position taxonomique est maintenant bien définie et il a une famille à son nom : Staphylococcaceae (Dworkin et al., 2006).

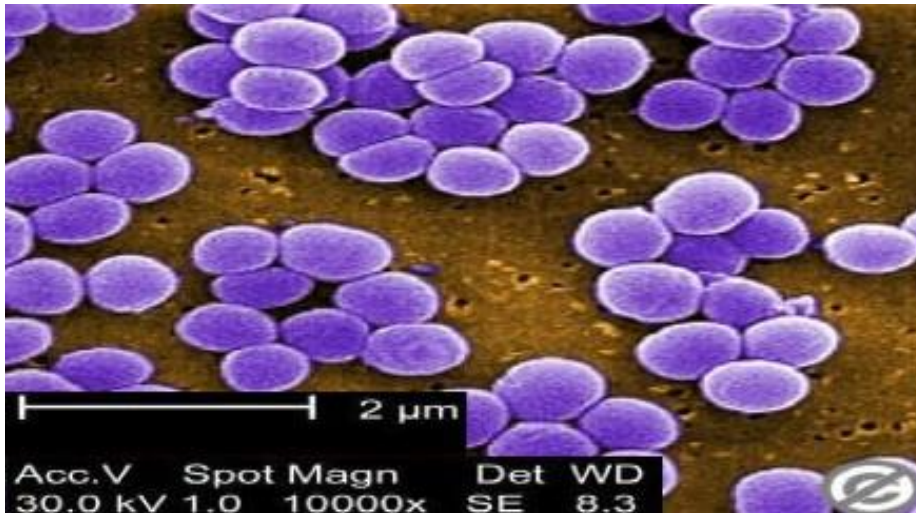


Figure 3: Aspect morphologique de la souche de *Staphylococcus aureus* observée au microscope électronique (Leyral et Vierling, 2007).

S.aureus fait partie de la flore commensale normale des mammifères et des oiseaux, à l'inverse de certaines espèces de staphylocoques qui ont, eux un hôte préférentiel. *S.aureus* semble capable de coloniser tous les mammifères (marins et terrestres) même si différents biotypes de souches de *S.aureus* pourraient être raccordés à des hôtes spécifiques .par exemple ,selon une étude de 2003,un biotype dit «abattoir» serait associé aux produits de boucherie et au personnel des unités de production des abattoirs (Hakalehto et al., 2011).

Chez l'homme, *S.aureus* est présent sur plusieurs sites corporels. On le repère sur la surface de la peau et muqueuses, mais il colonise principalement les fosses nasales, les glandes de la peau, le cuir chevelu, les mains, la bouche, les dents et le périnée (Kloos et al.,1976).

Les Staphylocoques sont responsables chez l'homme, d'infections qui peuvent être localisées et de propagation directe en atteignant essentiellement le revêtement cutané, elles peuvent aussi diffuser par voie sanguine en prenant un caractère septicémique avec un polymorphisme symptomatique extrême (Asao et al., 2003).

II.6.2. *Candida albicans*

La *Candida albicans* est une levure non capsulée, non pigmentée, et aérobie. Cette levure diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes (Chu et al., 1993).

Elle se reproduit de façon asexuée par bourgeonnement multilatéraux d'une cellule mère (le blastopore) formant ainsi des colonies blanches crémeuses.

Au niveau morphologique, cette levure peut mesurer de 3 à 15 µm, et est caractérisée par un polymorphisme que l'on peut retrouver in vitro et in vivo et qui lui permet de se soustraire aux défenses liées à l'immunité cellulaire (Buffoet al., 1984).

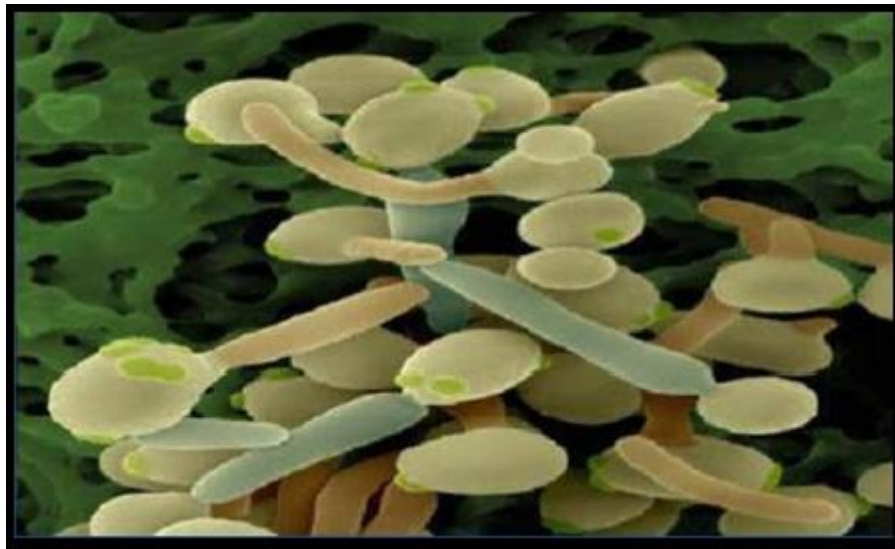


Figure 4: *Candida albicans* vue au microscope électronique et colorée (Delarras, 2007).

Candida albicans est un champignon cosmopolite dont les fréquences d'isolement montrent que chez des sujets sains la levure se répartit différemment en fonction des sites prélèvement : peau (3%), vagin (13%), tractus ano-rectal (15%), cavité buccale (18%), estomac et duodénum (36%), et jéjunum et iléon (41%). Le réservoir principal est donc le tube digestif ou la fréquence de portage varie selon les sujets (Mavor et al., 2005).

De nombreux facteurs de virulence sont associés à la pathogénèse de *C. albicans* dont les principaux sont les adhésines, des biomolécules favorisant l'adhérence aux cellules de l'hôte,

et les protéases aspartiques et les phospholipases, des enzymes hydrolytiques sécrétées par la levure (Calderone et Fonzi, 2001).

De plus, la transition morphologiques et la commutation aussi un rôle important dans la virulence de ce pathogène (Karkowska-Kuleta et al., 2009).

Tous ces facteurs ne semblent pas pouvoir supplanter les défenses de l'hôte normal, mais permettent plutôt au pathogène de coloniser les muqueuses. Par contre, chez les patients immuno-supprimés, l'équilibre dynamique entre les mécanismes de défense de l'hôte et la levure tourne en faveur de cette dernière, notamment due à la présence de ces facteurs (Odds, 1988).

II.6.3. *Escherichia coli*

Le genre *Escherichia* comprend cinq espèces : *E. coli*, *E. albertii*, *E. fergusonii*, *E. hermannii*, *E. vulneris*, *E. blattae*. Cependant, au sein de ce genre, l'espèce *E. coli* représente la quasi-totalité des isolats humains. L'espèce *E. coli* présente une grande diversité sur le plan génétique et sur le plan pouvoir pathogène (Denis et al., 2007).

Isolée pour la première fois par Escherich en 1885, *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique (Avril et al., 2000).



Figure 5: *Escherichia coli* observée au microscope électronique (Gx 1000) (Goubau et Pellegrimps, 2000)

Les *E. coli* sont des hôtes normaux du tube digestif, de la partie distale de l'iléon et du colon de l'homme et de la plupart des animaux à sang qu'ils colonisent dès les premières heures de la naissance (Minor et Veron, 1989).

La présence de cette bactérie dans le sol, l'eau et/ou les aliments témoigne d'une contamination fécale et suggère la possibilité que d'autres bactéries ou virus d'origine digestive s'y trouvent. On considère que leur présence rend l'eau ou les aliments impropres à l'utilisation ou à la consommation (Cristian, 2008).

II.6.4. *Shigella*

Ces bactéries furent décrites la première fois par Chantemesse et Widal en 1888. Ils avaient isolé des selles de malades présentant un syndrome dysentérique (Minor et Veron, 1989).

Nommée *Shigella* en l'honneur du bactériologiste japonais Kiyoshi SHIGA qui a découvert le bacille de la dysenterie en 1897 (Dufour, 2005).

Bien que faisant partie sur le plan génétique de l'espèce *Escherichia coli*, le genre *Shigella* a été conservé dans la taxonomie pour des raisons médicales. Ce genre comprend quatre « espèces » ou sous-groupes A, B, C, D pouvant comporter un ou plusieurs serotypes : groupe A, *S. dysenteriae* avec 15 serotypes ; groupe B, *S. flexneri* avec 6 serotypes ; groupe C, *S. boydii* avec 18 serotypes ; et groupe D, *S. sonnei* avec un seul serotype (Denis et al., 2007).

Les shigelles sont des bactéries strictement humaines. Elles ne font pas partie de la flore intestinale normale. On ne les retrouve que chez les malades, les convalescents et les rares porteurs sains (Carbonnelle et al., 1987).

Ils peuvent survivre relativement longtemps dans le milieu externe : 10-11 jours dans les matières fécales, 8 jours sur les vêtements des malades et 2-3 jours dans l'eau (Cristian, 2008).

II.6.5. *Pseudomonas aeruginosa*

Bacille long et fin de 1-3 μ de long sur 0,5-1 μ de large. *Pseudomonas aeruginosa* est anciennement appelé bacille pyocyanique du fait de sa capacité à donner un pus de couleur bleu-vert. Il est mobile de type polaire avec un seul cil (monotriche) (Avril et al., 2007). C'est une bactérie non exigeante qui en culture sur milieu gélosé élabore des pigments notamment :

- Le pyocyanique (de couleur bleu -vert) pathognomonique ;
- Des pigments jaune pâle ou jaune orangé non spécifiques (Edler, 2001)

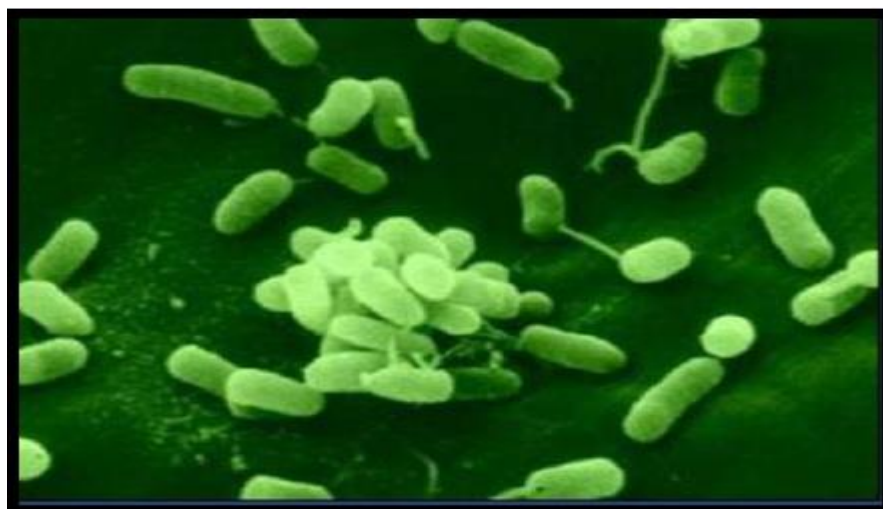


Figure 6: *Pseudomonas aeruginosa* vue au microscope et colorée artificiellement (Delarras, 2007).

La bactérie *P. aeruginosa* est omniprésente dans l'environnement, on la trouve dans de très nombreux milieux : végétaux, poussières, aliments crus (particulièrement les légumes : tomates, carottes, céleris) et même parfois commensale du tube digestif de l'homme (Leclerc, 2002). C'est une bactérie saprophyte d'eau, ubiquitaire de l'environnement humide, son réservoir naturel est le sol, les lacs, les rivières, l'eau polluée, les piscines et les jacuzzis (Floret, 2009 ; Green *et al.*, 1974).

P. aeruginosa est un germe aquicole qui se multiplie dans l'eau quel que soit son contenu en matières organiques (Leclerc, 2002) et comme leur multiplication est favorisée par la température, on les trouve aussi dans les eaux chaudes sanitaires, dans les tours de refroidissement, et dans les piscines, les bains bouillonnants, ventilateurs, nébuliseurs, humidificateurs et malheureusement au milieu hospitalier [éviers, siphons, vases, antiseptiques (dans les solutions de désinfectants)] incriminé dans les infections nosocomiales (Leclerc, 2002 ; GREEN *et al.*, 1974).

II.6.6. *Bacillus cereus*

Bacillus cereus est un germe ubiquiste, qui appartient à la famille des bacillaceae, Gram+, mobile, catalase+. C'est une bactérie anaérobie facultative. *B. cereus* est un fort producteur d'enzymes, il possède une phospholipase très active. Il peut réduire le nitrate en nitrite. Il peut métaboliser l'arabinose et le mannitol.

Les souches de *Bacillus cereus* sont constituées de bacilles, aux extrémités arrondies, généralement mobiles grâce à une ciliature péritriche, d'une longueur supérieure à 3 µm et d'un diamètre moyen de 1,4 µm, souvent groupés en chaînes .

B. cereus est un germe ubiquiste. Bactérie vivant dans les sols et dans les eaux, peut survivre dans l'environnement sous forme de spores. Elle peut contaminer surtout des aliments d'origine végétale (riz, épices) et de nombreux plats cuisinés. *B. cereus* se comporte comme un pathogène opportuniste et cette espèce est également responsable de toxi-infections alimentaires .La présence de spores de *B. cereus* pose de sérieux problèmes dans les industries agroalimentaires (notamment les industries laitières). *B. cereus* est également un contaminant des drogues (héroïne) et de médicaments tels que les topiques qui peuvent alors contaminer des plaies

Les toxi-infections alimentaires à *Bacillus* sont exclusivement dues à *B.cereus*. Elles représentent près de 5% de l'ensemble des toxi-infections alimentaires dans certaines statistiques anglo-saxonnes (Gaillard *et al.*, 1998).

- La première forme, la période d'incubation est de 8 à 16 heures et le symptôme exclusif ou principal est une diarrhée persistant 12 à 14 heures. De nombreux aliments peuvent être à l'origine d'un tel syndrome : viande, légumes, sauces, etc.
- La seconde forme, la période d'incubation n'est que de 1 à 5 heures et les vomissements, cédant en 6 à 24 heures, sont au premier plan. Les intoxications alimentaires provoquées par *B. cereus* ne s'accompagnent pas de fièvre.

II.6.7. *Bacillus subtilis*

C'est une bactérie à positif, elle a pour forme cellulaire des bâtonnets droits à bout arrondis. Le *Bacillus subtilis* est une bactérie résistante qui est présente dans les sols. On retrouve le sur des aliments qu'il contamine. Une fois ingéré, le *Bacillus subtilis* peut être à l'origine d'une intoxication alimentaire. Dans l'industrie agroalimentaire, on utilise le *Bacillus subtilis* pour produire des enzymes du type amylase qui servent à fabriquer du pain. La

bactérie entre également dans la composition de produits détergents. En pharmacie, le *Bacillus subtilis* est utile dans les traitements antibiotiques (Bornert, 2000).

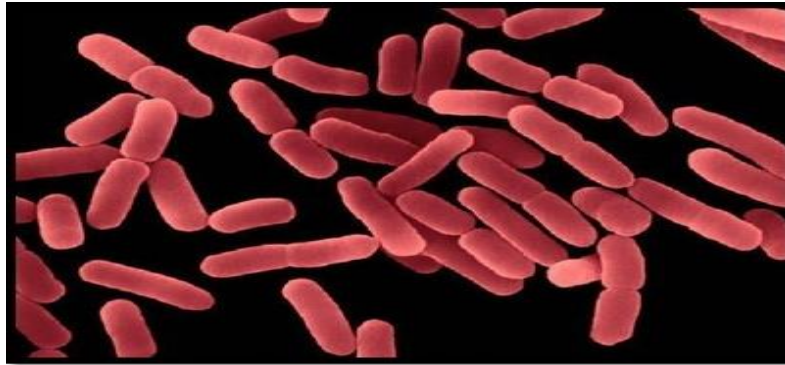


Figure7 : Observation microscopique de *Bacillus subtilis* (Bornert, 2000).

II.6.8. *Aspergillus niger*

Aspergillus niger est un champignon filamenteux ascomycète qui se développe en aérobiose sur la matière organique. *A. niger* est devenu un organisme industriellement utilisé lorsque l'acide citrique a été tout d'abord produit par fermentation en 1919. La [Food and Drug Administration \(FDA\)](#) a classé *A. niger* comme source d'acide citrique (Schuster *et al.*, 2002). On plus de l'acide citrique, *A. niger* offre plusieurs applications par sa production d'enzymes comme pectinase, protéase et amylo-glucosidase qui étaient les premiers à être exploitées et ont été initialement produites en culture de surface (Schuster *et al.*, 2002). Et d'autres acides carboxyliques comme les acides malique, fumarique et oxalique et plus récemment la production de mycotoxines (Hamdi, 1993).

Dans la nature, on le trouve en saprophytes dans le sol, bois, cire, eau (douce, polluée, lits de rivière) et de la litière, dans le compost et le matériel végétal en décomposition. A la faveur de courants d'air, les spores d'*Aspergillus* sont véhiculées et peuvent se déposer sur des substrats divers. On peut isoler des *Aspergillus* à l'extérieur dans l'atmosphère, mais aussi à l'intérieur des habitations, sur les vêtements (Vaubourdolle, 2007).

Certaines souches de *A. niger* pourraient produire des ochratoxines A. Dans certains cas, surtout chez les patients immuno-déficients, *A. niger* peut engendrer une otite externe invasive dont les conséquences peuvent aller de la perte définitive de l'audition au décès du patient (Samsonet *al.*, 2001).

Chez les plantes : les oignons entreposés sont sujets à la pourriture du collet causée par *Botrytis* et à la moisissure *A. niger contaminant un oignon* noir causée par *A. niger*. Cette dernière qui est souvent associée aux meurtrissures attaque de même les bulbes d'échalote ou d'ail (Parize et al., 2008).

II.7. Traitement et prévention des microorganismes pathogènes

Lors de l'étude d'une maladie humaine, animale ou même végétale, d'origine bactérienne, à côté des éléments liés à la vie de la bactérie dans son hôte (pathogène) et aux facteurs qui lui sont propres et conduisent à la maladie (virulence ou pathogénicité), on voit la nécessité d'intégrer dans les connaissances à acquérir des éléments liés à la vie de la bactérie pathogène hors de son hôte d'intérêt, tout comme des facteurs expliquant ou prédisant la sensibilité individuelle de l'hôte (Waldvogel, 2004).

Pour combattre efficacement une maladie infectieuse, il est nécessaire de comprendre le mode de propagation de la bactérie et ses capacités de résistance. La diversité intra-espèces de ces microorganismes implique de connaître la souche spécifiquement responsable de la maladie infectieuse considérée (Poucel, 2012).

Les moyens déployés dans la lutte antimicrobienne peuvent donc être considérables, car il y a de la survie de l'espèce humaine. Ils se présentent sous différentes formes, de la surveillance à la désinfection, la formation, les précautions standards, l'aseptie, l'antiseptie, la stérilisation, la filtration et l'antibiothérapie les méthodes; lavages des mains, désinfections des locaux, en passant par la recherche et la prévention auprès des populations dites « à risques ».

Chapitre III

Matériels et méthodes

*Si un jour, on te reproche que ton travail n'est pas un travail de
professionnel, dis-toi bien que des amateurs on construit l'arche de noe
et des professionnels*

Le titanic

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. Objectif

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire des microorganismes bénéfiques des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS), université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem. Le but de cette étude était d'étudier l'effet antimicrobien des composés bioactifs extraits de la cardamome (*Elettaria cardamomum*) sur les germes pathogènes.

L'étude comporte deux parties :

- Partie 1 : Extraction du matériel végétal à partir des fruits d'*Elettaria cardamomum*,
- Partie 2 : Evaluation de l'activité antimicrobienne d'extrait obtenu.

III.2. Matériel végétal

Les fruits d'*E. cardamomum*, « Hab el Hal », ont fait l'objet de cette étude. Ils ont été achetés secs chez un herboriste à Mazouna, wilaya de Relizane (figure 08).

La matière végétale est broyée dans un broyeur (Moulinex) jusqu'à l'obtention d'une poudre fine nécessaire à la préparation des extraits puis mis dans des bocaux hermétique et conservés à sec (température ambiante) et à l'abri de l'humidité.

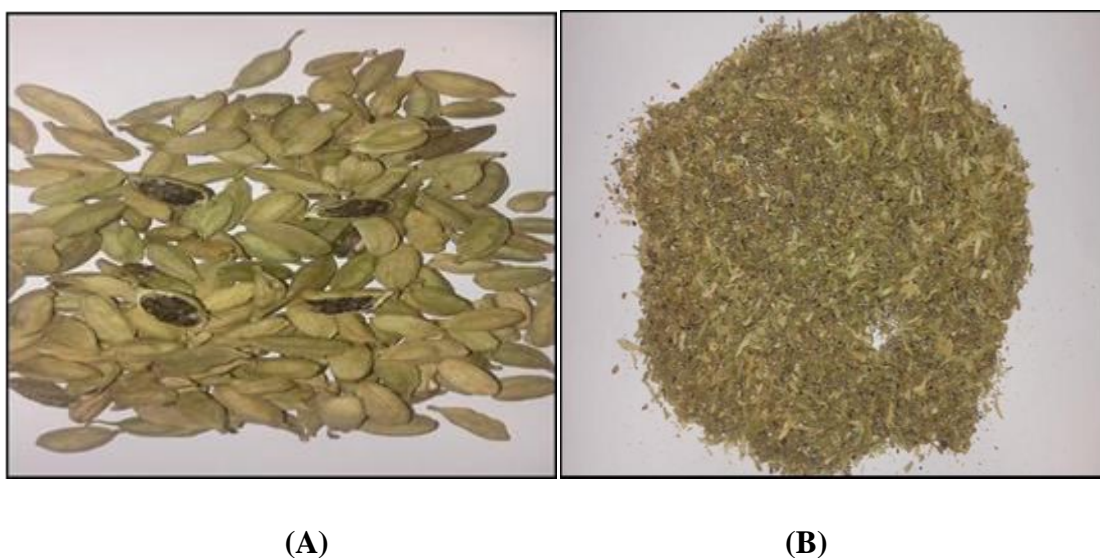


Figure 8: Fruits d'*Elettaria cardamomum* secs (A) ; broyés (B)

III.3. Extraction

L'extraction du matériel végétal est effectuée selon le protocole de [Masoumi-Ardakani et al. \(2017\)](#) ; qui consiste à mettre 200 g de matière végétale en poudre en contact avec 1000 mL d'éthanol absolu. La préparation est laissée macérer à température ambiante pendant 72 heures à l'abri de la lumière. Après filtration par un papier whatman N°1, l'extrait éthanolique récupéré a été concentré à l'aide d'un rota-vapeur à 5°C afin que l'éthanol soit évaporé. L'extrait éthanolique d'*E. cardamomum* (EEC) sera récupéré dans un flacon obscur en verre et conservé à l'abri de la lumière.

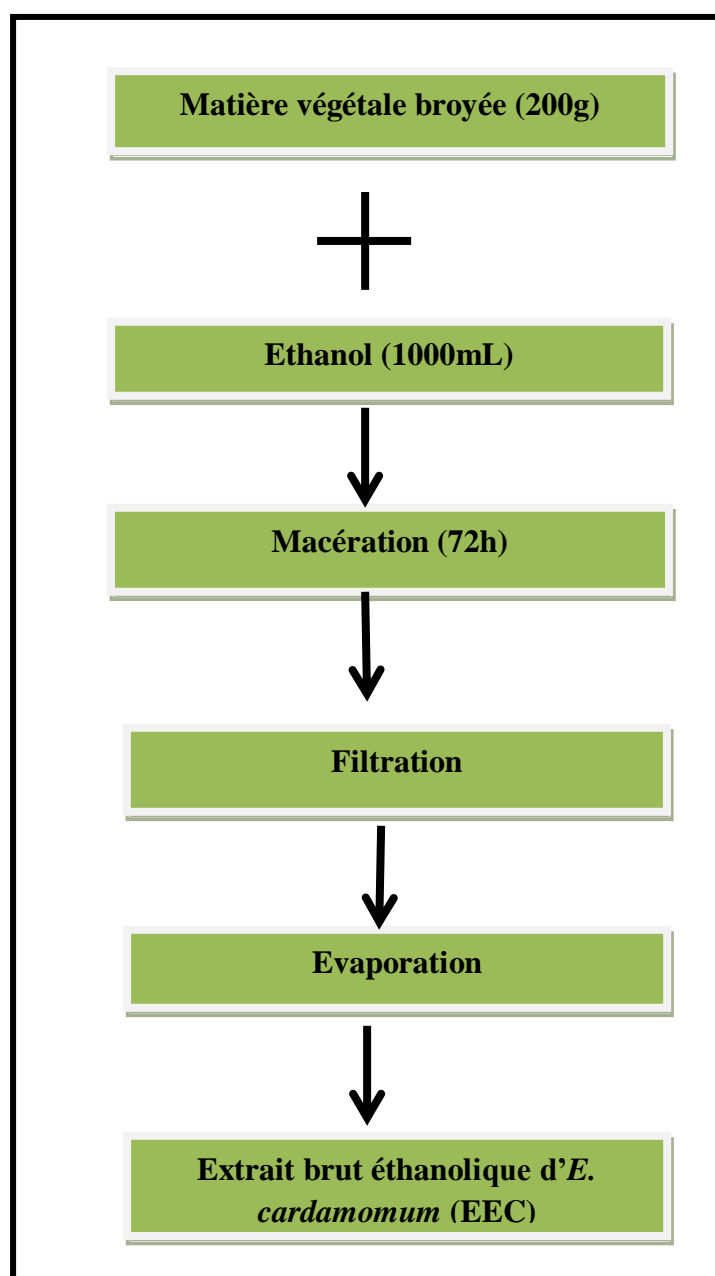


Figure 9: Protocole d'extraction d'*E. cardamomum*

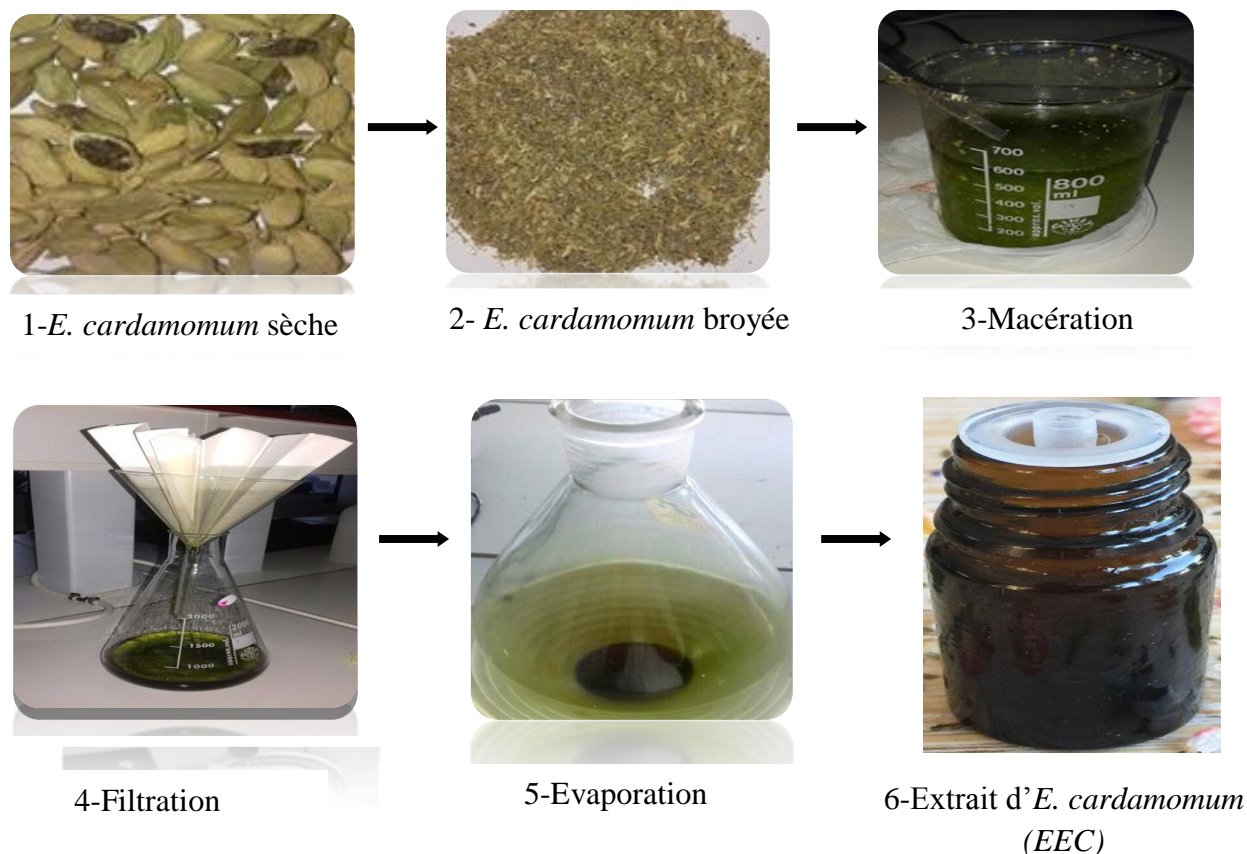


Figure10: Méthode d'extraction d'*E. Cardamomum*.

III.4. Matériel biologique

III.4.1. Les souches microbiennes utilisées

Les espèces cibles (huit souches microbiennes choisies), provenant de la collection du laboratoire LMBAFS (tableau 02). Elles ont été revivifiées et repiquées dans le bouillon nutritif, puis incubées à des températures optimales de développements (37°C) pendant 18 heures pour l'obtention d'une culture jeune. Par la suite, des suspensions troubles de ces souches seront réalisées en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques. On les dépose dans 5 mL d'eau physiologique stérile puis on agite au vortex. Les concentrations bactériennes de l'inoculum sont évaluées par turbidité et sont exprimées par la mesure de la densité optique (DO à 600 nm) sur un spectrophotomètre. Une DO de 0.08 à 0.1 correspond à une concentration de 10^8 UFC/mL (Athamena et al., 2010 ; Karatas et al., 2010 ; Sarac et al., 2007; Yen Tan et al., 2006 ; Rahal et al., 2005).

Tableau02: Liste des souches microbiennes utilisées

Souches	Référence	Gram
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 33862	Positif
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Négatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Négatif
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876	Positif
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	Positif
<i>Shigella sonnei</i>	CETC 584	Négatif
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231	
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 106406	

III.4.2. Milieux de culture utilisés

Les milieux de culture utilisés pour les différents tests microbiologiques sont les suivants : Bouillon Nutritif (BN) et milieu Mueller Hinton (M.H).

- Milieu bouillon nutritif (BN) :

C'est le milieu universel d'enrichissement pour toutes les souches microbiennes. Il est utilisé pour la réactivation, la croissance et la numération des souches avant chaque essai avec incubation dans l'étuve pendant 18h à 37°C (Benkeblia, 2004).

-Milieu de Mueller Hinton (MH):

C'est un milieu non sélectif pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes envers les antibiotiques et les sulfamides. Il constitue également un excellent milieu de base pour la fabrication de géloses au sang (Gachkar et al., 2006).

III.4.3. Mise en évidence et détermination de l'activité antimicrobienne d'extrait d'*Elettaria cardamomum*

L'effet antimicrobien a pour but de rechercher l'activité biologique d'extrait d'*E. cardamomum* (EEC) vis-à-vis les souches microbiennes.

Les méthodes utilisées pour étudier l'interaction entre l'EEC et les espèces microbiennes sont basées sur la diffusion de cet extrait dans le milieu de culture pour inhiber la croissance d'un microorganisme pathogène.

III.5. Méthode de diffusion par disques sur milieu de Mueller-Hinton gélosé

Cette expérience vise à cultiver les bactéries sur le milieu de culture contenus dans les boîtes de Pétri à raison d'une concentration approximative de 10^8 UFC/mL. Après un repos de 15 min, des disques filters (CT0998B, Oxoid. France) contenant différentes concentrations d'extrait d'*E. cardamomum* (100, 50, 25, 12.5) ont été déposées sur la gélose. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h en aérobose.

Après 24h d'incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés à l'aide d'une règle.

III.5.1. Mode opératoire

Des disques de 6 mm de diamètre, pour éviter tous risques de contamination aux germes exogènes au cours de l'expérimentation sont stérilisés par autoclavage à 120°C pendant 20 min, puis conservés dans des tubes en verre stériles fermés hermétiquement jusqu'à utilisation.

Une suspension bactérienne de 24h d'incubation de nombre 10^8 UFC/mL de densité optique (0.08-0.1) de mac Ferland sont coulés par boîte pétri ; 100µL de l'inoculum sont déposés sur chaque boîte pétri. Après 30mn de solidification à température ambiante dans une zone stérile, à l'aide d'une pince stérile et à la surface de chaque boîte, on dépose 4 disques stériles préalablement imprégnés de 15 µL d'EEC de différentes concentrations (figure 11). Enfin, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. Après l'incubation, l'effet d'extrait d'*E. cardamomum* se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible.

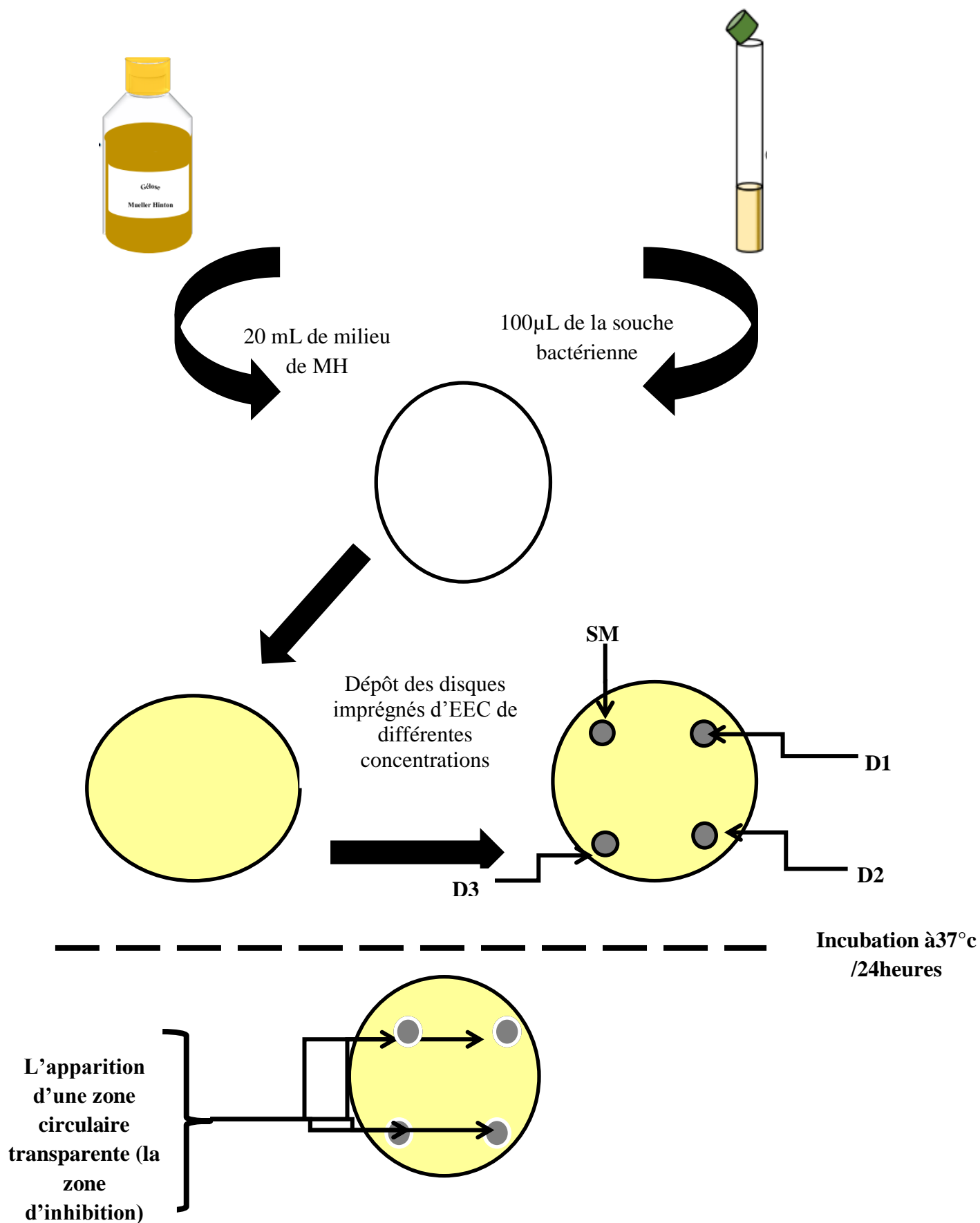


Figure 11: schéma de la méthode de diffusion par disque

SM : solution mère (100 µg/mL)

D1: Dilution 1 (50 µg/mL)

D2: Dilution2 (25 µg/mL)

D3: Dilution 3 (12.5 µg/mL)

III.5.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est la plus faible concentration d'antimicrobien capable d'inhiber toute croissance visible après un temps d'incubation de 18 à 24 heures. La détermination des CMI a été réalisée par la technique de micro dilution ; une méthode quantitative qui permet de déterminer la concentration inhibitrice minimale (CMI). La méthode étudiée est celle de [Koneman et al. \(1997\)](#) et rapportée par [Oke et al., \(2009\)](#) avec quelques modifications. La CMI est étudiée seulement pour les microorganismes sensibles à l'extrait.

Dans cette technique, des microplaques à fond rond (96puits) sont utilisées pour déterminer la concentration minimale inhibitrice, dans chaque ligne de la microplaque, est déposé 100 µL du bouillon nutritif (BN).

Ensuite, 200 µL de l'extrait brut à tester sont introduits dans le premier puits. Après avoir bien mélangé le contenu du premier puits, 100 µL est prélevé, puis déposé dans le 2^{ème} puits, et ainsi de suite jusqu'au 11^{ème} puits et 100 µL sont rejetés. Par conséquent, nous obtenons une dilution ½ entre chaque puits le dernier puits représentent le témoin négatifs : le puits n°12 contient uniquement le bouillon nutritif.

Enfin, 100 µL de l'inoculum ($1 \cdot 10^6$ UFC/mL) est ajouté dans chaque puits. Les microplaques sont scellées et incubées à 37 °C pendant 24h.

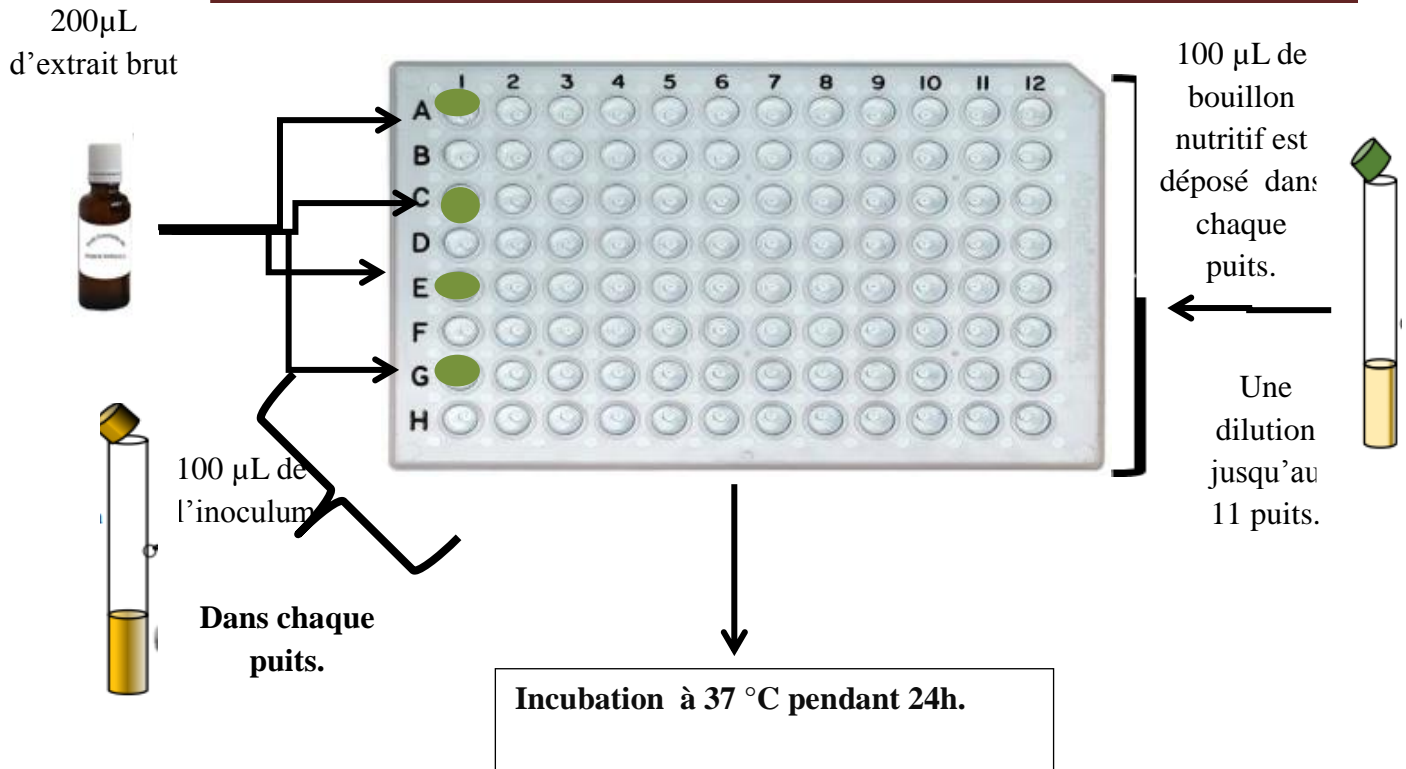


Figure 12: Schéma de détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Chapitre IV

Résultat

Et

Discussion

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Activité antimicrobienne de la cardamome

IV.1.1. Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion des disques

L'activité antimicrobienne d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC) a été déterminée par la mesure des diamètres de zones d'inhibition vis-à-vis des souches microbiennes. Pour l'évaluation du potentiel antimicrobien de cet extrait, on a préféré de le tester contre plusieurs cibles, car chacune d'elles possède des structures cellulaires et un métabolisme particulier. Trois souches bactériennes Gram positive ont été choisies ; *Staphylococcus aureus* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 10876 et *Bacillus subtilis* ATCC 6633, et trois souches Gram négative : *Shigella sonnei* CETC 584, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922 et un champignon : *Aspergillus niger* et une levure : *Candida albicans* (figures 13 à 20).

D'après les résultats obtenus, on remarque que les diamètres des zones d'inhibition d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC) correspondant aux concentrations 100 et 50 % sont plus élevées que ceux observées avec concentrations plus basses : 25 et 12.5 % à l'exception de diamètre d'*Aspergillus niger* (tableau 3).

D'une manière générale, il apparaît que l'activité inhibitrice d'*E. cardamomum* est dose-dépendante puisque le diamètre des zones d'inhibition augmente lorsque la dilution d'extrait augmente. En revanche, le champignon d'*Aspergillus niger* a été inhibé à de faibles dilutions.

Les résultats du tableau montrent que l'extrait éthanolique d'*E. cardamomum* (EEC) est pourvu de pouvoir antimicrobien. On note cependant, des différences d'efficacité d'extrait (EEC) entre les dilutions vis-à-vis les souches microbiennes. A ce sujet, l'activité antimicrobienne d'extrait (EEC) de dilutions élevées est plus efficace que celle de dilutions faibles. L'extrait (EEC) a eu des effets antimicrobiens importants vis-à-vis toutes les souches pathogènes à des concentrations 100 et 50 % à l'exception d'*Aspergillus niger*.

Tableau 3 : Diamètres des zones d'inhibitions de huit souches pathogènes (*Staphylococcus aureus* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Shigella sonnei* CETC 584, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Aspergillus niger* et *Candida albicans*) cultivées en présence de quatre concentrations (100, 50, 25 et 12.5) d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum*.

Les souches microbiennes	Concentrations d'extrait éthanolique d' <i>Elettaria cardamomum</i> (%)			
	100	50	25	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27853	23	22	11	10
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	31	33	15	10
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	13	15	20	10
<i>Shigella sonnei</i> CETC 584	15	16	9	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	33	31	22	19
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	15	17	15	0
<i>Aspergillus niger</i>	0	0	25	21
<i>Candida albicans</i>	25	23	19	15

Les zones d'inhibition obtenues d'extrait (EEC) correspondant aux dilutions 100 et 50 % sont observées très élevées pour les souches pathogènes : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* avec des diamètres de zones d'inhibition (DD) ayant atteint (23,22 mm), (DD : 33,31 mm) et (DD : 25,23 mm) respectivement. D'autre part, des zones d'inhibition obtenues d'extrait (EEC) à de concentrations 50 et 100 % ; ont été examinées éminentes appartenant aux souches pathogènes : *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis* (DD : 17,15 mm), (DD : 16,15 mm), (DD : 33,31 mm) et (DD : 15,13 mm) respectivement. D'autres réponses positives ont été enregistrées avec le champignon d'*Aspergillus niger* (DD : 25,21 mm) à concentration de : 25 et 12.5 respectivement.

Pseudomonas aeruginosa paraît plus sensible vis-à-vis de l'extrait d'ECC avec des diamètres de zones d'inhibition de l'ordre de 19, 22, 31 et 33 mm en présence de 12.5, 25, 50 et 100 % de concentrations d'extrait, respectivement. Tandis que pour l'*Aspergillus niger*, on a obtenu des diamètres de zones d'inhibition de 0, 0, 25 et 21 mm, respectivement pour les mêmes dilutions.

L'effet antimicrobien de l'extrait d'ECC est faible vis-à-vis *Escherichia coli* car le diamètre des zones d'inhibition varie de 0 à 15 mm, en présence de 12.5 à 25 % de concentrations d'extrait EEC respectivement. *Shigella sonnei* s'est montrée moins sensible envers les concentrations : 12.5 et 25 % d'extrait EEC, en générant des diamètres de zones d'inhibition de (DD : 8 et 9) respectivement pour les mêmes dilutions.

Ce n'est qu'à la concentration de 100 % d'extrait d'EEC qu'*E. coli* manifeste une sensibilité qui reste bien inférieure à celle des autres germes pathogènes testés. Par conséquent, le diamètre de zone d'inhibition d'*E. coli* à une concentration de 100 % d'EEC est de 15 mm, respectivement. La plus forte sensibilité de cette souche a été celle observée à une concentration de 50 % d'EEC (17 mm).

Jazila El Malti et al. (2007) ; ont également obtenu des résultats similaires, en confirmant l'hypothèse de la sensibilité des bactéries gram positif vis-à-vis la cardamome. Jazila El Malti et al. (2007) ; ont indiqué que la zone moyenne d'inhibition de la cardamome contre les micro-organismes allait de 7 ± 2 mm (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) à 16 ± 2 mm (*Bacillus cereus* ATCC 11778).

Nos résultats concordent à l'étude de Ertürk, (2006) ; qui révèlent que l'extrait éthanolique du cumin est actif contre *Escherichia coli* ATCC, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, par rapport à l'extrait brut hydro-méthanolique (EBr) du cumin. En outre, les résultats de Ertürk, (2006), ont démontré des zones d'inhibition de 15 à 14 mm de l'extrait éthanolique du cumin respectivement vis-à-vis d'*Aspergillus niger* et *Candida albicans*, ce qui indique que l'activité antifongique dépend du solvant utilisé pour l'extraction.

Nos résultats sont comparables à ceux trouvés par Onyeagba et al., (2004), Ou l'huile de gingembre n'a donné aucune activité antibactérienne vis-à-vis de certaines bactéries testées ,parmi lesquelles *Bacillus spp*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Salmonella spp*. De même, Sasidharan et al. , (2010) ont trouvé le même résultat ; par contre une activité antifongique remarquable vis-à-vis de *Candida albicans* où la zone d'inhibition était de 12,0 mm.

O'Hara *et al.* (1998), ont montré que l'extrait de gingembre possède une activité antibactérienne non négligeable, et que l'inhibition de la croissance bactérienne était dépendante de la dose.

Dorman *et al.* (2000) ont testé l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L. contre ces quatre bactéries et ils ont trouvé une sensibilité plus importante de *Bacillus subtilis* et d'*E. coli*. Loziene *et al.* (2007) ont montré que *Staphylococcus aureus* était plus sensibles qu'*E. coli* à l'huile essentielle de *Thymus pulegioides* L.

En outre, nos résultats sont similaires de ceux trouvés par Harzallah *et al.*, (2012), où ils ont trouvé qu'avec la même méthode que la souche de référence *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 était la plus sensible vis-à-vis de l'huile de nigelle parmi l'ensemble des souches testées dont le diamètre de la zone d'inhibition est de l'ordre de 16,66 mm.

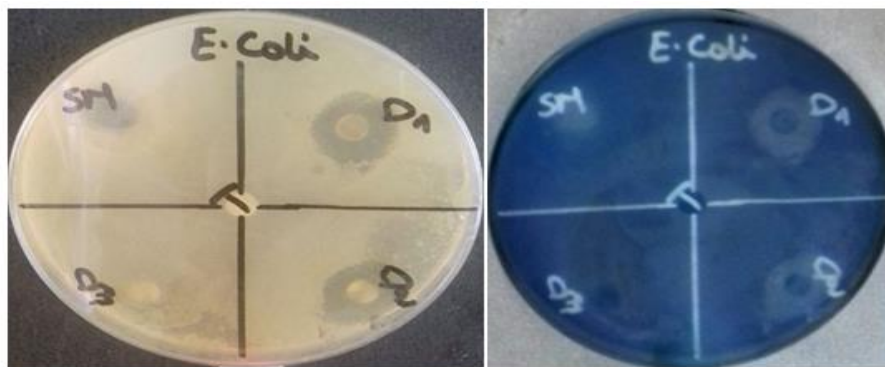


Figure 13 : les zones d'inhibition effectuées d'extrait d'EEC sur *Escherichia coli*

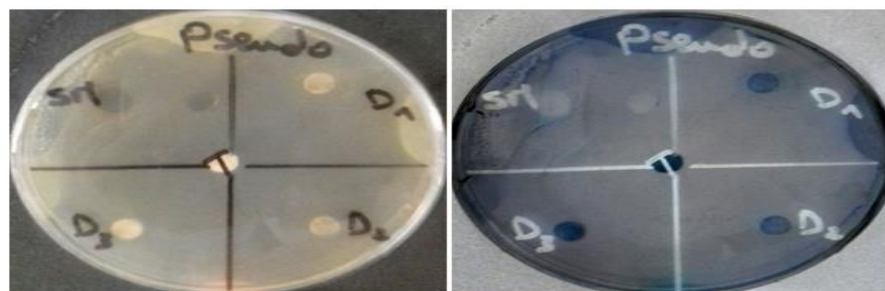


Figure 14 : les zones d'inhibition effectuées d'extrait d'EEC sur *Pseudomonas aeruginosa*

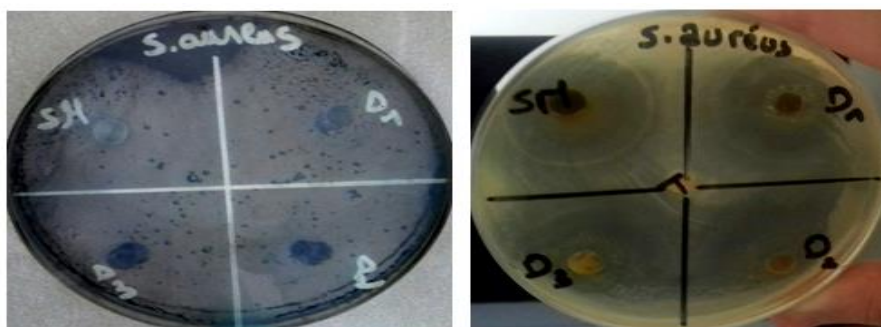


Figure 15 : les zones d'inhibition effectuées d'extrait d'EEC sur *Staphylococcus aureus*

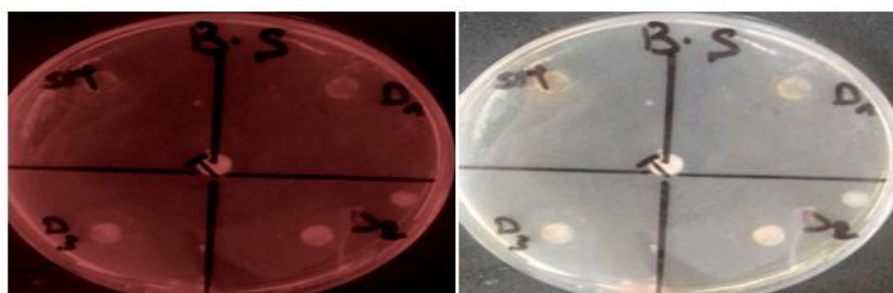


Figure 16 : les zones d'inhibition effectuées d'extrait d'EEC sur *Bacillus subtilis*



Figure 17 : les zones d'inhibition effectuées d'extrait d'EEC sur *Bacillus cereus*

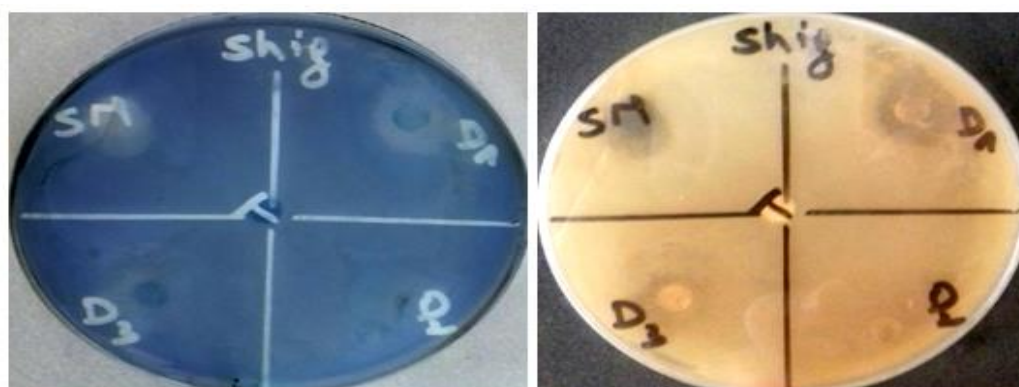


Figure 18 : les zones d'inhibition effectuées d'extrait d'EEC sur *Shigella*

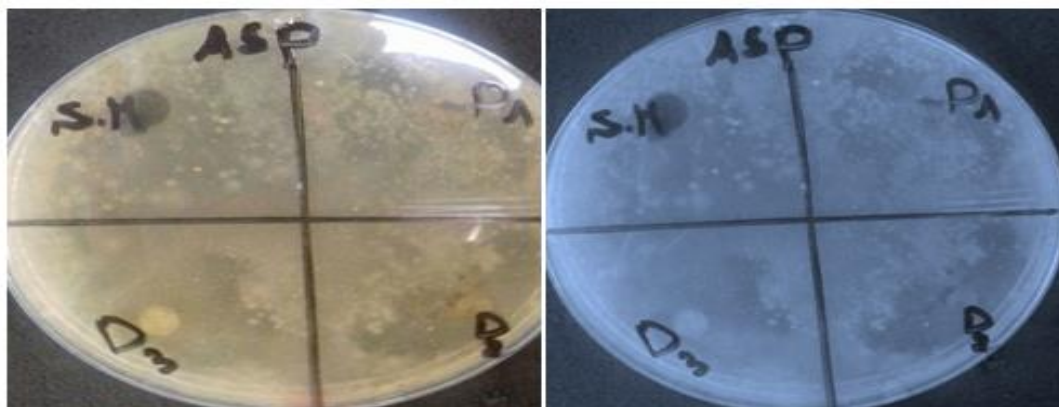


Figure 19 : les zones d'inhibition effectuées d'extrait d'EEC sur *Aspergillus niger*

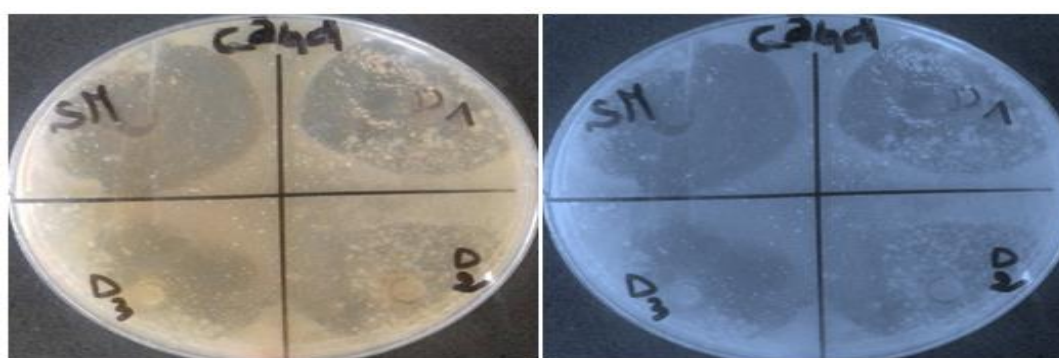


Figure 20 : les zones d'inhibition effectuées d'extrait d'EEC sur *Candida albicans*

IV.1.2. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est la plus faible concentration d'extrait inhibant toute croissance visible après un temps d'incubation de vingt quatre heures (24h). La CMI permet de définir la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes aux substances antimicrobiennes (Kablan, 2008). Il existe une relation inverse entre CMI et pouvoir antimicrobien des substances. La croissance bactérienne est indiquée par la présence d'un culot blanc qui se forme au fond du tube. Les résultats sont exprimés par la présence ou l'absence de croissance bactérienne. La CMI des souches pathogènes est représentée dans le tableau 4 (voir figure 21).

Tableau 4 : Concentration minimale inhibitrice (CMI en mg d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (mg/mL) des souches pathogènes.

Les souches microbiennes	Concentrations minimale inhibitrice (CMI) en mg/mL d'EEC
<i>Escherichia coli</i>	20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
<i>Staphylococcus aureus</i>	10
<i>Bacillus subtilis</i>	40
<i>Bacillus cereus</i>	20
<i>Shigella sonnei</i>	10
<i>Aspergillus niger</i>	40
<i>Candida albicans</i>	20

Selon les résultats du tableau 4 ; nous avons relevé que la sensibilité de certaines bactéries à l'extrait d'EEC était moyenne, comme c'est le cas de : *Candida albicans*, *Escherichia coli* et *Bacillus cereus* avec une valeur de CMI qui est de 20 mg/mL d'EEC.

L'inhibition importante constatée chez l'extrait éthanolique d'EEC contre des bactéries pathogènes comme *Shigella sonnei* et *Staphylococcus aureus* avec une CMI de 10 mg/mL d'EEC peut les classer comme un agent antibactérien puissant pour lutter contre certaines maladies. Ces deux germes causent des maladies très graves de type gastroduodéal, pneumonie et les septicémies. La sensibilité de ces germes à notre extrait d'EEC peut constituer donc une piste sérieuse pour trouver un remède ou un moyen de lutte naturel efficace contre ces bactéries pathogènes.

En revanche, une CMI de 40 mg/mL d'EEC qui est très faible, a été signalé par ; *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* et *Aspergillus niger*.

D'une manière globale, les plus faibles CMI qui sont obtenues avec l'extrait d'EEC ; atteste de la richesse de ces échantillons en principes actifs antibactériens vis-à-vis les souches pathogènes cibles. Cependant, les souches bactériennes ayant développées une sensibilité efficace à l'égard d'extrait d'EEC s'agissant de ; *Shigella sonnei* et *Staphylococcus*.

Jazila El Malti *et al.* (2007), l'extrait de cardamome a été très efficace pour inhiber la croissance d'une majorité de pathogènes, entre 9,4 et 18,75 mg / ml. A l'exception de *E. coli* et *Bacillus cereus* ATCC 11778 qui ont eu une grande sensibilité à l'extrait de cardamome (CMI <2,34 mg / ml).

Concernant les huiles de gingembre, elles ont présenté des résultats semblables et se sont révélées légèrement actives, avec une valeur de 6,4 mg/ml pour *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (Kamni et Senouci Bereksi, 2015).

Selon Fatiha Amarti *et al.* (2009), à l'égard de l'essence de *Thymus algeriensis* : *Bacillus subtilis* s'est montrée plus résistante avec une concentration d'inhibition de 1/250, alors que les autres bactéries ont été inhibées à partir de 1/500. Toutes les moisissures testées ont été inhibées à partir de la faible concentration de 1/3 000 de l'essence de *Thymus ciliatus*, alors qu'elles ont résisté jusqu'à 1/250 à l'huile de *Thymus algeriensis*.

Nos résultats sont en discordance avec ceux de Giordani *et al.* (2008) qui ont montré que parmi les huiles de sept plantes aromatiques et médicinales différentes de l'Algérie, l'essence de *Tymus algeriensis* a présenté la plus faible activité antifongique contre *Candida albicans*.

La Santé (OMS, 1999) ont également montré que ce constituant possède une forte activité antifongique et antibactérienne contre de nombreuses espèces, y compris *Aspergillus* sp., *S. aureus* et *E. coli*.

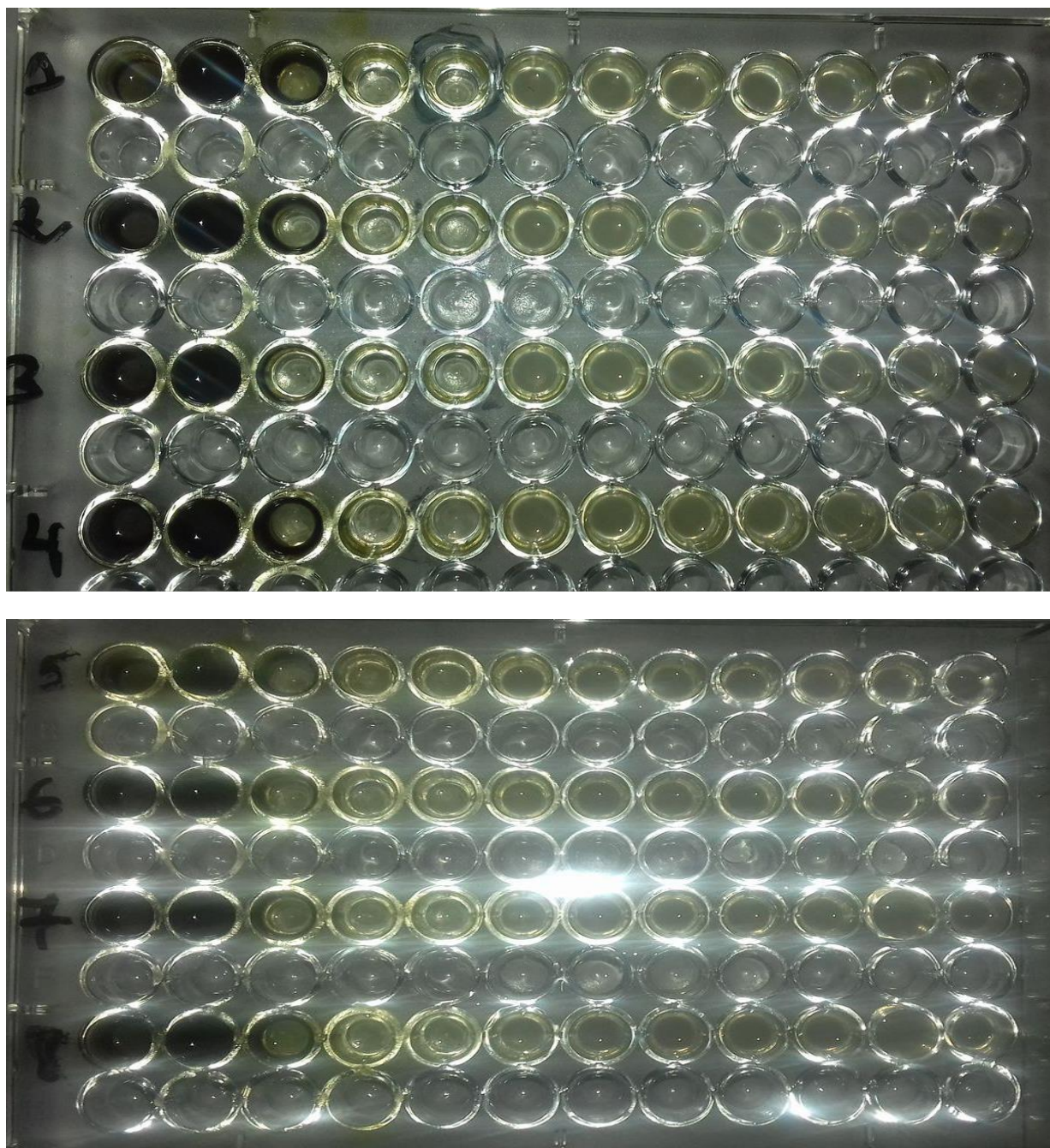


Figure 21 : Concentrations minimales inhibitrices d’EEC vis-à-vis des souches pathogènes

1 : *Staphylococcus aureus* ATCC 27853, 2 : *Bacillus cereus* ATCC 10876, 3 : *Bacillus subtilis* ATCC 6633, 4 : *Shigella sonnei* CETC 584, 5 : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, 6 : *Escherichia coli* ATCC 25922, 7 : *Aspergillus niger*, 8 : *Candida albicans*.

Conclusion

Conclusion

Au cours de ce travail, il a été étudié l'activité antimicrobienne d'*Elettaria cardamomum*. Cette plante n'a pas fait l'objet d'une investigation phytochimique complète antérieure. Nous avons tenté de contribuer à une étude de son activité antimicrobienne. La plante d'*Elettaria cardamomum* a été soumise à une extraction par macération à froid avec l'éthanol.

Au terme de ce travail qui porte sur l'étude de l'activité antimicrobienne d'*Elettaria cardamomum*. Cette plante est largement utilisée en médecine traditionnelle à travers le monde ; nous pouvons tirer un certain nombre de conclusions :

L'extraction d'extrait d'*Elettaria cardamomum* (EEC) a été réalisée à partir des fruits de la plante par macération à froid avec l'éthanol. L'activité antimicrobienne a été déterminée sur huit souches microbiennes retenues. Selon la méthode des disques, l'extrait végétal possède une activité antimicrobienne sur toutes les souches testées et le diamètre d'inhibition se diffère d'une souche à une autre selon la nature et la concentration utilisée de l'extrait.

La plante d'*Elettaria cardamomum* a donnée l'effet antimicrobien le plus important avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 33 mm à une concentration de 50 % d'extrait d'EEC. Par ailleurs, nous avons constaté que toutes les dilutions d'extrait d'EEC étudiées semblent exercer un effet répressur sur la croissance et l'adhérence de toutes les souches microbiennes testées. En revanche, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Aspergillus niger* n'ont présenté aucune activité antibactérienne décelable (0 mm de diamètre) vis-à-vis les concentrations 12.5 % et 100, 50 % d'extrait d'EEC.

Il ressort également une action inhibitrice efficiente d'extrait d'EEC contre *Staphylococcus aureus* et *Shigella sonnei* testés avec une Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de 10 mg/mL d'extrait d'EEC.

Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence. L'issue de la présente étude les perspectives suivantes peuvent être dégagées :

- Il serait intéressant d'approfondir l'investigation photochimiques et biologiques sur cette plante afin d'isoler les molécules responsable des activités observées, ce qui permette a d'élargir l'arsenal thérapeutique des médicaments à base de plantes ;

- D'élargir l'éventail des espèces microbiennes testées (bactéries, levures et moisissures, hospitalières et de référence) ; pour voir d'éventuel effet synergique ;
- De déterminer d'autres activités biologiques de la plante étudiée (l'activité anti-inflammatoire, anti-oxydante, antifongique ...).

Références bibliographiques

A

- **Abdelkader, S.M., Bauomi, A.A., Abdel-Rahman, M., Mohammaden, T., Rezk, M.M., (2015).** Antioxidant potentials of (*Elletariacardamomum*) cardamom against Uranium hazarda. *International Journal of Basic and Life Sciences*, 3, 64–181.
- **Al-Bayati. A. F., Khudir D. S. 2007.** *In vitro* activité antimicrobienne de *salvadorapersica*L. Université de Mossoul. Irak : 57-62.
- **Al-Mailiki, A. D. M. (2011).** Isolation and identification of phenolic compounds from *Elettaria cardamomum*seeds and study of their medicinal activity against Pathogenic Bacteria of Prostate Gland. *Journal of Misan Researches*, 8, 13-35.
- **Aouadhi. S. 2010.** Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. Étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Mémoire de master en toxicologie. Faculté de Médecine de Tunis.
- **Arvy, M. P., & Gallouin, F. (2015).** *Épices, aromates et condiments*. Editions Belin.
- **Asao, T., Kumeda, Y., Kawai, T., Shibata, T., Oda, H., Haruki, K., Nakazawa, H., Kozaki, S.** An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in incriminated milk and powdered skin milk. *Epidemiol infect.* 2003; 130, p33-40.
- **Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., & Khebri, S. (2010).** Activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminumcyminum*L. *Lebanese Science Journal*, 11 (1), pp. 69-81.
- **Avril J. ; Dabernat H. ; Denis F. et Monteil H. (2000).** Bactériologie clinique. 3^{ème} édition. Ellipses. Paris. p171-229.
- **Avril. J. L, Monteil. H, Dobernat.H, Denis. F.** Bactériologie Clinique. Édition ELLIPSE: 171, 172, 175, 208 ,294 ,295

B

- **Benkeblia N (2004).** Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *LWT - Food Science and Technology*. Volume 37, Issue 2, March 2004, Pages 263-268.
- **BELKHIR,F.(2009).**activités antimicrobienne et antioxydante des extraits du *tumuscommunis*L , Mémoire pour obtention du grade du magister en microbiologie
- **Bhattacharjee, S., Rana, T., Sengupta, A. (2007).** Inhibition of lipid peroxidation and enhancement of GST activity by cardamom and cinnamon during chemically induced colon carcinogenesis in Swiss albino mice. *AsianPac J Cancer Prev*, 8, 578-582.

- **Billig.G, Sherman.W.** Antimicrobial fonctions of spics, the quarterly review of biologie, Mars.1998, pp3-49.
- **Bornert, G. (2000).** Importance des bactéries psychrotrophes en hygiène des denrées alimentaire. Revue Méd .Vét, vol.151.pp1003-1010.
- **Botineau, M. (2010).** *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs.* Tec & doc.
- **Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales, 3ème édition, Paris :Editions médicales internationales, Tec et Doc, Lavoisier, 1120p.
- **Buffo, J., Herman, M. and Soll, D.R.,** A characterization of ph-regulated dimorphisme in *Candida albicans*. Mycopathologia 1984.85:21-30.3.

C

- **Callon, C., Gilbert, FB., De Cremoux, R.,Montel, MC.** Application of variable number of tandem repeat analysis to determine the origin of *S.aureus* contamination from milk to cheese in goat cheese farms. Food Control. 2007; 19 p143-150.
- **Carbonnelle B. ; Denis F. ; Marmonier A. ; Pinon G. et Vargues R. (1987).** Bactériologie Médicale : Techniques usuelles. SIMEP SA. Paris. p.146, 155.
- **CHU-PS Pitié-Salpêtrière. (2003).** Bactériologie DCEM1.Université PARIS-VI Pierre et Marie Curie. Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière. Service de Bactériologie.
- **Chu, W.S., Magee, B. B. and Magee,P. T.,** Construction of an Sfil macrorestriction map of the *Candida albicans* genome. J Bacteriol 1993. 175:6637-6651.
- **Cristian C. (2008).** Microbiologie Hygiène Base microbiologiques de la diététique. Ed.TEC & DOC Lavoisier, Paris. p.76 -86, 257.
- **Cronquist, A. (1981).** *An Integrated System of Classification of Flowering Plants, Colombia.* Univercity Press. New York: 1753.

D

- **Delarras ,C . (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. LA VOISIER. pp 248,320, 341, 296, 250, 358,359.
- **Denis F.; Ploy C. M.; Martin C.; Bingen E. et Quentin R. (2007).** Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Ed. Elsevier Masson SAS. p.335-401.
- **Dorman H.J.D. & Deans S.G., 2000.** Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, **88**, 308-316.

- **Dufour J-P. (2005).** Les diarrhées du macaque cynomolgus (*Macaca fascicularis*): essai de prophylaxie dans un élevage de l'île Maurice. Université Paul-Sabatier De Toulouse. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. p. 65.
- **Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., KH., Stackbrandt, E.** The prokaryotes: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. 3eme éd. ; Springer, New-York, 2006. Vol 4, Chap.1.2.1. The genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*, p4-75.

E

- **Edler L.** Biometry - The Role of the Biostatistician. Introduction to Clinical Drug Research. Vienna School of Clinical Drug Research. 22 – 26, Janvier 2001: 15.
- **Elgayyar, M., Draughon, F. A., Golden, D. A., Mount, J. R. (2001).** Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *Journal of Food Protection*®, 64, 1019-1024.
- **El Malti. J ;Mountassif. D ;Amarouch. H.** Antimicrobial activity of *Elettaria cardamomum*: Toxicity, biochemical and histological studies. *Food Chemistry* 104 (2007) 1560–1568. (2007).
- **Elodie, G. (2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles séparation, identification et mode d'action ; thèse pour l'obtention du grade de docteur en biochimie .
- **Ertürk, Ö. 2006.** Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Biologia Bratislava*, 61: 275-278.

F

- **Fatiha Amarti (1,2), Badr Satrani (1), Mohamed Ghanmi (1), Abdellah Farah (3), Abderrahman Aafi (1), Lotfi Aarab (4), Mustapha El Ajjouri (1,2), Abdelaziz Chaouch (1). (2009).** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. Et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2010 14(1), 141-148.
- **Fauchere J.L. et Avril J.L. (2002).** Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. Paris. p.365.
- **Fleurette, J., Freney, J. (1995).** antiseptie et désinfection.
- **Floret N, Bertrand X, Thouverez M, Talon D.** Infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* : origine exogène ou endogène de la bactérie responsable ? *Pathologie Biologie* 2009 ; 57 :9-12.

G

- **Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh S.A., Rasooli, I. 2007.** Chemical and biological characteristics of *Cuminumcyminum* and *Rosmarinusofficinalis* essential oils. *Food Chem.*, 102: 898-904
- **Gaillard B., Breton A. et Bernalier A.1989.** *currMicrobiol.* 19 : 103-107
- **Gaillard S., Leguérinel I, et Mafart P. 1998.** Modelling combined effect of temperature and ph on the heat resistance of spores of bacillus cereus. *Food. Microbial.*32:225-233.
- **Gilly, G. (2005).** Les plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse : botanique, culture, chimie, production et marché. Editions L'Harmattan.
- **Giordani R., Hadeif Y. &Kaloustian J., 2008.** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, **79**, 199-203.
- **Goubou P. et pellegrims E.2000.** Repères en microbiologie. Edition Garant. P:391.
- **Gurib-Fakim A. 2006** Medicinal plants: Tradition of yesterday and drugs of tomorrow.*Molecular aspects of Medicine* 27: 1-93.

H

- **Hakalehto, E., Vilpponen-Salmela, T.,Kinnunen, K., & von Wright, A. (2011).** Lactic Acid bacteria enriched from human gastric biopsies. *ISRN Gastroenterology*,2011,109183. Han, X. Y., Kamana, M., & Rolston, K. V. I. (2006). Viridans streptococci isolated by culture from blood of cancer patients: clinicaland microbiology, 44(1), 160-5.
- **HAMDI M., 1993.** Nouvelle conception d'un procédé de dépollution biologique des margines, effluents liquides de .l'extraction de l'huile thèse de doctorat, Université de Provence, Marseille.
- **HHarborne, J.B. (1980).** Plant Phenolic's: Encyclopedia of Plant Physiology. *New series* (8),329-402.
- **Harzallah H.J., Noumi E., Bekir K., Bakhrouf A., Mahjoub T.2012.** Chemical composition, antibacterial and antifungal properties of Tunisian *Nigella sativa* fixed oil. *African Journal of MicrobiologyResearch*, 6(22) : 4675 - 4679.

- **Health and Safety Department.** Good Microbiological Practice Containment University of Edinburgh. (August 2003): 1 – 8.
- **Henaryn, Ridly.(1999)** “*Spices* ” Dehardun: Interantional Book Distribution, pp. 325-357.
- **Huang, D., Ou, B., Prior, R. L. (2005).** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53, 1841-1856.

I

- **Ikeda, T., Tamate, N., Yamaguchi, K., Makino,S.** Mass outbreak of food poisoning disease caused by small amounts of staphylococcal enterotoxins A and H. *Appl Environ microbial.*2005; 71.p2793-2795.
- **Iserin, P., Masson, M., Restellini, J. P. (Eds.). (2007).** Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse.

J

- **Jamal,A.,Javed,K., Aslam, M. and Jafri, M.A. (2006)** Gastro prospective effect of cardamom Maton fruits in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 103, 149-153.
- **Johnya, Kallupurakal and Ravindran, P.N.(2002)** “Hint for Cardamom Cultivation High Production Technology” *Plant Hortitech*, 13(6), October, pp. 21-26.

K

- **Kamni A., SenouciBereksi M. 2015.** Effet inhibiteur de certains extraits hydro-méthanoliques et huiles essentielles de plantes médicinales sur des espèce bactériennes résistantes aux antibiotiques. Mémoire de Master en biologie (Sciences des aliments). Université de Tlemcen.
- **Kablan.BJ,Adiko.M,Abroggoua.DP ,(2008).**Evaluation in vitro de l’activité antimicrobienne de *KalanchoeCrenata* et de *Mantes logiflora* utilisés dans les ophtalmites en côte d’Ivoire .*Phytothérapie*, vol6,issuue 5 ,pp 282-288
- **Kloos, WE., Zimmerman, RJ., Smith, RF.** Preliminary studies on the characterization and distribution of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species on animal skin. *Appl Environ Microbiol.* 1976; 31, p53-49.
- **Karatas, H., &Ertekin, S. (2010).** Antimicrobial activities of the essential oils of four *Salvia* species from Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research* , 4 (12), pp. 1238-1240.

- **Karkowska-Kuleta J, Rapala-Kozik M & Kozik A. (2009).** Fungi pathogenic to humans: molecular bases of virulence of *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus fumigatus*. *Acta biochimica Polonica* 56,211-224.
- **Katzer, G. (2010)** cardamom (*Elettaria cardamomum* White et Maton)([http://gernot – katzers-spice-pages.com/ engl/Elet-car.html](http://gernot-katzers-spice-pages.com/engl/Elet-car.html)) accessed 29 April 2017.
- **Khan, A. M., Qureshi, R. A., Ullah, F., Gilani, S. A., Nosheen, A., Sahreen, S., Murad, W. (2011).** Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 6055-6060.
- **Kishor GK, Pande S & Podile AR (2005).** Biological control of late leaf spot of peanut (*Arachis hypogaea*) with chitinolytic bacteria. *Phytopathology* 95:1157-65.
- **Koneman EW., Allen SD., Janda WM., Scherckenberger PC., Winn WC., 1997.** Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Philadelphia: Lippincott-Raven.
- **Korikanthimath, V.S (2002)** Agronomy and management of cardamom. In: Ravindran, P.N. and Madhusoodanan, K.J. (eds) cardamom-the Genus *Elettaria*. Taylor and Francis, London, pp. 91-128.
- **Korikanthimath, V.S., Venugopal, M.N., Sudharsan, M.R. and Prasath, D. (2006)** cardamom. In: Ravindran, P.N., Nirmal Babu, K., Shiva, K.N. and Kallapurackal, K.A (eds) Advances in spices research: History and Achievements of spices research in India since independence. Agrobios, Jodhpur, pp. 315-363.
- **Korikantimath VS, Mulge R, Zachariah JT (1999):** Variations in essential oil constituents in high yielding selections of cardamom. *J. Plantation Crops*, 27: 230-232.

L

- **Lawrence BM (1979):** Major tropical spices- cardamom (*Elettaria cardamomum*). In: Essential oils, Allured Publ., Wheaton, p. 104.
- **LECLERCQ H-PERLAT M.N., OUMER A. BUONO F BERGERE J. L. SPINLER H.E and CORRIEU G. (2002).** Behavior of *Brevibacterium linens* and *Debaryomyces hansenii* ripening flora in controlled production of soft smear cheese from reconstituted milk : protein degradation. *Journal of Dairy Science*, 83, 1674-1683.
- **Lim, T. K. (2013).** *Elettaria cardamomum*. In Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants (pp. 818-827). Springer Netherlands.
- **Loziene K., Venskutonis P.R., Sipailiene A. & Labokas J., 2007.** Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes. *Food Chem.*, 103, 546-559.

M

- **Madhusoodanan, K.J., Pradipkumar, k. and Ravindran, P.N (2002)** Botany, crop improvement and biotechnology of cardamom. In: Ravindran,P.N. and Madhusoodanan, K.J. (eds) cardamom-the Genus Elettaria. Taylor and Francis, London, pp. 11-68.
- **Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S. (2004).** Comparative analysis of the oil and supercritical CO₂ extract of *Elettaria cardamomum* (L.) Maton. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 52, 6278-6282.
- **Mavor, A. L., Thewes,S. and Hube,B.,** Systemie fungalinfections caused by *Candida* species: epidemiology, infections process and virulence attributes. *Curr Drug Targets* 2005.6:863-874.
- **Minor L. et Veron M. (1989).** Bactériologie médicale. 2e édition. Edition Flammarion Médecine-Sciences. Paris. p.312-459.

N

- **Nair, K. P. (2006).** The agronomy and economy of cardamom: the —queen of spices‡. *Advances in agronomy*, 91, 179-471.
- **Noleau, I. and Toulemonde, B. (1987)** Volatile constituents of cardamom (*Elettaria cardamomum*) Maton. Cultivated in Costa Rica. *Flavor and Fragrance journal* 2, pp.123-127.

O

- **Odds, F.C. 1988.** *Candida and candidosis*. Baillière Tindall, London, United Kingdom.
- **O’Hara, M., Keifer, D., Farrel, K and Kemper. K., 1998.** A review of 12 commonly used medicinal herbs. *Archives. Fam. Med.* (7) 523-536.

- **Oke F., Aslim B., Ozturk S., Altundag S., 2009.** Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food. Chem.* 112: 874–879.
- **Onyeagba, R.A., O.C. Ugbo, C.U. Okeke and O. Iroakasi, 2004.** Studies on the antimicrobial effects of garlic (*Allium sativum* Linn), ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and lime (*Citrus aurantifolia* Linn). *Afr. J. Biotechnol.*, 3: 552554.
- **Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 1999.** *Monographs on selected medicinal plants.* Geneva, Switzerland: OMS.

P

- **P. Parize et al.,** « Antifungal Therapy of Aspergillus Invasive Otitis Externa: Efficacy of and Review », *Antimicrob. Agents Chemother.*, décembre 2008.
- **Pibiri, M.C. (2006).** assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles, thèse pour l'obtention du grade de docteur ès sciences. Lausanne, école polytechnique fédérale de Lausanne (EPFL)
- **Pilet, Bourdon J. L, Toma.B, Marchal.M, balbasta. C.** Bactériologie médicale et vétérinaire. Collection: Biologie appliquée. Maison Doin. Editeur, Paris. (1983, 163
- **Poucel C (2012).** Les bactéries pathogènes: épidémiologie et thérapie par les bactériophages. Institut de Génétique et microbiologie d'Orsay.

R

- **Rahal, K., Belouni, R., Benslimani, A., Tali Maamar, H., Missoum, M., Aboun, A., et al. (2005).** Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. *Fascicule recommandations, 3ème Edition.* Alger, Algérie: Ministère de l'agriculture nationale.
- **Rauter A.P., Branco I., Tostao Z., Pais M.S., Gonzalez A.G et Bermejo J.B. 1989.** Flavonoids from *Artemisia campestris* Subsp. *Maritima*. *Phytochemistry.* 28 (8): 2173-2175.
- **Ravindran, P.N. (2002)** Introduction (to cardamom – the genus *Elettaria*). In: Ravindran, P.N. and Madhusoodanan, K.J. (eds) *cardamom-the Genus Elettaria.* Taylor and Francis, London, pp. 1-10.
- **Ravindran.P.N. (2017)** The Encyclopedia of herbs and spices (P.N.Ravindran), pp.215-218.

- **Ravindran, P. N., & Madhusoodanan, K. J. (Eds). (2003).** Cardamom: the genus *Elettaria*. CRC Press.

S

- **Samson RA, Houbraken J, Summerbell RC, Flannigan B, Miller JD (2001).** Common and important species of fungi and actinomycetes in indoor environments. In: *Microorganisms in Home and Indoor Work Environments*. New York: Taylor & Francis. p. 287–292. ISBN.
- **Santos, F.A., Silva, R.M., Tomé, A.R., Rao, V.S., Pompeu, M.M., Teixeira, M.J., De Freitas, L.A. and de Souza, V.L. (2001)** 1,8-cineole protects against liver failure in an *in-vivo* murine model of endo toxic shock. *Journal of pharmacy and pharmacology* 53, 505-511.
- **Sarac, N., & Ugur, A. (2007).** Antimicrobial activities and usage in folkloric medicine of some Lamiaceae species growing in Mugla, Turkey. *EurAsian Journal of BioSciences*, 4, pp. 28-37.
- **Sarkar, P.R. (2011).** Yaogic Treatment and Natural Remedies. V Ed. AMPS Publication, Purulia, West Bengal, p. 105.
- **Sasidharan S, Nilawatyi R, Xavier R, Latha LY, Amala R, 2010.** Wound healing potential of *Elaeisguineensis* Jacq. Leaves in an infected albino rat model. *Molecules* 15:3186-3199.
- **SCHUSTER E., DUNN-COLEMAN N., FRISVAD J C., VAN DIJCK P. W. M., 2002.** On the safety of *Aspergillus niger* – a review. *Appl Microbiol Biotechnol* 59, 426–435.
- **Seidemann, J. (2005).** World spice plants. Springer, pp. 115-253.
- **Sekine, T., Sugano, M., Majid, A., Fujii, Y. (2007).** Antifungal effects of volatile compounds from black zira (*Bunium persicum*) and other spices and herbs. *Journal of chemical ecology*, 33, 2123-2132.
- **Singleton P. (2005).** Bactériologie pour la médecine, et les biotechnologies. 6e édition, Dunod, Paris. p. 327-328.
- **Sengupta, A. and Bhattacharjee, S. (2009)** cardamom (*Elettaria cardamomum*) and its active constituents, 1, 8-cineole. In: Aggarwal, B.B. and Kunnumkara, A.B. (eds) *Molecular Targets and Therapeutic uses of spices*. World Scientific, New Jersey, pp. 65-85.
- **Sengupta, A., Ghosh, S., Bhattacharjee, S. (2005).** Dietary cardamom inhibits the formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in mice and reduces COX-2 and iNOS expression in the colon. *Asian Pac J Cancer Prev*, 6, 118-122.

- **Sereshti, H., Rohanifar, A., Bakhtiari, S., & Samadi, S. (2012).** Bifunctional ultrasound assisted extraction and determination of *Elettaria cardamomum* Maton essential oil. *Journal of Chromatography A*, 1238, 46-53.
- **Sharma, S., Sharma, J., Kaur, G. (2011).** Therapeutic uses of *Elettaria cardomum*. *International Journal of Drug Formulation and Research*, 2, 102-108.
- **Singa, V.B. and Kirt, Singh.(1996)** “*Spices*”, Bangalore: New age International Publishers, pp. 35-51.
- **Suneetha, W.J. and Krishnakantha, T.P. (2005)** cardamom extract as inhibitor of human platelet aggregation. *Phytotherapy research* 19, 437- 440.

T

- **Teuscher E., Anton R. et Lobstein A. 2005.** Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc éditions, Paris.

V

- **VAUBOURDOLLE M., 2007.** Infectiologie. 3e Ed, LE MONITEUR INTERNAT, Paris. P 436.

W

- **Waldvogel FA (2004).** Infection diseases in the 21 st century: Old challenges and new opportunities. *Int J Infect Dis* 8, 5-12.

Y

- **Yen Tan, T., & Siew Yong Ng, L. (2006).** Comparison of three standardized disc susceptibility testing methods for colistin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* , 58, pp. 864–867.

Z

- **Zacharia, T.J.(2002)** chemistry of cardamom. In: Ravindran, P.N. and Madhusoodanan, K.J.(eds) cardamom-the Genus *Elettaria*. Taylor and Francis, London, pp 69-90.
- **Zachariah, T.J. and Lukose, R. (1992)** Aroma profile of selected germplasm accession in cardamom (*Elettaria cardamomum* Maton). *Journal of Plantation Crops* 20(suppl.), 310-312.
- **Zalta, Brygoo, Dassa, Devauchelle, Grimont, Pernodet, Simonet (2000).** P 21-26.

Annexes

Annexes

Tableau 5 : Composition de bouillon nutritif (g/l)

Peptone	10g
Extrait de viande	05g
Chlorure de sodium	05g
Eau distillée	1000

Tableau 6 : Composition de Mueller Hinton (g/l)

Extrait de viande	3g
Hydrolysate acide de caséine	17.5g
Amidon	1.5g
Agar (manque dans le bouillon)	16g
Eau distillée	1000ml

Résumé

La présente étude s'est proposée de tester l'activité antimicrobienne d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC) sur une série de souches microbiennes ; bactéries pathogènes de gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Bacillus cereus* ATCC 10876 et *Bacillus subtilis* ATCC 6633) et de gram négatif (*Shigella sonnei* CECT 584, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922), *Candida albicans* ATCC 10231 et *Aspergillus niger* ATCC 106406.

Dans notre étude, l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC) obtenu par macération froide avec l'éthanol suivant un protocole bien établi, a servi à l'étude l'activité antimicrobienne. Son activité antimicrobienne a été évaluée en faisant appel à la méthode de diffusion par disques et de micro-dilution à l'aide de microplaques.

Les résultats obtenus ont mis en évidence des zones d'inhibition de diamètres dépassant 30 mm, pour *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa* concernant la concentration 50 % d'extrait d'EEC ; en suggérant une forte sensibilité de ces bactéries. La concentration 12.5 % d'extrait d'EEC est active et a un pouvoir inhibiteur sur le *Candida albicans* et *Aspergillus niger*, très faible sur *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* et presque nulle sur le *Escherichia coli*.

Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) ont montré des valeurs variant de 40 à 10 mg/mL d'extrait d'EEC sur les souches pathogènes. L'extrait d'EEC possède une large action et un effet efficient sur *Staphylococcus aureus* et *Shigella* (CMI : 10 mg/mL d'extrait d'EEC), comparativement aux autres souches microbiennes.

En revanche, une CMI d'extrait d'EEC de 40 mg/mL d'EEC a été enregistrée vis-à-vis *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa*. Par ailleurs, nous avons constaté que l'extrait d'*Elettaria cardamomum* étudié possède un effet antibactérien et antifongique contre les germes pathogènes utilisés dans la présente étude.

Mots clés : *Elettaria cardamomum*, bactéries pathogènes, activité antimicrobienne, pouvoir inhibiteur, concentration minimale inhibitrice (CMI).

Abstract

The present study proposed to test the antimicrobial activity of ethanol extract of *Elettaria cardamomum* (EEC) on a series of microbial strains; pathogenic gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Bacillus cereus* ATCC 10876 and *Bacillus subtilis* ATCC 6633) and gram-negative (*Shigella sonnei* CECT 584, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Escherichia coli* ATCC 25922), *Candida albicans* ATCC 10231 and *Aspergillus niger* ATCC 106406.

In our study, the ethanolic extract of *Elettaria cardamomum* (EEC) obtained by cold maceration with ethanol following a well established protocol was used to study antimicrobial activity. Its antimicrobial activity was evaluated using the disk diffusion and micro-dilution method using microplates.

The results obtained revealed zones of inhibition of diameters exceeding 30 mm, for *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa* concerning the 50% concentration of EEC extract; suggesting a high sensitivity of these bacteria. The 12.5% concentration of EEC extract is active and has an inhibitory effect on *Candida albicans* and *Aspergillus niger*, very weak on *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* and almost none on *Escherichia coli*. Minimal Inhibitory Concentrations (MIC) showed values ranging from 40 to 10 mg / mL EEC extract on pathogenic strains. The EEC extract has a broad and effective effect on *Staphylococcus aureus* and *Shigella sonnei* (MIC: 10 mg / mL EEC extract) compared to other microbial strains.

In contrast, a MIC of EEC extract of 40 mg / mL EEC was recorded against *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa*. Moreover, we have found that the *Elettaria cardamomum* extract studied has an antibacterial and antifungal effect against the pathogenic germs used in the present study.

Key words: *Elettaria cardamomum*, pathogenic bacteria, antimicrobial activity, inhibitory potency, minimal inhibitory concentration (MIC).