



République algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
Universitaire Dr. MOULAY TAHER -Saida-
Faculté des sciences
Département de Biologie



Mémoire pour l'obtention du diplôme

Master en Biologie

Spécialité : biologie

Option : biotechnologie végétale

THEME

Contribution a l'évaluation de l'activité antimicrobienne de
L'extrait éthanolique de *salvia argentea* sur quelques
Souches bactériennes et fongiques

Présenté par : *Melle. Chikhaoui Amina*

Melle .Chami Wafa

Soutenue publiquement le : 27/06/2016

Devant le Jury :

Président : Mr.Bourouaha.M.

Promoteur : Mme.Hachem Y.

Examinatrice : Melle. Chikhi A.

Année universitaire 2015-2016

Remerciements

Nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir donné le

courage et la patience pour réaliser ce modeste travail

***Nous remercions l'ensemble des membres du jury pour l'intérêt
qu'ils ont bien voulu porter à ce travail, et plus particulièrement
notre encadreur, Mme HACHEM***

Melle CHIKHI d'avoir examiné notre travail.

Mr BOUROUAHA pour avoir accepté de présider le jury.

***Nous agréable d'exprimer nôtre remerciement à tout nôtre ami
qui nous a aide pour le bon achèvement de ce travail***

RACHIDA et AHMED

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

A Mes Parents.

A mes frères (Soufiane, Radwane, Marwane, Amine).

A mes sœurs (Djihane, Nesrine).

A toute ma famille.

A toutes mes amies (Amina, Rachida, souhila, Zahra).

Wafa

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

A mes parents

A mes frères et mes sœurs

A ma famille,

A mes ami(e)s

Amina

Table de matières

Remerciements

Dédicace

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Liste des abréviations

Introduction Général..... 02

Chapitre I : Etude bibliographiques

Partie I : Généralité sur La plante étudiée

I.1-Introduction	06
I.2-La famille des Lamiaceae.....	06
I.2.1-Présentation botanique.....	06
I.2.2- Le genre salvia.....	07
I.2.3- Sauge argentée (Salvia argentea).....	08
a)Feuille.....	09
b) Fleur et Fruit.....	09
I.3- Classification	10
I.4- Propriétés médicinales.....	11
I.5- Place et distribution dans le monde.....	11

Partie II : Les procédés extraction des substances naturelles

II.1 Introduction	14
II.2 Le métabolisme secondaire	14
II.3 -L'extraction.....	14
II.3.1-Infusion.....	15
II.3.2-Décoction.....	15
II.3.3-Macération.....	15

II.4- Huile essentielle.....	15
II.4.1-Localisation des HE dans les tissus de la plante	15
II.4.2- Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	16
II.5- Méthodes d'extraction.....	16
II.5.1-L'hydrodistillation.....	17

Partie III : les souches bactériennes et fongiques

III.1 Introduction.....	19
III.2- L'activité antibactérienne.....	19
III.2.1- Morphologie et structure des bactéries.....	19
III.2.1.1- Bactérie gram positive	20
III.2.1.1.1- Staphylococcus aureus.....	20
III.2.1.1.2-Listeria monocytogenes	21
III.2.1.1.3- Bacillus subtilis.....	22
III.2.1.1.4- Bacills cereus.....	23
III.2.1.1.6-Enterococcus facéalis.....	23
III.2.1.2- Bactérie Gram négatif	24
III.2.1.2.1- Pasteurella multocida.....	24
III.2.1.2.2-Escherichia coli.....	25
III.2.1.2.3- Citrobacter freundii.....	26
III.2.1.2.4-. Campylobacter fetus.....	26
III.2.1.2.5-Salmonella (typimurium,enteric).....	27
III.2.1.2.6- Enterobacter cloacae	27
III.2.1.2.7-Pseudomonas aeruginosa.....	28
III-3) Activité antifongique.....	28

III.3.1-Les levures	28
III.3.1.1-Candida albicans.....	29
III.4-Les antibiotiques.....	30
III.4.1-Modes d'action des antibiotiques.....	30

Chapitre II :

Matériel et Méthodes

I.1-Objectif.....	32
I.2-Matériel biologique utilisé.....	32
I.2.1- Matériel végétal.....	32
I.2.2-Matériel microbien.....	33
I.2.2.1-Les souches bactériennes.....	33
I.2.2.2-les Souches fongiques.....	34
I.2.3-Matériel de laboratoire.....	34
I.2.3.1-Matériel.....	34
I.2.3.2- Produit et milieux utilisés.....	34
I.3- Méthode.....	35
I.3.1-Préparation d'extrait éthanolique de <i>salvia argentea</i>	35
I.3.1.1-Extraction par le solvant.....	35
I.3.1.2- Détermination du rendement d'extrait.....	36
I.4-Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	36
I.4.1 -Préparation des solutions d'HE du citron	36
I.4.2-Préparation des solutions d'extrait éthanolique.....	36
a-Pour les bactéries.....	36
b-Pour les levures.....	37
I.4.2-Préparation de l'inoculum.....	37

I.5 -Test antibactérienne et antifongique.....	38
I.5.1-Test d'antibiogramme (méthode des disques).....	38
I.5.1.1—Lecture.....	38
I.5.2-Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la méthode de micro-dilution sur milieu liquide.....	39
I.5.2.1- Activité antibactérienne d'HE du citron.....	39
I.5.2.2- Activité antibactérienne d'extrait éthanolique de <i>salvia argentea</i>	40
I.5.2.3-Activité antifongique d'extrait éthanolique de <i>salvia argentea</i>	42
I.5.3-Détermination des concentrations minimales bactéricides ou bactériostatiques (CMB) et fongicides ou fongistatiques (CMF).....	43
I.5.3.1- Détermination des concentrations minimales bactéricides ou bactériostatiques (CMB).....	43
I.5.3.2- . Détermination des concentrations minimales fongicides ou fongistatiques (CMF).....	44

Chapitre III :

résultat et discussion

I.1-Calcul Le rendement d'extrait.....	46
I.2- Evaluation de l'activité antibactérienne par la technique de micro-dilution sur milieu liquide d'HE du citron	46
I.3- Evaluation du pouvoir antibactérien d'extrait ETOH de <i>salvia argentea</i>	46
I.3.1 Evaluation de l'activité antibactérienne par la technique de micro-dilution sur milieu liquide.....	47
I.3.2- Evaluation de l'activité antibactérienne par la technique de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme).....	49
I.4- Evaluation du pouvoir antifongique d'extrait ETOH de <i>salvia argentea</i>	54

I.4.1- Evaluation de l'activité antifongique par la technique de micro-dilution sur milieu liquide	54
I.4.2- Evaluation de l'activité antifongique par la technique de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme).....	55
Conclusion.....	58
Références bibliographiques.....	60
Annexes.....	64
Résumé : en français	
en anglais	
en arabe	

Listes des figures

Figure N°01	<i>salvia argentea</i>	08
Figure N°02	feuilles de <i>salvia argentea</i>	08
Figure N°03	Fleur et fruit de <i>salvia argentea</i>	09
Figure N°04	<i>salvia argentea</i>	10
Figure N°05	Distribution des espèces de <i>Salvia</i> d'Afrique du Nord et le secteur circum-Méditerranéen. (www.ncbi.nlm.nih.org).....	12
Figure N°06	Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation (Lucchesi, 2005)..	16
Figure N°07	la morphologie de bactérie.....	20
Figure N°08	<i>Staphylococcus aureus</i> vus en microscopie électronique à balayage. (www.Wikimedia.com).....	21
Figure N°09	Images de la microscopie électronique de <i>Listeria monocytogenes</i> x6400(www.Wikimedia.com).....	22
Figure N°10	<i>Bacillus subtilis</i>	23
Figure N°11	<i>Bacills cereurs</i> (www.ncbi.nlm.nih.org).....	23
Figure N°12	<i>Pasteurella multocida</i> (www.ncbi.nlm.nih.org).....	25
Figure N°13	<i>Escherichia coli</i> vue en microscope électronique. (http://en.wikipedia.org/wiki/Image:EscherichiaColi_NIAID.jpg).....	25
Figure N°14	<i>Campylobacter fetus</i>	26
Figure N°15	<i>Citrobacter freundii</i> (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/).....	27
Figure N°16	Biofilms de <i>Candida albicans</i> au microscope électronique grossissement 500X (sante- medecine.commentcamarche.net).....	29
Figure N°17	Carte géographique montre les régions de récolte des échantillons de <i>salvia argentea</i> dans la wilaya de Saida	32
Figure N°18	Principale étapes de macération de <i>salvia argentea</i>	35
Figure N°19	photo de dilution de l'extrait éthanolique de <i>salvia argentea</i>	37
Figure N°20	la méthode des micro-dilutions sur milieu liquide d'HE du citron sur Les souches bactériennes.....	39
Figure N°21	la méthode des micro-dilutions sur milieu liquide d'extrait éthanolique (S.a) sur les souches bactériennes.....	41
Figure N°22	la méthode des micro-dilutions sur milieu liquide d'extrait éthanolique (S.a) sur les souches fongiques.....	43

Figure N^o 23	Résultat des CMI et CMB d'extrait éthanolique de <i>salvia argentea</i> vis-à-vis des souches bactériennes.....	48
Figure N^o 24	les zones d'inhibition d'extrait éthanolique et antibiotique des souches bactériennes	50
Figure N^o 25	Résultat des CMI et CMF de l'extrait éthanolique de <i>salvia argentea</i> vis-à-vis des souches fongiques.....	54
Figure N^o 26	les zones d'inhibition d'extrait éthanolique et antifongique des souches fongiques	56

Liste des tableaux

Tableau n° 1	Les différentes souches utilisées pour évaluer l'activité bactérienne....	32
Tableau n° 2	Les différentes souches utilisées pour évaluer l'activité fongique.....	34
Tableau n° 3	les concentrations de CMI : concentration minimale inhibitrice, CMB concentration minimale bactéricide.....	49
Tableau n° 4	Diamètres d'inhibition d'extrait éthanolique de <i>salvia argentea</i> pour les souches bactériennes.....	48
Tableau n° 5	les concentrations de CMI : concentration minimale inhibitrice, CMF concentration minimale fongicide.....	55
Tableau n° 6	Diamètres d'inhibition d'extrait éthanolique de <i>salvia argentea</i> pour les souches fongiques.....	56

Liste des abréviations

%	pourcentage
ATB	antibiotique
ATF	antifongique
B.cereus	Bacillus cereus
BMH	Bouillon Muëller Hinton
C. albicans	Candida albicans
C. fetus	Campylobacter fetus
C. freundii	Citrobacter freundii
CMB	Concentration minimale bactéricide ou bactériostatique
CMF	Concentration minimale fongicide ou fongistatique
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
DMSO	Diméthylsulfoxyde
E E	extrait éthanolique
E. cloacae	Enterobacter cloacae
E. facéalis	Enterococcus facéalis
E.coli	Escherichia coli
ETOH	éthanol
g	gramme
GMH	gélose de Mueller-Hinton
GN	Gélose nutritif
GS	gélose sabouraud
h	heur
HE	Huile essentielle
L. monocytogenes	Listeria monocytogenes
mg	Milligramme
ml	milli Litre
mm	millimètre
NaCl	Chlorure de sodium
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
P.multocida	Pasteurella multocida
S. a	Salvia argentea
S. aureus	Staphylococcus aureus
S. enterica	Salmonella enterica
S. typhimurium	Salmonella typhimurium
µl	microlitre

Introduction Générale

L'utilisation des plantes aromatiques par l'homme est une pratique antique (**Majinda et al. 2001**). De nos jours la majorité des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses plantes, compte tenu de leurs propriétés aromatiques, comme source d'assaisonnement ou comme remède en médecine traditionnelle. Cependant, cette utilisation ne se base sur aucun critère scientifique, elle tient compte simplement des observations au cours des siècles.

En Afrique, en Asie et en Amérique latine, nombreux sont les pays qui font appel à la médecine traditionnelle pour répondre à certains de leurs besoins au niveau des soins de santé primaire. En Afrique, jusqu'à 80% de la population a recours à la médecine traditionnelle pour se soigner.

« Quand elle n'est pas un choix, la phytothérapie est donc une nécessité. »

C'est en 2002 que l'Organisation Mondiale de la Santé a mis en place sa première stratégie globale en matière de médecine traditionnelle. Cette stratégie a pour but :

- d'aider les pays à élaborer des politiques nationales d'évaluation et de réglementation des pratiques de la médecine traditionnelle,
- d'encourager l'utilisation de produits traditionnels dont l'innocuité, l'efficacité et la qualité auront été rigoureusement contrôlées,
- de veiller à ce que le recours aux médicaments essentiels à base de plantes soit disponible et abordable,
- de promouvoir l'usage thérapeutique judicieux de la médecine traditionnelle.
- de rassembler de la documentation sur les médicaments et remèdes traditionnels.

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Chacune de ces plantes peut contenir des centaines voire des milliers de métabolites secondaires, ou de principes actifs qui peuvent produire différentes actions physiologiques sur le corps humain (**Edeoga et al. 2005**).

Ces plantes utilisent différents moyens pour se défendre des agressions de leur environnement que constituent les herbivores, les insectes, « les bactéries », les moisissures,...etc. Certains de ces moyens de défense font appel à des composés chimiques qui interagissent avec le métabolisme de l'attaquant; étant alors intoxiqué et affecté, ce dernier pourrait être découragé de poursuivre son attaque. Certains de ces composés ont aussi un effet pharmacologique chez l'humain et peuvent donc servir de remèdes, tout dépendant de la dose utilisée.

Problématique :

Selon l'OMS, il y aurait chaque jour un million d'infections qui se produisent dans les hôpitaux du monde. Plusieurs bactéries sont responsables de ce phénomène dont entre autres : les *Streptocoques*, par exemple *Streptococcus pyogenes*, les *staphylocoques*, par exemple *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile*, *Escherichia coli* et plusieurs autres.

Le phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques est dû en grande partie à la prescription massive d'antibiotiques par les médecins, leur mauvaise administration et leur usage non-médical. Également, l'utilisation des antibiotiques en agriculture comme promoteurs de la croissance et dans la prévention des infections est suspectée de contribuer au développement de souches résistantes non seulement chez les animaux, mais aussi chez les populations humaines. Fait intéressant, aux États-Unis, plus de 50% des antibiotiques produits sont utilisés en agriculture et la situation est sensiblement la même à travers le monde.

Le phénomène de résistance aux antibiotiques se développe donc très rapidement et a pour conséquence de complexifier d'année en année la lutte aux infections microbiennes.

La problématique de la résistance aux antibiotiques rappelle cependant qu'il est important de trouver de nouvelles molécules possédant une activité antibactérienne qui agissent sur des cibles cellulaires différentes de celles visées par les antibiotiques actuellement utilisés. Les plantes peuvent être une source intéressante de nouveaux composés antibiotiques permettant de faire face à ce problème mondial majeur, comme *salvia argentea* est une plante bisannuelle. Elle est répandue en Afrique du nord et en Europe méridionale. L'espèce se caractérise par ses fleurs de coloration jaunâtres et aussi par ses inflorescences terminées par les bractées et par leurs grandes feuilles velues crénelées-dentées, étalées en rosette.

Objectifs du projet de recherche :

Le principal objectif de ce projet de recherche est d'étudier l'effet de l'extrait éthanolique d'espèce de « *salvia argentea* » sur quelques souches bactériennes et fongiques. Pour atteindre cet objectif, deux objectifs spécifiques devaient être réalisés :

- 1) Préparer d'extrait éthanolique à partir des feuilles de « *salvia argentea* ».
- 2) Évaluer l'activité antibactérienne et antifongique d'extraits sur des souches bactériennes et fongiques.

Étude
Bibliographique

Partie I
Généralité sur
La plante étudiée

I.1-Introduction

A l'heure actuelle, les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments. **(Maurice, 1997).**

Les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques. L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal se trouve « *salvia argentea* » la famille de lamiacées, cette espèce est utilisée en médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique **(Mirjalili et al, 2007).**

Le genre *salvia*, de la famille des labiées ou lamiacées, font partie de la gamme variée des plantes médicinales et aromatiques spontanées caractérisant la flore Algérienne. Le genre en question compte, à lui seul, plus de 900 espèces, **(BEKTAS et al. 2005 ; KIVRAK et al; 2009).**

I.2-La famille des Lamiacée

I.2.1-Présentation botanique

La famille des lamiacées (lamiaceae ou labiateae) est une famille botanique très large. La majorité de ces espèces ont une grande importance, vu leurs valeurs économiques **(DUARTE et LOPEZ, 2007).** Elle comporte environ 264 genres et 6990 espèces **(GURCHAN, 2004)** d'herbes parfois arbre ou arbustes, annuelles ou pluriannuelles, habituellement aromatiques à tiges quadrangulaires. Les feuilles opposées, rarement verticillées ou alternées, simples à pennées ou composées, sans stipules **(LITSI et al. 1994).**

La plante est couverte de poils glanduleux renfermant une huile essentielle. Le calice persistant à 5 divisions (rarement 3 à 12), est soit régulier, soit disposé en 2 lèvres.

La corolle est constituée de pétales soudés entre eux qui forment 2 lèvres :

- La lèvre supérieure est entière ou échancrée.
- La lèvre inférieure comporte 3 lobes (rarement 5).

Les étamines au nombre de 4 (rarement 2), dont les 2 plus grandes sont soudées à la corolle possèdent des anthères à 2 loges (rarement 1). Celles-ci s'ouvrent dans la largeur (rarement par une fente en arc).

L'ovaire à 2 carpelles divisés en 2 parties, d'où semble sortir le style. Celui-ci se termine par un stigmate divisé en 2 parties.

Le fruit est un tétrakène,

Ces caractères ainsi définis pour la famille des Lamiacées, présentent des variations en fonction des différents genres. Ces genres sont classés suivant des détails anatomiques communs.

I.2.2) Le genre *salvia*

Salvia L. est le plus grand membre de Lamiacées avec plus de 900 espèces.

Le nom vernaculaire « sauge » est attribué aux différentes espèces aromatiques du genre *Salvia* (**KAROUSOU et al. 2000**). Le nom scientifique de la sauge indique clairement l'importance de son rôle en phytothérapie : *Salvia* vient de « salvare » qui, en latin, signifie « sauver »

(**BARAN, 2010 ; ULUBELEN, 2000 ; BARICEVIC et al; 2000 NICOLETTE et al. 2000 ; STANLEY et al., 2000**). Ce nom est corrompu populairement en « sauja » et « sauge » en français et « sawge » en ancien anglais, devenu actuellement « sage », en référence à ces propriétés médicinales, connues depuis les anciennes civilisations (**ANTHONY,2000**).

Eléments communs à tous les *salvia* :

Origine géographique : cosmopolite - zones tropicales - zones tempérées.

Milieu naturel : landes - pentes rocheuses - lieux ensoleillés – prairies.

Le feuillage : persistant – caduc.

Résistance au froid : variable.

Richesse du sol : assez riche – humifère.

Texture du sol : bien draine – léger.

Besoin en eau : frais - craint humidité hivernale.

Port de la plante : dresse.

Intérêt : plante aromatique - abeilles - culinaire - officinal – aromatique.

Risques de maladie : pourriture des racines – fonte.

Ennemis ou ravageurs : puceron - limace - escargot - araignée rouge – aleurode.

I.2.3- Saugue argentée (*Salvia argentea*) :

Salvia argentea est une plante herbacée, annuelle, ou bisannuelle de la famille des Lamiacées. Originale d'Afrique du Nord, elle s'adapte bien à un climat tempéré.

Cette saugue est cultivée pour ses feuilles laineuses grises argentées géantes. Les transitoires des fleurs blanches argentées sont attrayantes. Cette saugue fait mieux dans des secteurs secs et ensoleillés avec l'excellent drainage.



Figure 01 : *salvia argentea* (http://wimastergardener.org/?q=Salvia_argentea)

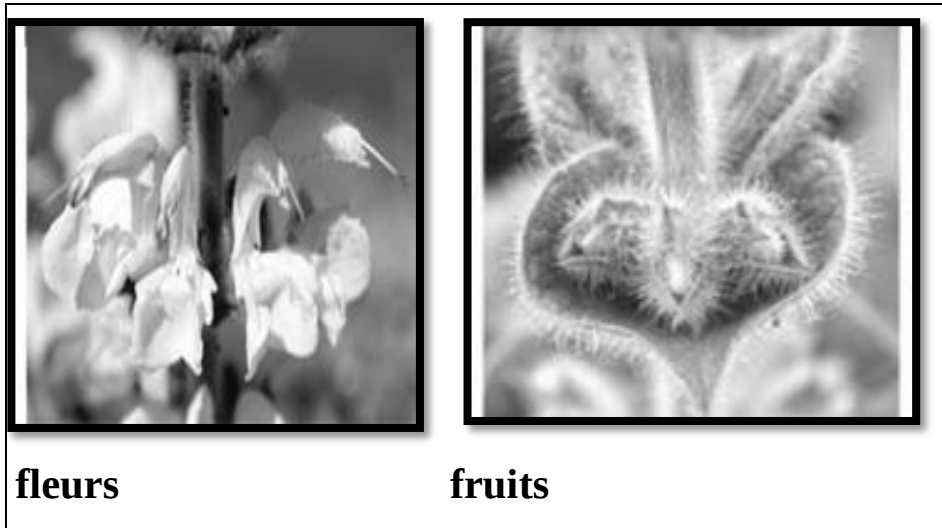
Salvia argentea à une grande feuille 1m de large et 30-60 cm de haut. Les feuilles individuelles sont de 20-30 cm de long et 15 cm large. Deux faces des feuilles sont fortement couvertes de poils soyeux qui lui donnent un aspect laineux. Les feuilles sont douces au toucher, d'abord en train de devenir un blanc argenté distinctif et puis se tournant vers greygreen après la floraison. Le temps frais à l'automne tourne à nouveau la feuille argentée (Clebsch & Barner2003).

a)Feuille :



Figure 02 : feuilles de *salvia argentea* (http://wimastergardener.org/?q=Salvia_argentea)

B) Fleur et Fruit :



fleurs

fruits

Figure 03 : fleur et fruits de *salvia argentea* (http://wimastergardener.org/?q=Salvia_argentea)

Les fleurs, blanches, sont verticillées le long de tiges d'environ 50 cm de haut.

Couleur dominante des fleurs : blanc.

Période de floraison : juin-juillet.

Inflorescence : glomérules spiciformes.

Sexualité : gynodioïque.

Ordre de maturation : protandre.

Pollinisation : entomogame.

Fruit : akène.

I.3- Classification :

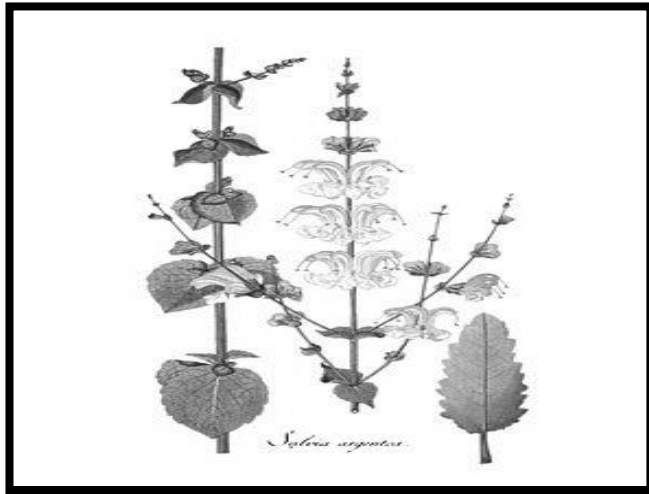


Figure 04 : *salvia argentea* (https://fr.wikipedia.org/wiki/Salvia_argentea)

Règne : plantes.

Sous règne : plantes vasculaires.

Embranchement : Phanérogames.

Sous embranchement : angiospermes.

Classe : Magnoliopsida.

Sous classe : astéride.

Division : Magnoliophyta.

Ordre : Lamiales (labiales).

Famille : Lamiaceae.

Genre : Salvia.

Espèce : *Salvia argentea*.

Nom communs : فراش الندى

Nom binominal : *Salvia argentea*.

I.4-Propriétés médicinales :

Antiseptique, antispasmodique, bactéricide, calmante, céphalique coronarienne, digestive énergétiquet, diurétique léger, laxative, fluidifiant sanguin, stimule la mémoire.

I.5- Place et distribution dans le monde :

Salvia argentea L., est une plante vivace originaire de Méditerranée région, en Afrique du nord, l'Europe du Sud et l'extrême ouest de l'Asie.

Ça arrive principalement sur les prairies caillouteuses à flanc de colline, le basalte, les sols volcaniques et de falaises rocheuses. Habituellement, on ne trouve très près de la mer ou de l'océan, ou à basse altitude, mais il a souvent été trouvé sur hautes terres non loin de la mer.

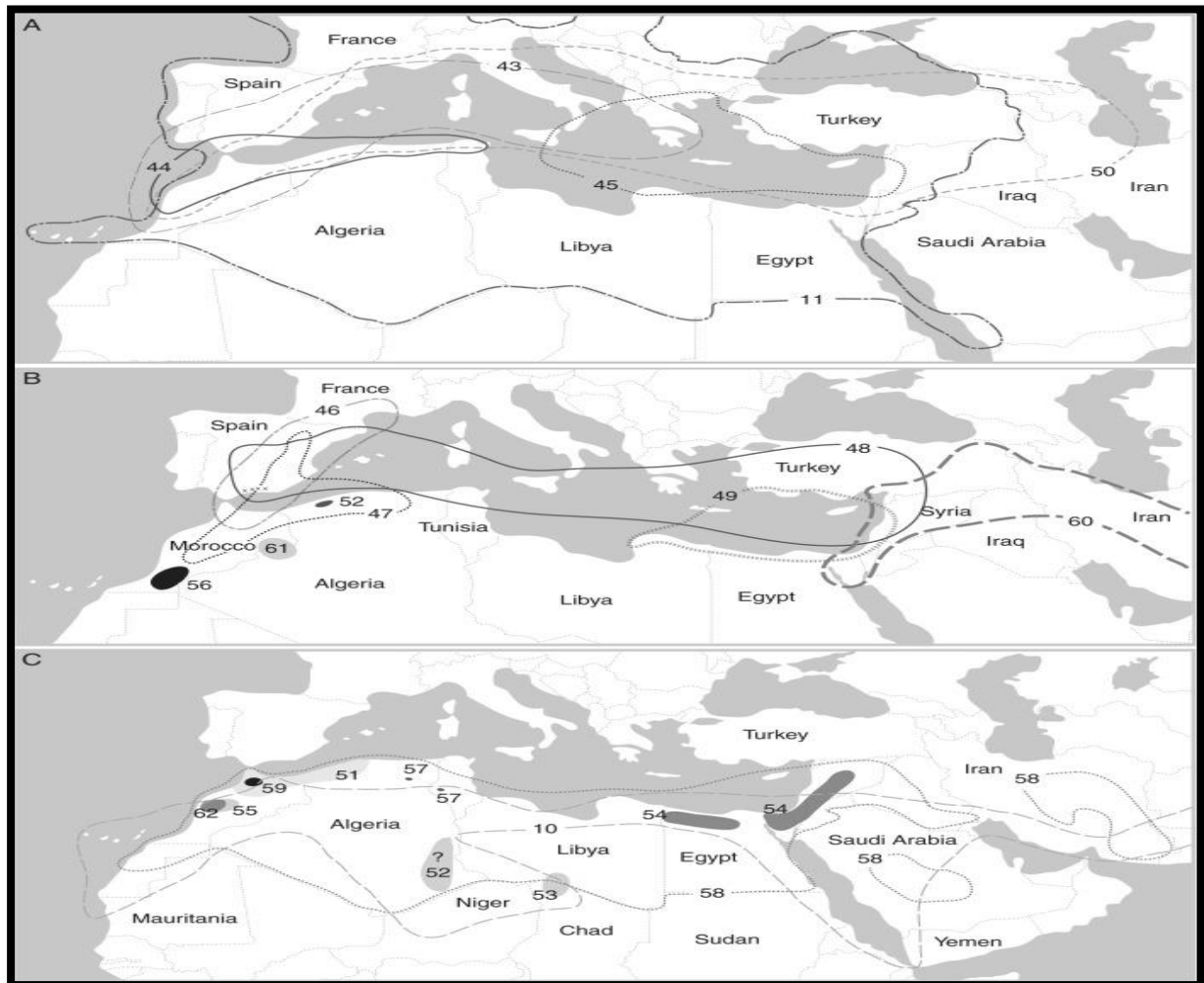


Figure 05 : Distribution des espèces de *Salvia* d'Afrique du Nord et le secteur circum-Méditerranéen (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

(A–C) (10) *S. aegyptiaca*; (11) *S. verbenaca*; (43) *S. argentea*; (44) *S. barrelieri*; (45) *S. fruticosa*; (46) *S. lavandulifolia*; (47) *S. phlomoides*; (48) *S. sclarea*; (49) *S. spinosa*; (50) *S. viridis*; (51) *S. algeriensis*; (52) *S. balansae*; (53) *S. chudaei*; (54) *S. dominica*; (55) *S. gattefossei*; (56) *S. interrupta*; (57) *S. jaminiana*; (58) *S. lanigera*; (59) *S. mouretii*; (60) *S. palaestina*; (61) *S. pseudojaminiana*; (62) *S. taraxacifolia*. **Based on Hedge (1974)**; la distribution du *S. sclarea* sur la péninsule ibérique est basée dessus **Rosúa et Blanca (1986)** Noter la distribution de recouvrement des *S. phlomoides*. (47) et du *S. Candélabre* Rosúa et Blanca (1986).

Partie II :

Les procédés extraction
des substances naturelle

II.1 Introduction :

Chaque espèce végétale élabore des métabolites dites «secondaires » qui interviennent dans divers processus propres à la plante. Parmi ces composés naturels, les huiles essentielles (HE) qui trouvent des emplois dans différents secteurs notamment en pharmacologie, parfumerie cosmétologie, industrie agroalimentaire et d'autre (**Iserine, 2001**).

II.2 Le métabolisme secondaire :

Chez les végétaux, ces composés secondaires regroupent plusieurs dizaines de milliers de molécules différentes, généralement rassemblés en superfamilles chimiques tel que les polyphénols, les terpènes et stérols, les alcaloïdes, les polycétides, etc. leurs fonctions exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement. Ils assurent des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores, etc.) et abiotiques (température, etc.). Sur le plan agronomique, le rôle de ces composés dans la protection des cultures est connu (résistance aux maladies cryptogamiques, aux infections bactériennes, à certains insectes).

II.3 -L'Extraction :

L'extraction veut dire la séparation des parties actives de tissus végétaux. Des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impures sous forme de liquides, semi-solides ou poudres exclusivement destinés à un usage oral ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales (**Handa, 2008**).

D'autres techniques traditionnelles étaient aussi utilisées pour la récupération des principes liposolubles et aromatiques (**Benzeggouta, 2005**). La présence d'un composé ou d'un autre dépend de sa solubilité dans le solvant utilisé, la température et la durée d'extraction et la fragmentation de la plante (**Goetz, 2004**).

Les procède d'extraction

Infusion, décoction ou macération, est un procédé d'extraction de constituants actifs des plantes médicinales.

II.3.1-Infusion :

Une infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale, en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minutes (**Sofowora, 2010**).

II.3.2-Décoction :

Les plantes sont versées dans l'eau froide et portées à ébullition un temps plus ou moins long deux ou trois minutes pour les feuilles, les tiges et les fruits ; cinq minutes ou plus pour les écorces et les racines (**Pierre et Lis, 2007**).

II.3.3-Macération :

Le liquide de macération peut être de l'eau, de l'alcool ou du vinaigre.

Dans le cas de la macération à l'eau, les plantes doivent être versées dans le liquide froid ou tiède pendant quelques heures (10 ou 12 heures) (**Pierre et Lis, 2007**).

Les macérations à l'eau ne doivent pas dépasser une douzaine heures par risque d'oxydation et de fermentation du liquide (**Pierre et Lis, 2007**).

Pour l'alcool, le vinaigre, huiles, cette macération peut se prolonger plusieurs jours sans inconvénients (**Pierre et Lis, 2007**).

II.4- Huile essentielle :

Une huile essentielle (HE) est un extrait de végétaux aromatique et hautement volatiles marqués par une forte odeur. C'est un produit de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie.

Se sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages. Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes.

II.4.1-Localisation des HE dans les tissus de la plante :

Les huiles essentielles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante aromatiques.

- Les fleurs (oranger, rose, lavande; le bouton floral (girofle)...etc)
- Les feuilles (eucalyptus, menthe, thym, Laurier, sauge, aiguilles de pin, sapin...etc)

Les organes souterrains, (racines (vétiver), rhizomes (gingembre, acore).....etc)

- Les fruits, (fenouil, anis, épicarpes des Citrus...etc)
- Les graines, (noix de muscade, coriandre....etc)
- Le bois et les écorces, (cannelle, santal, bois de rose.....etc).

II.4.2- Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :

L'huile obtenue possède certaines caractéristiques physico-chimiques qu'il est possible de mesurer au laboratoire à l'aide de techniques simples ou d'appareillages plus complexes.

- Les huiles essentielles sont incolores ou jaune pâle à l'état liquide et à température ordinaire.
- Toutes les huiles essentielles sont volatiles et odorantes. Leur densité est le plus souvent inférieure à un (1); à l'exception de quelques cas.
- Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les huiles végétales dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques. Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation.

II.5- Méthodes d'extraction d'huile essentielles :

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction de essences végétales. En général le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ...), de la nature des composés (par exemple, les l'huile essentielles, huiles lourdes....). Le rendement en huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées ; Les principales méthodes d'extraction sont :

1. Distillation à vapeur saturée.
2. Entraînement à la vapeur d'eau.
3. Hydro diffusion.
4. Expression à froid.
5. Extraction par solvants.
6. Hydro distillation.
7. Extraction par les corps gras.
8. Extraction par micro- ondes.
- 9-L'extraction par le dioxyde de carbone(CO₂)

II.5.1-L'hydrodistillation :

Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition.

La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange azéotrope « eau + huile essentielle » distille à une température égale 100 °C à pression atmosphérique. Il est ensuite refroidi et condensé dans un essencier ou vase florentin. Une fois condensées, eau et molécules aromatiques du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse et une phase organique : "l'huile essentielle" (Lucchesi, 2005).

La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait.

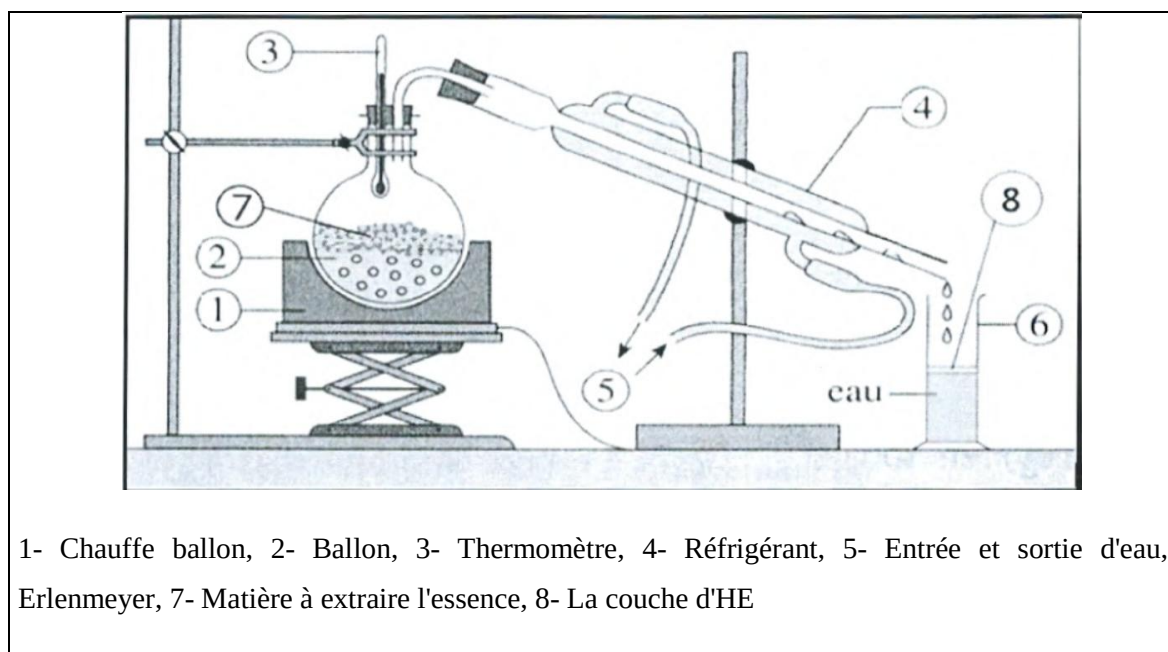


Figure6 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation (Lucchesi, 2005).

Partie III

***Les souches bactériennes
et fongiques***

II.1-Introduction

Les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées depuis longtemps dans la lutte contre les maladies infectieuses.

La méthode de lutte biologique par utilisation de micro-organisme, de prédateurs, de parasitoïdes et de substances naturelles d'origine végétale, les industries agrochimiques orientent de plus en plus leur effort vers l'étude produite naturels (**Sarnimancho et Cheynier, 2006**)

III.2- L'activité antibactérienne :

La première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par **Delacroix**. Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes. Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre. Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positives que sur les bactéries à Gram négatives (**Guinoiseau, 2010**).

III.2.1- Morphologie et structure des bactéries :

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires).

On distingue aussi les bactéries proprement dites (*Bacteria*) des bactéries primitives (*Archaea*). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux *Bacteria*. Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1mm. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique.

Les bactéries mesurent entre 0,5 et 10-15 μm . Ce sont des organismes procaryotes qui ne possèdent pas de noyau, mais un ADN chromosomique circulaire situé dans le cytoplasme.

De nombreuses bactéries contiennent une autre structure d'ADN extra-chromosomique, appelée plasmide. Elles sont entourées d'une paroi complexe et possèdent souvent des flagelles

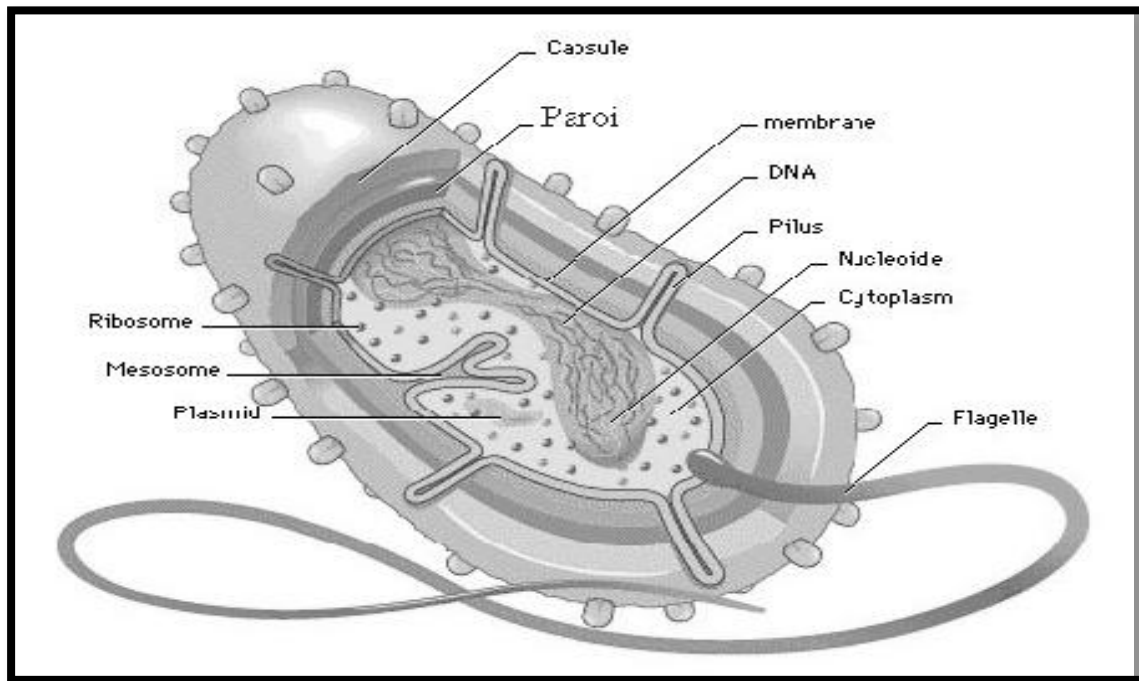


Figure0 7 : la morphologie de bactérie (<https://fr.wikipedia.org>)

III.2.1.1- Bactérie gram positive :

Les bactéries Gram positif protègent leur membrane avec une paroi épaisse, le composant majeur de la paroi est polymère complexe de sucres et d'acides aminés, appel muréine ou peptidoglycane .la muréine est un composant essentiel qui donne à la bactérie sa forme et sa rigidité que ce soit chez les bactéries Gram positif ou chez la bactérie Gram négatif. (**ESCOTT HARLEIN, KLEIN, 2006**).

III.2.1.1.1- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 :

Les staphylocoques sont des germes ubiquistes (**Delarras, 2007**), largement présents dans les poussières dispersées dans l'air et les surfaces. C'est des cocci à coloration de GRAM positive, anaérobies facultatifs, qui s'assemblent en grappes caractéristiques.

Ils se développent relativement bien dans des concentrations de pression osmotique élevées et de faibles taux d'humidité ; ce qui explique en partie leur croissance dans les sécrétions nasales et sur la peau (**Minor et Marth, 1976**).

En pathologie humaine, *Staphylococcus aureus* est l'espèce la plus virulente (**De Buyser, 1991**). Certaines caractéristiques des staphylocoques sont responsables de leur pathogénicité, qui revêt plusieurs formes par la production de nombreuses enzymes extra cellulaires ou des toxines : Presque toutes les souches de *Staphylococcus aureus* produisent une coagulase qui favorise la formation du caillot de fibrine constitué autour des bactéries, susceptible de les protéger contre la phagocytose et de les rendre invulnérables à d'autres mécanismes de défense de l'hôte; le caillot de fibrine ainsi formé, peut être mis en circulation dans le sang et bloquer les petits vaisseaux.

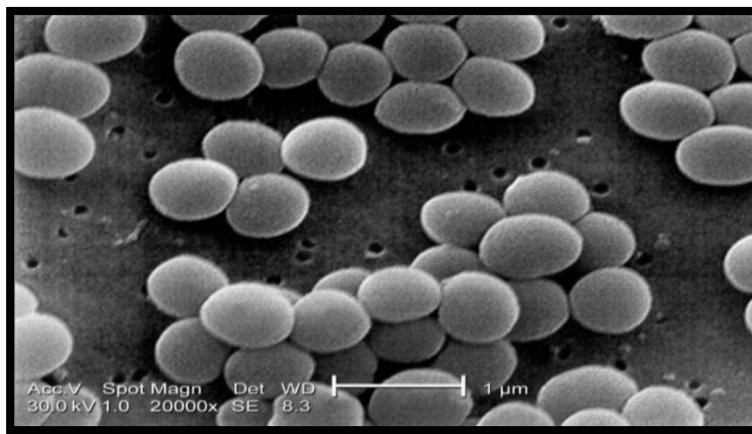


Figure08 : *Staphylococcus aureus* vus en microscopie électronique à balayage(www.Wikimedia.com)

III.2.1.1.2-*Listeria monocytogenes* ATCC 19115:

Le genre *Listeria* comporte 8 espèces dont l'espèce *monocytogenes*, pathogène pour l'Homme et les animaux et l'espèce *ivanovii*, pathogène pour les animaux et rarement pour l'Homme. *Listeria monocytogenes* est responsable d'une maladie touchant l'Homme et les animaux (zoonose) appelée la listériose.

Listeria est un petit bacille (0,5 - 2 μm x 0,5 μm), Gram positif, isolé ou en chaînettes, mobile à 20-25 °C, non sporulé.

Aéro-anaérobie facultatif, catalase positive sauf de rares souches hydrolysant l'esculine, oxydase négative, *Listeria* fermente de nombreux glucides sans production de gaz. Les souches de *L. monocytogenes* sont toujours D-xylose négatives et produisent des lécithinases.

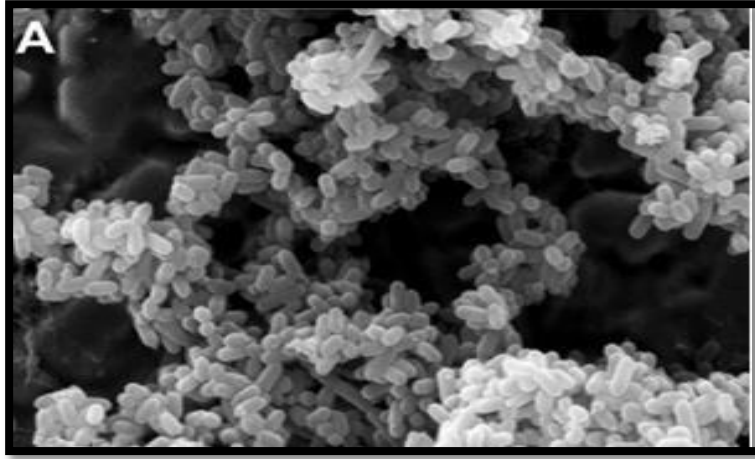


Figure 09: Images de la microscopie électronique de *Listeria monocytogenes* x6400(www.Wikimedia.com).

III.2.1.1.3- *Bacillus subtilis* ATCC 6633:

Le genre *Bacillus* appartient à la famille des Bacillaceae. Il se distingue des autres représentants de la famille par sa morphologie et son type respiratoire. Le genre *Bacillus* rassemble des bacilles à Gram positif, à Gram variable voire même à Gram négatif, aérobies ou aéro-anaérobies et capables de former une endospore.

Certaines espèces produisent des pigments lorsqu'elles sont cultivées sur des milieux particuliers (pigment jaune, orange, brun ou rose pour *Bacillus subtilis*, ...). Les *Bacillus* sont également fréquemment en cause dans les infections oculaires succédant à des traumatismes accidentels ou chirurgicaux. *Bacillus subtilis* est parmi les espèces le plus souvent incriminées. *Bacillus subtilis* a été isolé, chez l'homme, lors d'endocardites, de pneumonies, de bactériémies, de septicémie d'infections oculaires... Il est responsable de quelques cas de toxi-infections alimentaires



Figure 10 : *Bacillus subtilis* (www.ncbi.nlm.nih.org)

III.2.1.1.4-*Bacillus cereus* ATCC 11778:

B. cereus est un long bacille de forme régulière et souvent en courte chaîne. *B. cereus* est un bacille Gram +. En industrie agroalimentaire elle a une grande importance sanitaire et économique. C'est la 4ème cause de toxi-infections alimentaires collectives en France. Son implication est due à sa production de toxine émétique et d'entérotoxines. De plus, cette bactérie peut altérer les caractéristiques organoleptiques des produits par la production de lipases et de protéases. Enfin, il est à noter qu'il existe plusieurs facteurs environnementaux pouvant influencer la capacité d'altération des aliments par *B. cereus*.

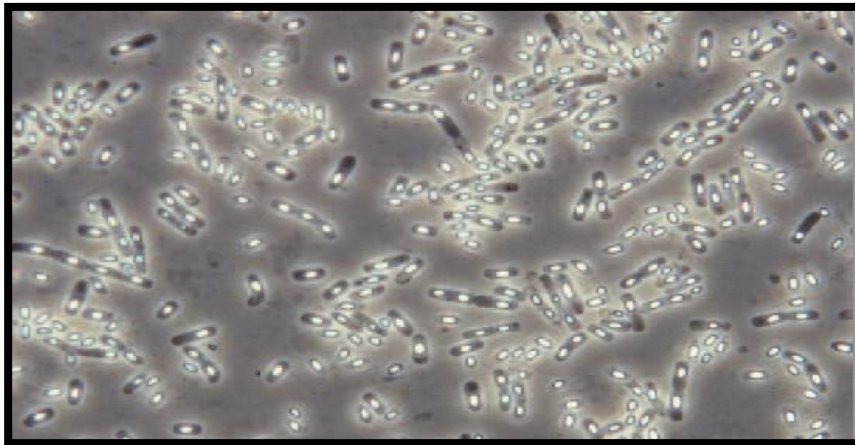


Figure 11 : *Bacillus cereus* (www.ncbi.nlm.nih.org).

III.2.1.1-5-*Enterococcus faecalis* ATCC 49452 :

C'est un coccus à Gram positif, dépourvu de catalase, à métabolisme anaérobie. Il appartient à la famille des *Streptococaceae*. C'est une bactérie non sporulée, immobile, qui se présente de manière isolée ou en paire ou en courte chaînette. C'est un germe ubiquitaire présent dans l'intestin de l'homme et des animaux, dans les eaux usées, dans l'eau douce, dans l'eau de mer dans le sol et les végétaux.

Les *entrérooccus* sont susceptibles de contaminer les aliments comme les produits laitiers et les viandes. Chez l'homme, les entérocoques sont des bactéries pathogènes opportunistes responsables de septicémies, d'endocardites, d'infections urinaires, de surinfections des plaies (notamment chirurgicales), de méningites, d'infections nosocomiales.

III.2.1.2- Bactérie Gram négatif :

Les bactéries Gram négatifs ont adopté une solution différente pour protéger leur membrane cytoplasmique, il fabrique une structure particulière, la membrane externe, située à l'extérieur de la muréine la membrane externe est chimiquement distincte des autres membranes biologique, ce qui lui confère la capacité de résister aux agent chimiques nocifs c'est une structure à deux feuillets mais le feuillet externe contient un composant unique en plus des phospholipides; il s'agit du lipopolysaccharide bactérien, molécule complexe rencontrée uniquement chez les bactéries Gram - (ESCOTT, HARLEIN, KLEIN ,2006).

III.2.1.2.1-*Pasteurella multocida* ATCC 43137:

Pasteurella multocida est une bactérie à Gram négatif, bipolaire, bacilliforme, douée de pléomorphisme, non hémolytique, se présentant sous forme de colonies grisâtres sur gélose au sang avec une odeur douceâtre caractéristique.

Les *Pasteurella* sont naturellement sensibles aux β -lactamines (à l'exception de quelques Céphalosporines de 1^{re} génération), aux cyclines, fluoroquinolones, triméthoprimé-sulfaméthoxazole. La sensibilité aux aminosides est variable, sensibilité intermédiaire aux macrolides et résistance aux lincosamines.



Figure 12 : *Pasteurella multocida* (www.ncbi.nlm.nih.org).

III.2.1.2.2-*Escherichia coli* ATCC 25933:

C'est un bacille à Gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. C'est une bactérie à mobilité péritriche, se développant en aéro-anaérobie et sur gélose ordinaire. C'est un hot commun de la microflore commensale intestinale de l'homme. C'est le germe le plus fréquemment responsable d'infections urinaires. Cette bactérie est aussi à l'origine de septicémies, de méningites chez le nourrisson ainsi que de manifestations intestinales telles que les diarrhées. Elle est également responsable d'infections communautaires et nosocomiales. (Avril, J.L, Fauchère, J.L 2002) Ces souches d'*E. coli* pathogènes peuvent être à l'origine d'infection du tractus digestif, de l'arbre respiratoire et du tractus urinaire, mais également de méningites et de septicémies (Choreh, 2013).

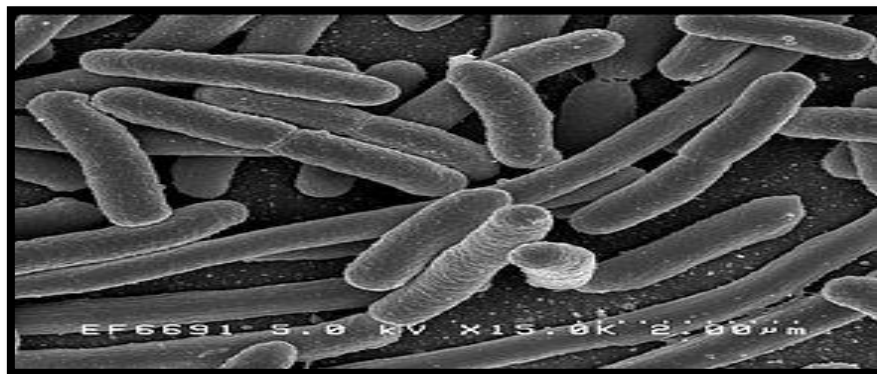


Figure 13: *Escherichia coli* vue en microscope électronique.

(http://en.wikipedia.org/wiki/Image:EscherichiaColi_NIAID.jpg).

III.2.1.2.3-Campylobacter fetus ATCC 27374:

Les bactéries sont des bacilles incurvés mobiles, microaérophiles, asacharolytiques et parfaitement bien adaptés à la vie dans le mucus. Les genres *Campylobacter*, *Arcobacter* et *Sulfurospirillum* constituent la famille des *Campylobacteraceae*. (VANDAMME et al., 1991)

Les bactéries du genre *Campylobacter* ont développé des résistances à diverses familles d'antibiotiques d'intérêt thérapeutique chez l'homme. Il est important de développer de nouveaux outils moléculaires pour mieux détecter et caractériser les mécanismes de résistance impliqués.



Figure 14: *Campylobacter fetus* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

III.2.1.2.4-Citrobacter freundii ATCC 8090:

Espèces *Citrobacter* sont aérobies, bacilles com- gram-négative couramment trouvés dans l'eau, le sol, la nourriture et le tractus intestinal des animaux et les humains.

Citrobacter bactériémie est une infection rare; nous sommes conscients de seulement deux ont rapporté séries dans la littérature de langue anglaise Par conséquent, on sait peu sur *citrobacter* bactériémie en termes d'incidence, les maladies sous - jacentes associées, primaire les sites d'infection, et les résultats.

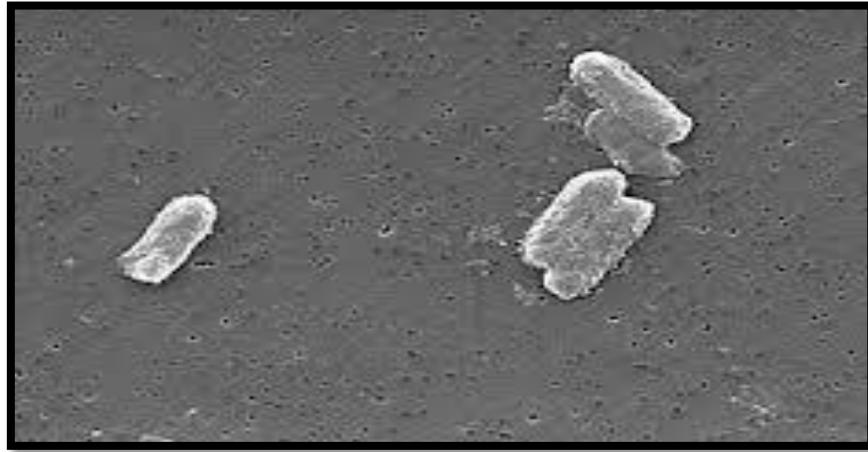


Figure 15: *Citrobacter freundii* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

III.2.1.2.5-Salmonella (*Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *enterica* ATCC 13312):

Les salmonelles appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* et elles sont classées dans le genre *Salmonella* ayant des déterminants morphologiques et biochimiques homogènes. Les salmonelles sont des bacilles à Gram négatif mesurant 0.7 à 1.5 µm par 2.0 à 5.0 µm et mobiles, grâce à des flagelles péritriches. Toutefois, les sérovars Pullorum et Gallinarum et certains mutants ne sont pas mobiles.

Les salmonelles sont non sporulantes, non encapsulées et poussent facilement sur des milieux usuels et en anaérobiose. L'habitat des salmonelles est le tractus intestinal des humains et de la plupart des espèces animales à sang chaud et froid. *Salmonella* a souvent été nommée pathogène universel. Les signes cliniques d'une infection par des salmonelles peuvent varier d'une entérite à une infection septicémique pouvant être fatale.

III.2.1.2.6-Enterobacter cloacae :

Enterobacter cloacae est présent dans l'environnement mais il est aussi commensal du tube digestif de l'homme et des animaux. Bacilles à Gram négatif, mobiles, non sporulés. Le genre *Enterobacter* a pris une importance croissante du fait de son implication dans les infections nosocomiales. C'est un pathogène opportuniste responsable de : infection urinaire, bactériémie, infection respiratoire, suppurations diverses.

Infection tissulaire après une plaie souillée par de la terre, il est souvent associé à *Bacillus cereus*, Cultive facilement sur milieux ordinaires à 37°C. Les colonies ont l'aspect classique des colonies d'entérobactéries. Elles ne sont pas pigmentées

III.2.1.2.7-Pseudomonas aeruginosa :

Le genre pseudomonas est fait de bacilles mobiles aérobies stricts, se cultive facilement sur les milieux usuels. *Pseudomona aeruginosa* (ou bacille pyocyanique) se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ses colonies (**Nauciel, 2000**). C'est une bactérie ubiquiste qui vit normalement à l'état de saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux. Cette bactérie peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'homme et des divers animaux. Considéré comme une bactérie pathogène opportuniste c'est le germe-type des infections hospitalières ou nosocomiales.

III.3- Activité antifongique :

Les levures du genre *Candida* sont des agents étiologiques les plus fréquents dans les infections fongiques invasives. *Candida spp* est l'agent commensal de la peau et des muqueuses humaines, habituellement non pathogènes chez l'individu sain, mais profitent des altérations des défenses immunitaires de l'hôte pour proliférer [(**Counelle De Pontanel et cou., 1987**) (**Chabasse et coll., 1999**), (**Haynes, 2001**)].

Cette levure apparait macroscopiquement sous forme de colonies blanches à crémeuses de 1 à 3 mm. Suivant l'espèce, leurs textures peuvent être pâteuse, lisse, brillante, sèche, ridée ou terne produisant des blastoconidies, rondes ou allongées (**Develoux et coll., 2005**).

III.3.1-Les levures :

Les levures sont des eucaryotes hétérotrophes faisant partie du groupe de champignons unicellulaires (**Meyer et al., 2004**) certaines font des bourgeons qui ne se détachent pas , il se forme alors une courte chaîne de cellules appelée pseudo-hyphe (**Tortora et al., 2003**) .Ces structures sont immobiles (**Guiraud, 1998**).

Elles sont généralement plus grandes que celles des bactéries et présentent une structure plus complexe (**Perscott et al., 2007**) notamment par la présence de noyau et d'organites divers (**Larpent, 1991**).

leur taille est très variable suivant les espèces: 2,5-10,5µm de largeur contre 4,5-21µm de longueur. Ces dimensions et aspects dépendent fréquemment des conditions de culture et l'âge des cellules (**Scherr et Weaver, 1953**).

Les levures sont très répandues dans les milieux riches en glucides (**Larpent, 1992**). Elles se présentent sous forme de poudre blanche sur les fruits et les feuilles et sont saprophytes du nectar de fleurs (**Scriban, 2003**).

III.3.1.1 *Candida albicans*:

Candida albicans est une levure, une sorte de champignon microscopique. On la considère comme un microorganisme commensal, car elle est retrouvée dans la flore normale du tractus gastro-intestinal et de la peau (**Runhnke et Maschmeyer, 2002**). Elle est présentée, en outre dans le tractus génital chez environ 20% des femmes.

Cette levure colonise aussi la cavité buccale chez environ 45% de la population adulte (**Akpan et al., 2002**).

Chez un hôte susceptible, cette levure opportuniste peut causer plusieurs infections autant superficielles (peau, muqueuses et ongles) que systémiques (sang, cœur) (**Odds, 1999**).

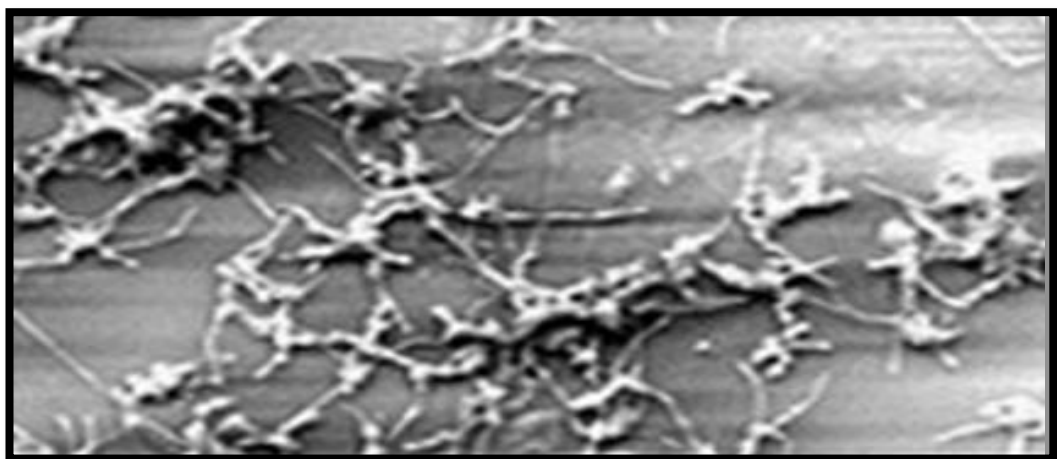


Figure 16 : Biofilms de *Candida albicans* au microscope électronique grossissement 500X (sante- medecine.commentcamarche.net).

III.4-Les antibiotiques :

Les antibiotiques sont des substances élaborées par des micro-organismes, ou des substances synthétiques, qui sont bactériostatiques ou bactéricides à dose faible. Leurs cibles d'activité sont des structures moléculaires spécifiquement bactériennes. Elles ont donc une toxicité sélective pour les cellules procaryotes et une toxicité faible pour les cellules eucaryotes (Avril *et al.*, 2002).

III.4.1-Modes d'action des antibiotiques

Les agents antimicrobiens détruisent les bactéries en s'attaquant directement à leurs structures essentielles (paroi cellulaire, ribosomes, membrane plasmique et ADN) et/ou en perturbant leurs métabolismes et par conséquent leurs fonctions (Tortora *et al* ;2003). Les modes d'action majeurs des antibiotiques incluent l'interférence avec la synthèse de la paroi cellulaire (β -lactames)

l'inhibition de la synthèse protéique l'interférence avec la synthèse de l'acide nucléique et l'inhibition d'une voie métabolique (Tenover, 2006).

L'action sur la membrane est aussi un mécanisme antibactérien très répandu. Les polymixines induisent l'augmentation de la perméabilité membranaire causant la perte du contenu de la cellule bactérienne (Storm, 1999) tandis que le lipopeptide cyclique daptomycine agit apparemment par l'insertion de sa queue lipidique à l'intérieur de la membrane, causant sa dépolarisation et éventuellement la mort bactérienne (Carpenter et Chambers, 2004).

Chapitre II

Matériels et Méthodes

Ce travail est effectué au laboratoire « Université Dr MOULAY TAHAR-Saida –Faculté des sciences et technologies »Département de biologie pendant la période allant. De 13 -03-2016 jusqu'aux26-05-2016

I.1-Objectif :

Etude l'effet antibactérienne et antifongique de l'extrait éthanolique de *salvia argentea* sur les souches bactériennes et fongiques par antibiogramme et micro-dilution.

I.2-Matériel biologique utilisé :

I.2.1- Matériel végétal :

A) Récolte et séchage :

La plante utilisées dans ce travail plante médicinal aromatique les feuilles de *salvia argentea* Elles ont été récolte dans région de Saida Ain hadjar le mois de novembre.



Figure17 : Carte géographique montre la région de récolte l'échantillon de *salvia argentea* dans la wilaya de Saida

Aïn El Hadjar à un climat de steppe. Tout au long de l'année, il y a peu de précipitations à Aïn El Hadjar. Aïn El Hadjar affiche une température annuelle moyenne de 15.1 °C. Sur l'année, la précipitation moyenne est de 340 mm.

Le matériel végétal a été laissé sécher température ambiante, à l'ombre et à l'abri de l'humidité dans une pièce aérée pendant une période de 10 à 15 jours.

I.2.2-Matériel microbien :

Trois souches de levure ainsi que quatorze souches bactériennes de références ont été utilisées pour déterminer l'activité antimicrobienne d'extrait éthanolique de plante *salvia argentea* Elles sont entretenues par repiquages successifs sur GN (Bactéries) et sur GS (levures) et conservées à 4°C. Ces souches ramènent par Mr **Halla Noureddine** (Université de Saida Ain hadjar), Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques : *physico-chimie, synthèse et activité biologique*; Département de Biologie ; Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers; Université de Tlemcen.

I.2.2.1-Les souches bactériennes :

Tableau 01 : Les différentes souches utilisées pour évaluer l'activité bactérienne

Nom de la souche	Référence	Gram
<i>E. faecalis</i>	ATCC 49452	Positif
<i>S. aureus</i>	ATCC 25923	Positif
<i>L. monocytogenes</i>	ATCC 19115	Positif
<i>B. subtilis</i>	ATCC 6633	Positif
<i>B. cereus</i>	ATCC 11778	Positif
<i>P. multocida</i>	ATCC 43137	Négatif
<i>S. typhimurium</i>	ATCC 13311	Négatif
<i>C. fetus</i>	ATCC 27374	Négatif
<i>E. coli</i>	ATCC 25933	Négatif
<i>K. pneumonia</i>	ATCC 70603	Négatif
<i>E. cloacae</i>	ATCC 13047	Négatif
<i>C. freundii</i>	ATCC 8090	Négatif
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC 27853	Négatif
<i>S. enterica</i>	ATCC 13312	Négatif

I.2.2.2-Souches fongiques :

Tableau 02: Les différentes souches utilisées pour évaluer l'activité fongique

Nom de la souche	Référence
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10251 /
<i>Candida albicans</i>	ATCC 26790 /
<i>Candida albicans</i>	IP 444 /

I.2.3-Matériel de laboratoire :

I.2.3.1-Matériel

- Balance électrique
- Disques d'antibiotiques
- Ecouillons
- Boîtes pétri
- Spatules
- Fiole
- Thermo
- Papier filtre
- Etuve
- vortex
- autoclave
- Tube à hémolyse
- Autoclave
- pince
- bensen
- Ances de platine
- Becher
- Pipettes graduées
- Agitateur
- Ampoule à décanter
- Micro pipettes
- four pasteur
- spectrophotomètre

I.2.3.2- Produit et milieux utilisés :

- Éthanol
- Gélose Sabouraud
- Eau physiologique
- Eau distillé
- Gélose nutritive
- Muller Hinton

I.3- Méthode :

I.3.1-Préparation d'extrait éthanolique de *salvia argentea* :

I.3.1.1-Extraction par le solvant :

La méthode d'extraction que nous avons adoptée est la macération successive par solvant organique l'éthanol 70%. La quantité de solvant doit être appropriée à la quantité de matière végétale à extraire. Dans notre cas 50 g de la plante sèche et moulue extraits par 750 ml d'éthanol. L'extraction est effectuée sous agitation rigoureusement à l'aide d'un mixeur pendant 2h, puis filtré sur coton hydrophile. Ce filtrat subit une décantation dans une ampoule à décante pendant 24 heures. On obtient une phase hydro-alcoolique est isolée du dépôt résiduel, filtrée sur papier filtre Whattman et séché dans l'étuve à 40°C. La poudre obtenue est l'extrait hydro alcoolique ou extrait éthanolique 70 % (EE 70%) (Zirihi et al. 2003).

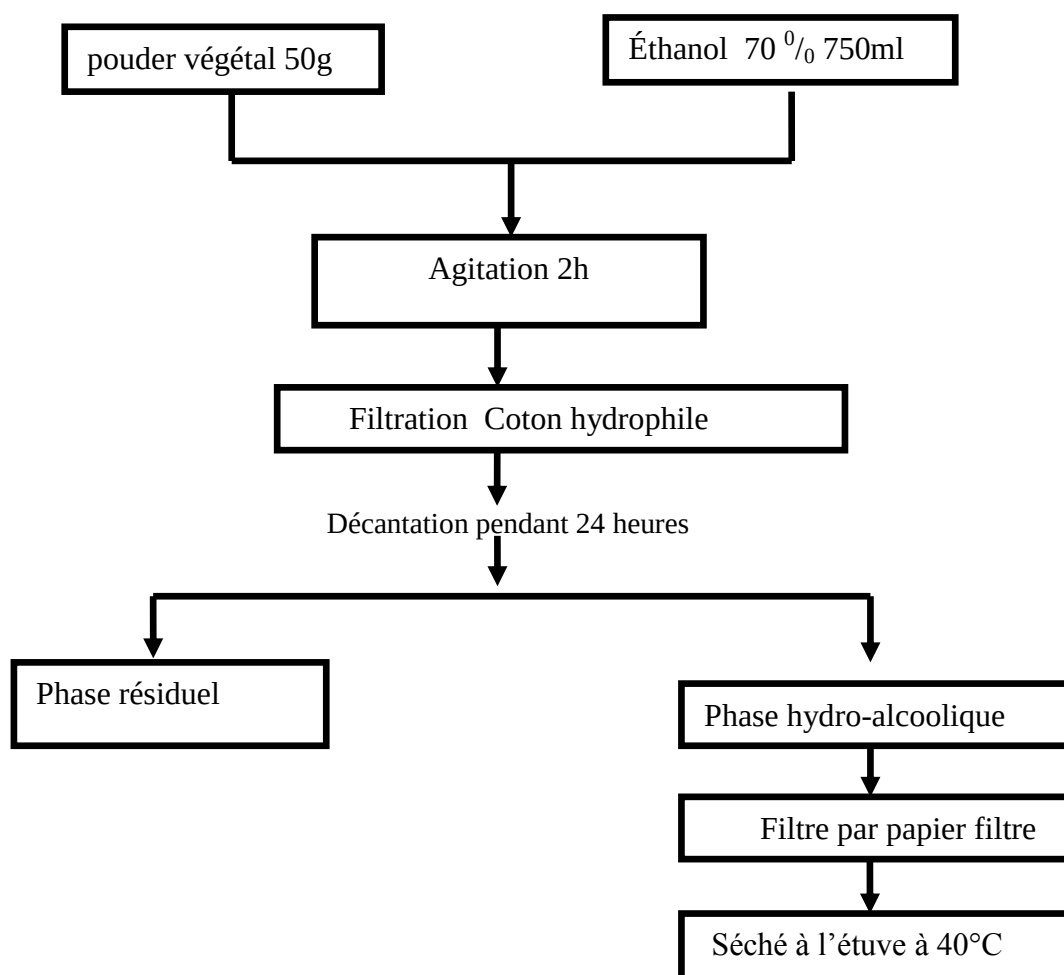


Figure 18: Principale étapes de macération de *salvia argentea*. (Zirihi et al. 2003).

I.3.1.2- Détermination du rendement d'extrait :

Le poids en extraits secs est déterminé par la différence entre le poids du boîte de pétri plein (après élimination du solvant par séchage dans l'étuve) et le poids du boîte de pétri vide.

Le pourcentage de rendement pour extrait et a été calculé par la formule suivante:

$$R(\%) = M / M' \times 100 (\%) : \text{Rendement exprimé en \%}.$$

M: Masse en gramme de l'extrait sec résultant

M' : Masse en gramme du matériel végétal utilisée

I.4-Evaluation de l'activité antimicrobienne :**I.4.1 -Préparation des solutions d'HE du citron:**

Nous avons préparé une solution mère dans une éprouvette de 5ml à partir de 0.2 g d'huile essentielle (HE) du citron et 20 µl du DMSO. Ce volume a été complété par le Bouillon

Muëller Hinton (BMH) jusqu'à 1 ml (1000 µl). La quantité de l'HE a été pesée en mg/ml.

Ensuite, nous avons mélangé la solution manuellement et la filtré aseptiquement à l'aide d'un micro filtre stérile (**Burt, 2004**). Des dilutions en série de 1/2 ont été ensuite réalisées pour obtenir des concentrations de :

1) 100mg/ml, 2) 50mg/ml, 3) 25mg/ml, 4) 5mg/ml, 5) 2.5mg/ml, 6) 1.25mg/ml, 7) 0.625mg/ml
8) 0.312mg/ml, 9) 0.15mg/ml, 10) 0.07mg/ml.

I.4.2-Préparation des solutions d'extrait éthanolique de *salvia argentea* :**a-Pour les bactéries :**

Nous avons préparé une solution d'extrait éthanolique dissouts dans le (DMSO 3.5ml) 4ml dans éprouvette 5ml. Des dilutions en série de 1/2 ont été ensuite réalisées pour obtenir des concentrations de : 1) 241mg/ml, 2) 120.5 mg/ml, 3) 60.25 mg/ml, 4) 30.12 mg/ml, 5) 15.06 mg/ml
6) 7.53 mg/ml, 7) 3.76 mg/ml, 8) 1.88 mg/ml, 9) 0.94 mg/ml, 10) 0.47 mg/ml

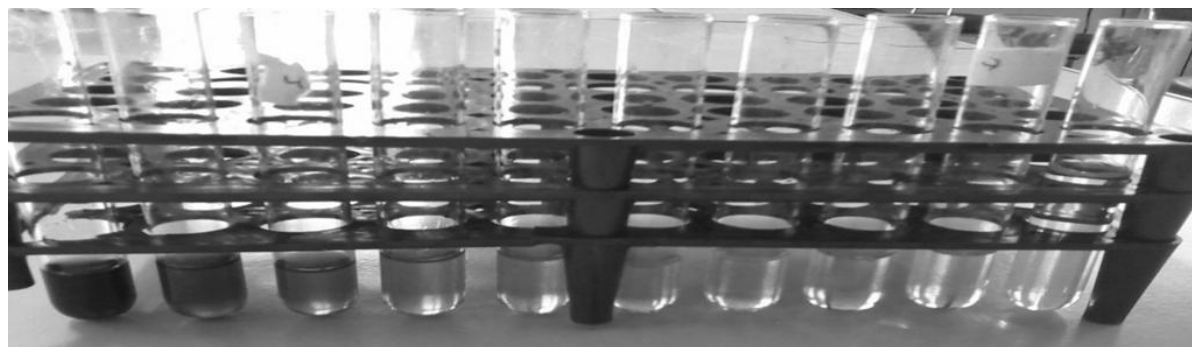


Figure 19: photo de dilution de l'extrait éthanolique de *salvia argentea* .

b-Pour les levures :

Nous avons préparé une solution d'extrait éthanolique dissouts dans le (DMSO3.5ml) 2ml dans éprouvette 5ml. Des dilutions en série de 1/2 ont été ensuite réalisées pour obtenir des concentrations de: 1)242mg/ml, 2)121mg/ml, 3)60.5 mg/ml, 4)30.25mg/ml, 5)15.12 mg/ml 6)7.56 mg/ml, 7) 3.78 mg/ml, 8) 1.89 mg/ml, 9) 0.94 mg/ml, 10) 0.47 mg/ml

I.4.3-Préparation de l'inoculum :

Les espèces cibles (souches bactériennes choisies) ont été revivifiées et repiquées dans (le bouillon nutritif (bactéries) ou bouillon sabouraud (levures) Après incubation pendant 18h à 24h à 37°C (bactéries) ou 48 heures à 30°C (levures), un deuxième repiquage est réalisé sur des boites de pétri contenant de la GN (bactéries) ou SG (levures) puis, incubées à 37°C ou 30°C pendant 18 heures ou 24 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 de l'inoculum sont évaluées par turbidité et sont exprimées par la mesure de la densité optique (DO à 625 nm et par levreur DO à 530 nm sur un spectrophotomètre. Une DO de 0.08 à 0.1 correspond à une concentration de 10^8 UFC/ml. La suspension d'inoculum est diluée à 1/100ème dans le milieu de culture pour avoir une concentration de 10^6 UFC/ml. (ATHAMENA et al. 2010 ; KARATAS et al., 2010 ; SARAC et al., 2007; YEN TAN et al ;2006 ; RAHAL et a;2005).

I.5 –Test antibactériennes et antifongiques :

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne et antifongique d'extrait de la plante, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme) et la méthode de micro-dilution sur milieu liquide celle-ci permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) à partir d'une gamme de concentrations d'extrait.

I.5.1-Test d'antibiogramme (méthode des disques) :

La méthode de diffusion à partir d'un disque a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne. Des disques de papier Wattman sont stérilisés. Ces disques sont ensuite imbibés d'extrait à tester dissouts dans le (DMSO) à des concentrations différentes. Par ailleurs la GMH stérile(les bactéries) la GS (les levures) est coulée dans des boites de Pétri puis laissées refroidir.

Une suspension bactérienne de 18 à 24h est préparée .L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage à l'aide d'un coton-tige stérile en tournant la boite.

La dernière étape consiste à déposer à l'aide d'une pince stérile à la surface de la gélose ensemencée par la souche à tester d'une boite de pétri des disques imbibés d'extrait à tester et des disques des antibiotiques (Zinat) , les disques sont déposés dans chaque boite. L'incubation dure de 18à 24h.

Après incubation, l'effet d'extrait et d'antibiotique 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 (**Choi et al ; 2006**). Le diamètre d'inhibition autour des disques est mesuré et les valeurs sont exprimées en (mm).

I.5.1.1—Lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en (mm).

La lecture des résultats est faite par mesure des diamètres des zones d'inhibition en (mm) les zones doivent être uniformément circulaires (**ESPINEL-INGROFF et CANTON 2007**).

Selon (BARROS et coll., 2007) l'activité antimicrobienne est exprimée en zones d'inhibition comme suit :

- ✓ Diamètres inférieurs à 7 mm : aucune activité antimicrobienne
- ✓ Diamètres de 7 à 9.9 mm : activité antimicrobiennes faible.
- ✓ Diamètres de 10 à 11.9 mm : activité antimicrobiennes modeste.
- ✓ Diamètres de 12 à 15 mm : activité antimicrobiennes élevée.
- ✓ Diamètres supérieurs à 15 mm : activité antimicrobiennes forte.

I.5.2-Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la méthode de micro-dilution sur milieu liquide :

I.5.2.1 Activité antibactérienne d'HE du citron :

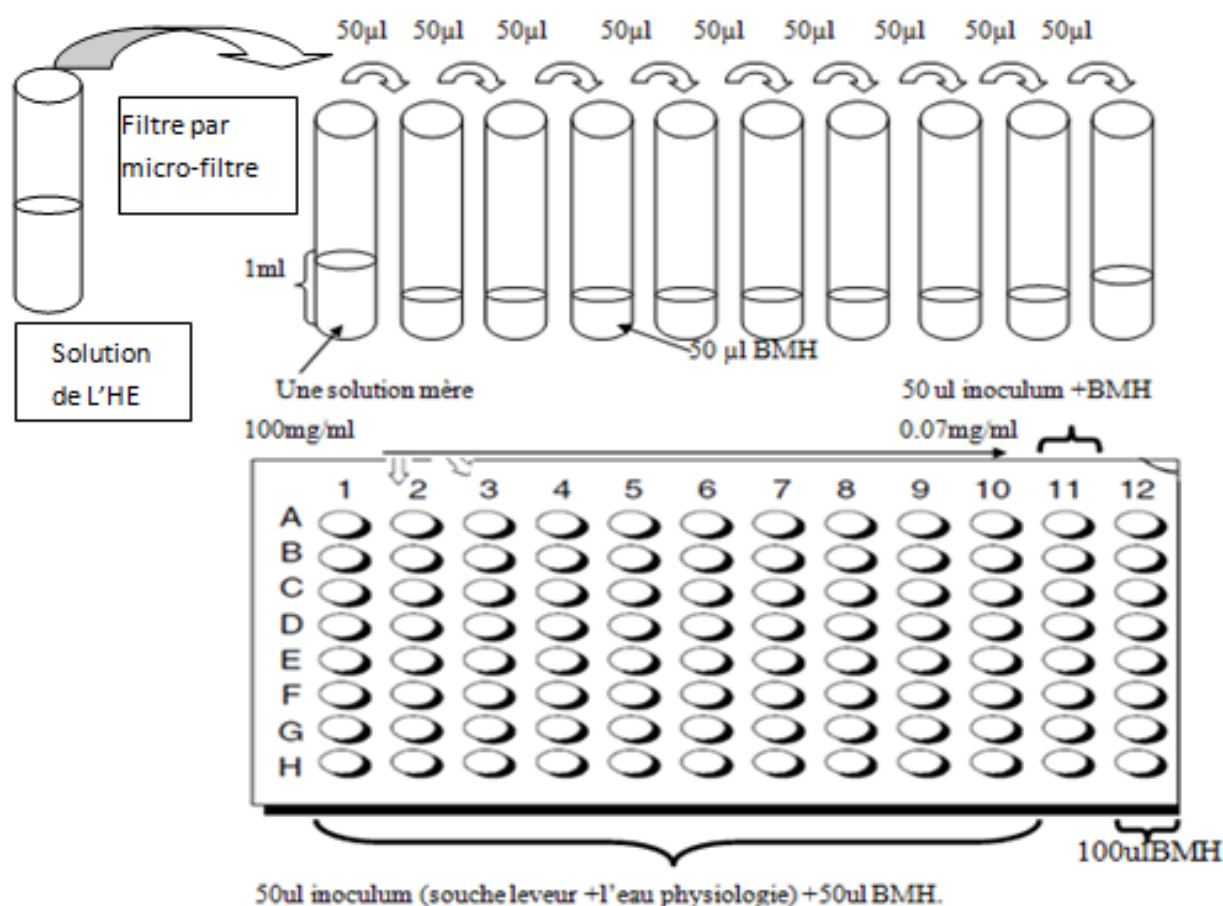


Figure 20 : la méthode des micro-dilutions sur milieu liquide d'HE du citron sur
Les souches bactérienne

I.5.2.2- Activité antibactérienne d'extrait éthanolique de *salvia argentea* :

L'activité antibactérienne d'extrait éthanolique de *salvia argentea* a été évaluée par la méthode de micro-dilution sur milieu liquide pour la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI). La technique utilisée a été décrite par **Clinical and Laboratory Standards Institute M27-A2 CLSI en 2006**. Elle est basée sur la capacité des microorganismes à produire une croissance visible à l'œil nu au sein d'une série de dilutions de la substance antimicrobienne (**CLSI-M7-A7 2006**).

Pour chaque ligne de la microplaque, nous avons déposés 50µl de l'inoculum dans les 11 puits à l'exception du puits N°12 qui servira de puits de contrôle de contamination, qui contient seulement le BMH, comme témoin négatif (100 µl). Nous avons ensuite ajouté 50 µl de la solution de l'huile essentielle ou l'extrait éthanolique dans les 10 puits à l'exception du puits N°11 et puits N°12. le puits N°11 servira de témoin positif (croissance sans HE ou l'extrait éthanolique). Les plaques sont scellées et placées dans une étuve à 35°C pendant 24h.

La lecture du résultat s'effectue à l'œil nu à l'aide de d'une source de lumière sous la microplaque pour visualisé si il y'a une inhibition ou non (la croissance sous forme une trouble). [(Espinell-Ingroff et Canton., 2007) ; (Majoros et coll., 2005)].

La plus faible concentration de chaque fraction ne montrant aucune croissance sera considérée Comme la concentration minimale inhibitrice (CMI), elle est confirmée par un ensemencement sur milieu solide (**CLSI-M7-A7 2006**).

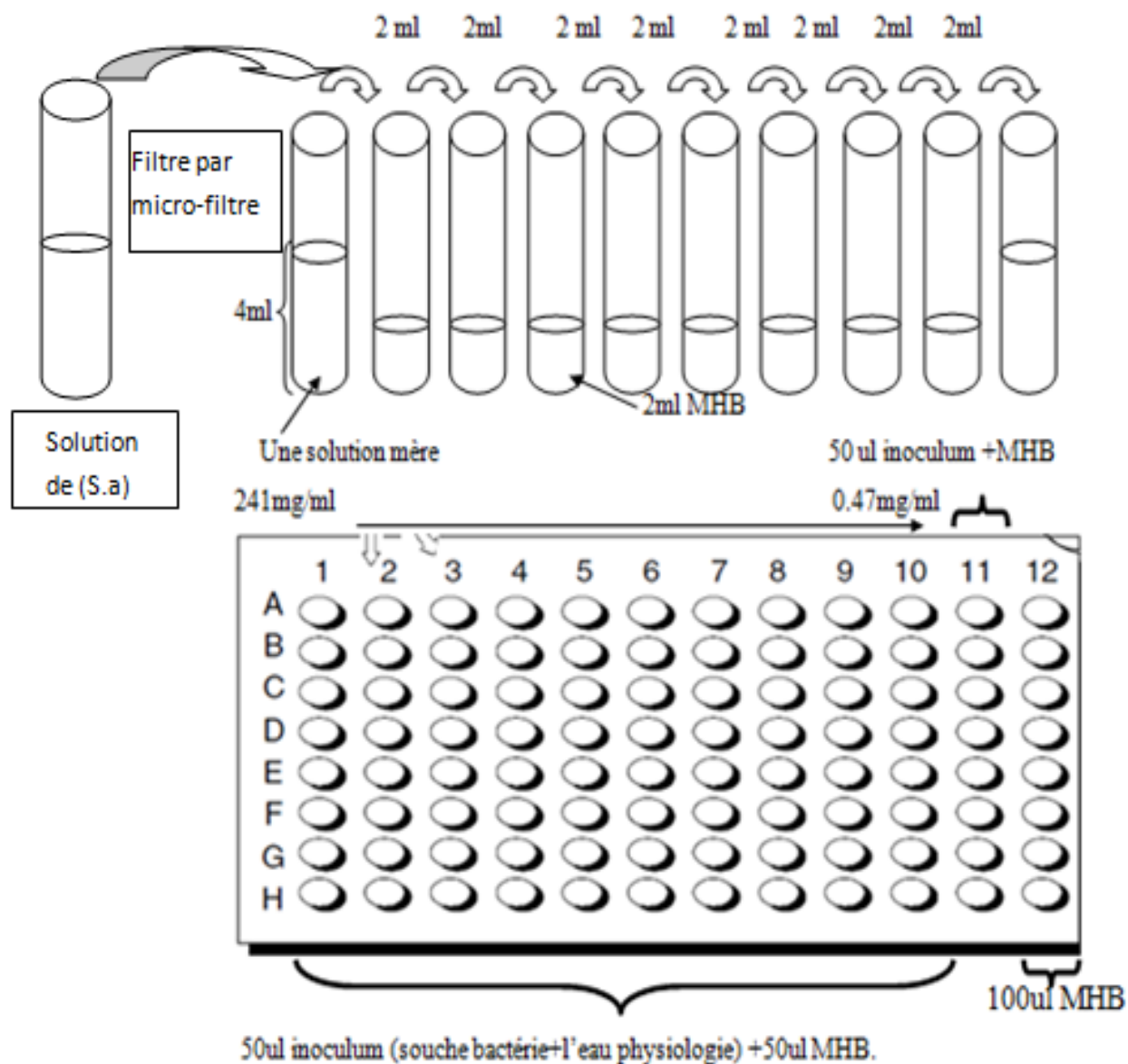


Figure 21 : la méthode des micro-dilutions sur milieu liquide d'extrait éthanolique (S.a) sur les souches bactériennes

I.5.2.3-Activité antifongique d'extrait éthanolique de (S.a) :

L'étude de l'activité antifongique est réalisée par la méthode des micro-dilutions sur milieu liquide pour la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI). Nous avons utilisé la méthode décrite en 2006 par **Clinical and Laboratory Standards Institute M27-A2 (CLSI)**. C'est la méthode de référence qui permet de tester l'efficacité des antifongiques et de déterminer les CMI et les CMF correspondantes (**CLSI-M27-A2 2006**). La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la concentration la plus faible.

Le milieu de culture préconisé pour cette technique est le bouillon sabouraud. Nous avons utilisé ce milieu.

Pour chaque ligne de la microplaque, nous avons déposés 50µl de l'inoculum dans les 11 puits à l'exception du puits N°12 qui servira de puits de contrôle de contamination qui contient seulement le BS comme témoin négatif (100 µl). Nous avons ensuite ajouté 50 µl de la solution de l'extrait éthanolique dans les 10 puits à l'exception du puits N°11 et puits N°12. Le puits N°11 servira de témoin négatif (croissance sans l'extrait éthanolique). Les plaques sont scellées et placées dans une étuve à 35°C pendant 24 h (**CLSI-M27-A2 2006**).

La lecture du résultat s'effectue à l'œil nu à l'aide d'une source de lumière sous la microplaque pour visualiser si il y'a une inhibition ou non (la croissance sous forme d'un trouble). [(**Espinel-Ingroff et Canton., 2007**) ; (**Majoros et coll., 2005**)].

La plus faible concentration de chaque fraction ne montrant aucune croissance sera considérée comme la concentration minimale inhibitrice (CMI), elle est confirmée par un ensemencement sur milieu solide (**CLSI-M27-A2 2006**).

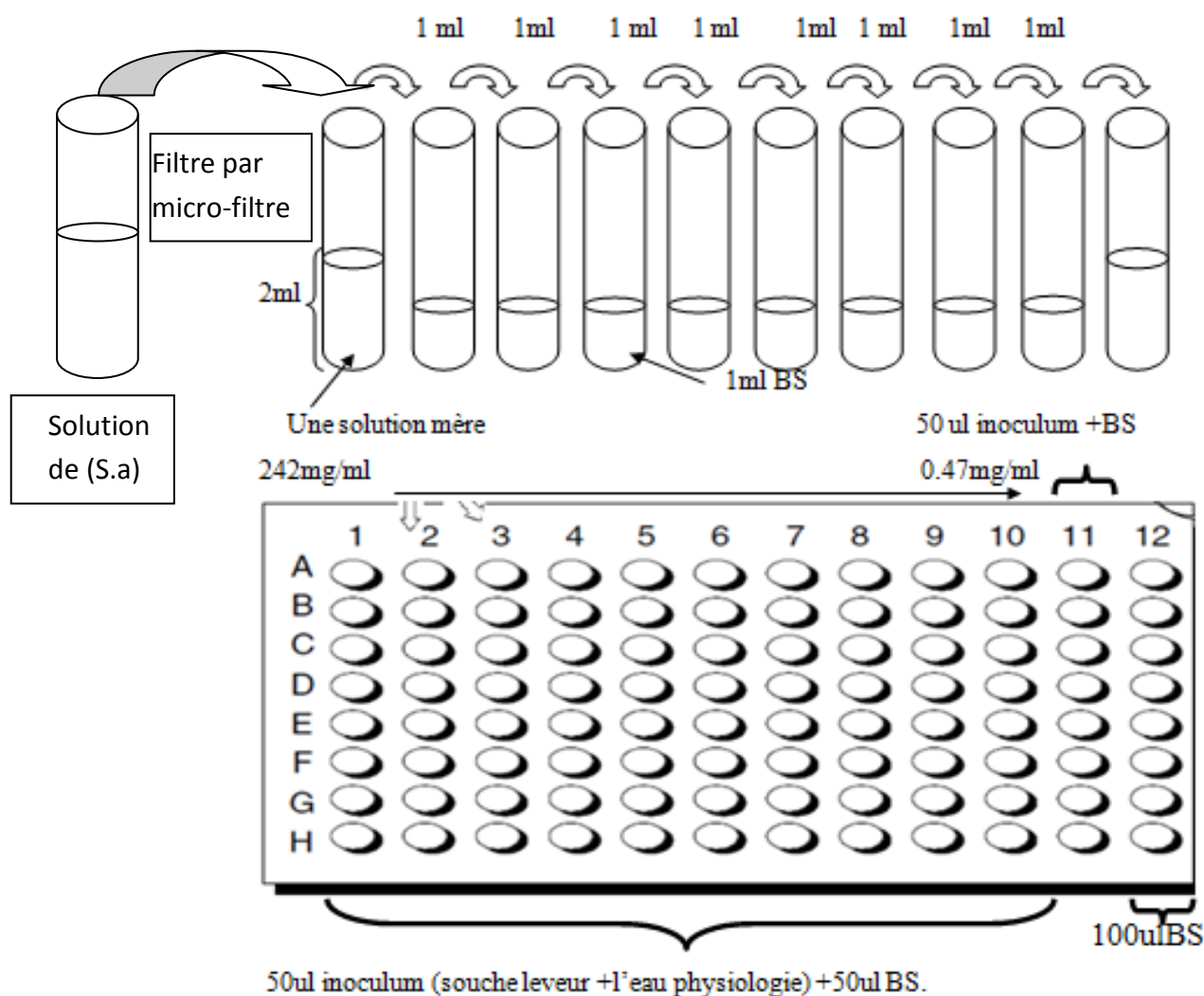


Figure 22 : la méthode des micro-dilutions sur milieu liquide d'extrait éthanolique (S.a) sur les souches fongiques.

I.5.3-Détermination des concentrations minimales bactéricide (CMB) et fongicide(CMF) :

I.5.3.1- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) :

La CMB est définie comme la plus faible concentration de l'antibactérien .Après la détermination de la CMI (durant 24h d'incubation à 37°C).

un échantillon de 10 µl de chaque puits (ne présentant pas de croissance) va être transféré dans des boîtes de Pétri contenant du milieu GN. Les boîtes sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 h .le boîte de celle de la CMB renferme un nombre de colonies inférieur à 3 (PRESCOTT et coll. 1995).

I.5.3.2- . Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF) :

La CMF est définie comme la plus faible concentration de l'antifongique Pour la détermination de la concentration minimale fongicide, nous avons utilisé la méthode décrite par **CANTON et coll. 2003**.

Après la détermination de la CMI (durant 24h d'incubation à 35°C), 10 µl de chaque puits qui ne présente pas croissance vont être transférés dans des boîtes de Pétri contenant du milieu GS. Les boîtes sont incubées dans une étuve à 35 °C pendant 24 h. La boîte correspondant à la CMF renferme un nombre de colonies inférieures à 3 (**MAJOROS et coll., 2005**).

Chapitre III

Résultats et discussion

L'objectif de notre travail consiste à évaluer l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait éthanolique de (S.a) vis-à-vis des souches (bactériennes et fongiques) de référence par :

- La méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme).
- La méthode de micro-dilution sur milieu liquide.

Nous avons déterminé les concentrations minimales inhibitrices (CMI), les concentrations minimales bactéricides (CMB) et les concentrations minimales fongicides (CMF).

I.1-Calcul du rendement de l'extrait :

Le pourcentage de rendement pour l'extrait a été calculé par la formule suivante:

$R(\%) = M / M' \times 100 (\%)$: Rendement exprimé en %.

M: Masse en gramme de l'extrait sec résultant

M' : Masse en gramme du matériel végétal utilisé

Le poids de la boîte pétrie vide est de 6.22g

Le poids de la boîte pétrie contenant l'extrait sec est de 7.28g

Le poids de l'extrait de *salvia argentea* est de 1.06g

$M'=1.06g$, $M=50g$.

$1.06/50 \times 100$

Le Rendement : 2.12%

1.2- Evaluation de l'activité antibactérienne par la technique de micro-dilution sur milieu liquide d'HE du citron:

Les résultats de la méthode de micro dilution d'HE de citron, utilisée comme témoin de la résistance des souches testées, ne montre aucune activité antibactérienne de l'HE vis-à-vis des souches testées

I.3- Evaluation du pouvoir antibactérien d'extrait ETOH de *salvia argentea* :

Nous avons évalué l'activité antibactérienne d'extrait ETOH 70% de S.a vis-à-vis des différentes souches avec la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme) et la méthode de micro-dilution sur milieu liquide. Ensuite nous avons déterminé les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB).

I.3.1- Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique par la technique de micro-dilution sur milieu liquide :

La méthode des micro-dilutions sur milieu liquide est une technique quantitative permettant de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis une substance antimicrobienne. Cette méthode est basée sur l'inoculation des souches à tester dans un milieu nutritif (le bouillon Mueller Hinton).

Tableau03: les concentrations de **CMI** : concentration minimale inhibitrice, **CMB** concentration minimale bactéricide.

Les souches bactériennes	CMI	CMB	CMB/CMI
<i>E. faecalis</i>	120.5	241	2
<i>S. aureus</i>	120.5	120.5	1
<i>L. monocytogenes</i>	120.5	241	2
<i>B. cereus</i>	60.25	120.5	2
<i>B. subtilis</i>	60.25	241	3.98
<i>P. multocida</i>	120.5	241	2
<i>S. typhimurium</i>	120.5	241	2
<i>C. fetus</i>	120.5	120.5	1
<i>E. coli</i>	120.5	120.5	1
<i>K. pneumonia</i>	120.5	120.5	1
<i>E. cloacae</i>	120.5	120.5	1
<i>C. freundii</i>	120.5	120.5	1
<i>P. aeruginosa</i>	60.25	241	3.98
<i>S. enterica</i>	120.5	120.5	1

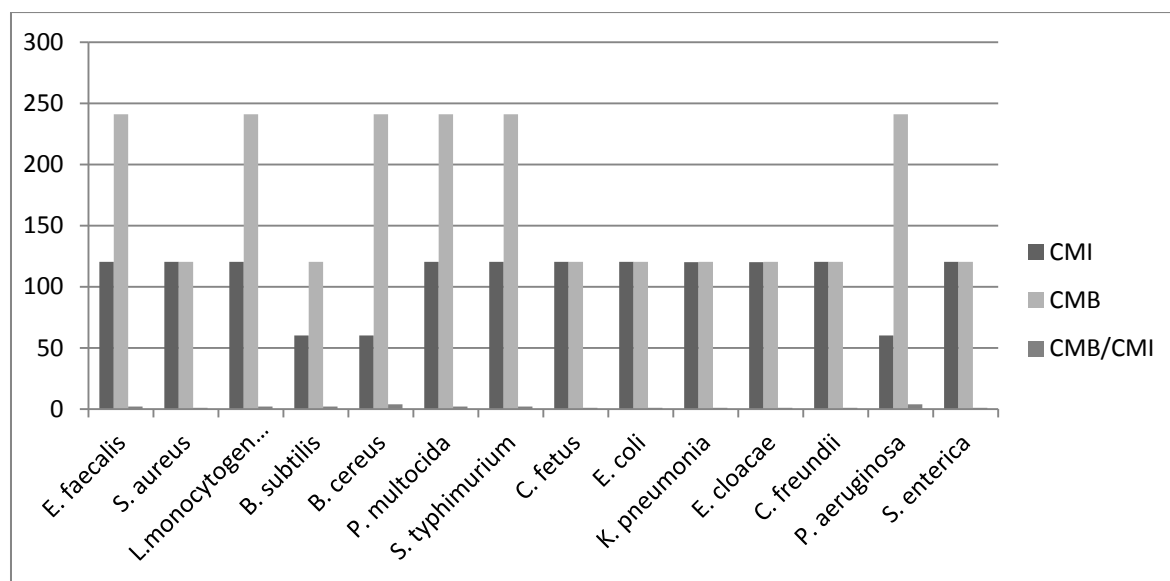


Figure23: Résultat des CMI et CMB d'extrait éthanolique de *salvia argentea* vis-à-vis des souches bactériennes

CMI : concentration minimale inhibitrice **CMB** : concentration minimale bactéricide

Les résultats de la méthode de micro-dilution montrent que l'extrait éthanolique de *salvia argentea* a révélé une CMI d'une valeur de 60.25mg/ml pour les souches (*P.aeruginosa* et *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *B. subtilis* *S.enterica*) et une CMI de valeur 120.5mg/ml pour les souches (*C. freundii* *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *K.pneumonia*, *P. multocida* *C. fetus* *E. faecéalis*, *S. typhimurium*,).

Pour déterminer la nature bactéricide ou bactériostatique de notre extrait éthanolique de *S.a* nous avons calculé le rapport CMB/CMI (Tableau 3).

Si ce rapport est inférieur ou égal à 2, l'extrait est considérée comme bactéricide si ce rapport est supérieur à 2, l'extrait est considérée comme bactériostatique (**Derwiche et coll. 2010**).

D'après nos résultats, le rapport CMB/CMI vis-à-vis des souches (*E. faecalis* *S. aureus* et *E. coli* *K.pneumonia*, *P.multocida* , *S.typhimurium*, *B. subtilis*, *L.monocytogenes*, *B. subtilis* *C. fetus* *E. cloacae*, *C. freundii*,) le rapport CMI/CMB est égal à 2, l'extrait donc exerce une action bactéricide sur les souches.

I.3.2- Evaluation de l'activité antibactérienne par la technique de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme)

Tableau 04 : Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait éthanolique pour les souches bactériennes.

Concentration de l'extrait (mg/ml)	Les zones inhibitions de l'extrait (mm)													
	<i>B. cereus</i>	<i>S. enterica</i>	<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>C. freundii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. fetus</i>	<i>P. multocida</i>	<i>E. cloacae</i>
241	17	17	15	6	8	23	19	12	8	12	15	7	19	7
120.5	6	6	8	6	6	24	17	6	6	12	6	6	6	6
60.25	15	10	8	6	6	23	8	6	6	12	12	6	6	6
30.12	14	6	6	6	6	6	15	6	6	6	8	6	6	6
15.06	10	6	6	6	6	6	14	6	8	6	8	6	6	6
7.53	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	8	6	6	6
3.76	12	6	8	6	6	23	6	6	6	6	7	6	12	6
1.88	6	6	6	6	6	6	8	6	6	6	6	6	6	6
0.94	6	6	6	6	6	6	12	6	8	6	12	6	6	6
0.47	6	6	7	6	6	6	15	6	6	6	6	6	6	6

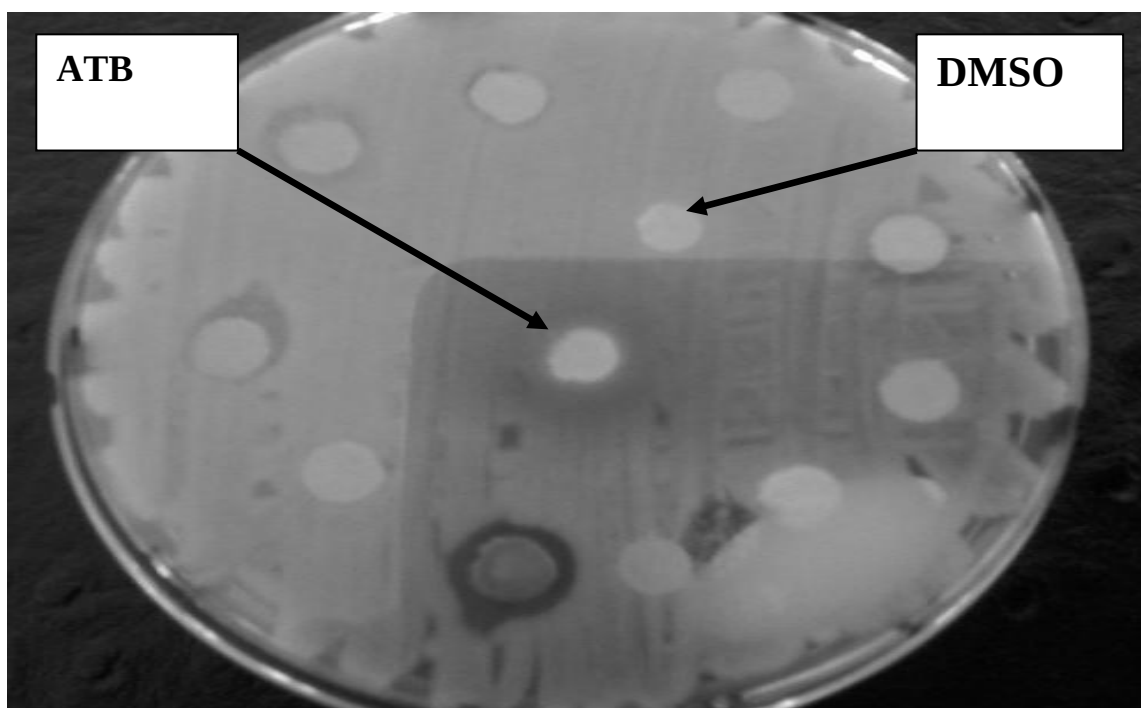
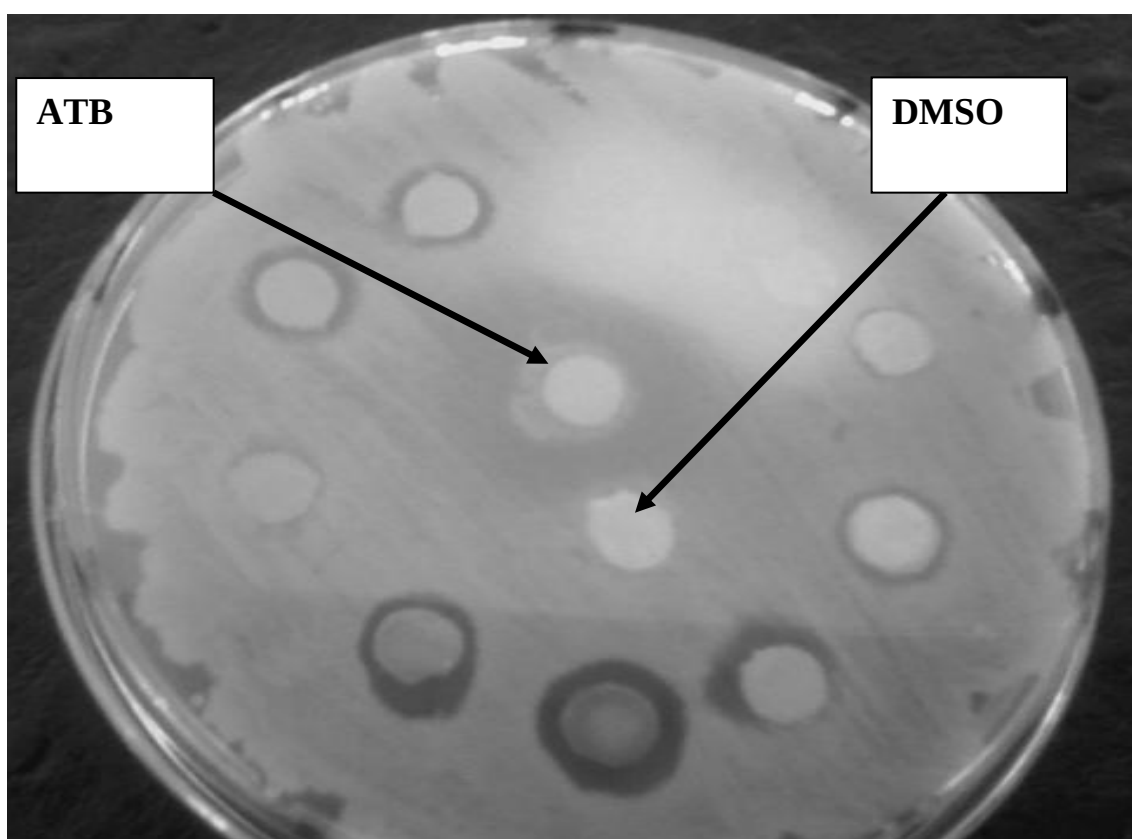
*B. cereus**K. pneumonia*

Figure24 : les zones d'inhibition d'extrait éthanolique et antibiotique des souches bactériennes.

Les résultats relatifs à l'évaluation de l'activité antibactérienne d'extrait ETOH de *salvia argentea* sur les souches des bactéries de référence sont présentés dans le tableau 05.

- L'extrait ETOH ne montre aucune activité antibactérienne vis-à-vis de la souche *S. aureus*. Ce résultat montre que la souche *S. aureus* est une souche connue pour sa résistance, elle s'est révélé résistante aussi à l'extrait ETOH de *salvia argentea*
- L'extrait ETOH montre une activité antibactérienne élevée vis-à-vis de la souche *B. cereus* à partir de la concentration 3,76 mg/ml jusqu'à 241 mg/ml avec des diamètres des zones d'inhibition allant à 12 mm à 17 mm, Ce résultat montre que la souche *B. cereus* est une souche très sensible à l'extrait ETOH de (S.a) .
- L'extrait ETOH montre une activité antibactérienne élevée vis-à-vis de la souche *P. multocida* à des concentrations 241 mg/ml avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de 19 mm. Ce résultat montre que la souche *P. multocida* est une souche très sensible à forte concentration
- L'extrait ETOH montre une activité antibactérienne très forte vis-à-vis la souche *K. pneumonia* à partir de la concentration 0.47 mg/ml avec un diamètre de la zone d'inhibition de 15 mm allant à 17 et 19 mm pour les fortes concentrations. Cela nous laisse déduire que la souche *K. pneumonia* est une souche très sensible à l'extrait ETOH de *salvia argentea*.
- L'extrait ETOH montre une activité antibactérienne très forte vis-à-vis la souche *P. aeruginosa* à une concentration supérieure à 3.76 mg/ml, le diamètre d'une zone d'inhibition variant entre 24 mm à 23 mm pour les concentrations de 120,5 mg/ml et 241 mg/ml respectivement. Ce résultat montre que la souche *P. aeruginosa* est une souche très sensible à l'extrait ETOH de *salvia argentea*
- L'extrait ETOH ne montre aucune activité antibactérienne vis-à-vis la souche *E. cloacae* à concentration 241 mg/ml le diamètre de zone d'inhibition est de 6 mm. La souche *E. cloacae* est une souche connue pour sa résistance.
- L'extrait ETOH ne montre aucune activité antibactérienne vis-à-vis la souche *C. fetus* à la concentration de 241 mg/ml avec un diamètre de la zone d'inhibition de 6 mm. Ce résultat montre que la souche *C. fetus* connue pour sa résistance est résistante aussi à l'extrait ETOH de *salvia argentea*.

- L'extrait ETOH ne montre aucune activité antibactérienne vis-à-vis la souche *C. freundii* à la concentration de 241 mg/ml le diamètre de la zone d'inhibition est de 6 mm. . Ce résultat montre que la souche *C. freundii* connue pour sa résistance est résistante aussi à l'extrait ETOH de (*S.a*).
- L'extrait ETOH montre une activité antibactérienne élevée vis-à-vis la souche *B.subtilis* à une concentration de 0,94 mg/ml le diamètre de la zone d'inhibition est de 12 mm. Ce résultat montre que la souche *B.subtilis* est une souche sensible à l'extrait ETOH de (*S.a*).
- L'extrait ETOH ne montre aucune activité antibactérienne vis-à-vis de la souche *E. faecalis* aux faibles concentrations de 0,47 mg/ml jusqu'à 30,15 mg/ml. À une concentration supérieure ou égale à 60,25 mg/ml une activité antibactérienne a été observée avec des diamètres des zones d'inhibition de 12 mm pour les autres concentrations. Ces résultats montrent que la souche *E. faecalis* est une souche sensible aux fortes concentrations de l'extrait ETOH de *salvia argentea*.
- L'extrait ETOH ne montre aucune activité antibactérienne vis-à-vis la souche *L. monocytogenes* à toutes concentrations. Ce résultat montre que la souche *L. monocytogenes* connue pour sa résistance est résistante aussi à l'extrait ETOH de *salvia argentea*.
- L'extrait ETOH ne montre aucune activité antibactérienne vis-à-vis la souche *E. coli* aux concentrations 0,47 mg/ml jusqu'à 120,5 mg/ml le diamètre des zones d'inhibition est de 6 mm. A une concentration égale à 241 mg/ml le diamètre de la zone d'inhibition est de l'ordre de 15 mm montrant ceci implique une activité antibactérienne forte. Ces résultats montrent que la souche *E. coli* connue pour sa résistance s'est révélée sensible à l'extrait ETOH de *salvia argentea* à forte concentration.
- L'extrait ETOH ne montre aucune activité antibactérienne vis-à-vis de la souche *S. typhimurium* aux faibles concentrations de 0,47 mg/ml jusqu'à 120,5 mg/ml. A une concentration de 241 mg/ml nous avons noté l'apparition de zone d'inhibition d'un diamètre de 12 mm montrant une activité antibactérienne élevée de l'extrait ETOH de *savia argentea* aux fortes concentrations. Ces résultats montrent que la souche *S. typhimurium* qui est connue pour sa résistance s'est révélée sensible à l'extrait ETOH de *salvia argentea* à forte concentration.

- L'extrait ETOH ne montre aucune activité antibactérienne vis-à-vis de la souche *S. enterica* aux concentrations inférieure à 60,25 mg/ml. A une concentration de 241 mg/ml nous avons noté l'apparition d'une zone d'inhibition d'un diamètre de 17 mm montrant ainsi une activité antibactérienne élevée de l'extrait ETOH de (S.a) à des fortes concentrations. Ces résultats montrent que la souche *S. enterica* connue pour sa résistance s'est révélée sensible à l'extrait ETOH de *salvia argentea* à forte concentrations.

Les tests de sensibilité des souches on permis de montrer l'existence d'une forte activité antibacterienne .Ainsi les souches à Gram- : *P. multocida* *K. pneumonia* *P. aeruginosa* et à Gram+ *B. cereus*,*B subtilis*, ont été les plus sensibles à l'extrait éthanolique avec des diamètres d'inhibition allant de 12 à 24mm aux concentrations de 0,94 mg /ml et 241mg /ml respectivement.

L'activité d'une substance végétale dépend de plusieurs facteurs dont le mode d'extraction et la concentration en principe actif (14 ,15). Aussi, faut-il rappeler que les traveaux sur *Salvia argentea* dans le domaine antimicrobien sont très rares voir inexistantes.

Nos résultats peuvent être confirmé alors avec les recherches (**d'El fahem et al ; (2010)**), qui en testant l'effet inhibiteurs de quelques plantes médicinale libanaises,parmis lesquelle des plantes du genre *Salvia*, révèlent que les plantes aux activités antimicrobiennes les plus élevées étaient *Salvia officinalis*, *Pistacia atlantica*, *Arbutus pavarii* et *myrtus*,

Les résultats montrent que l'extrait est inactif sur trois souches des bactéries à Gram- *C. fetus* *E. cloacae*, *C. freundii* et deux souches des bactéries à Gram+ : *S. aureus* et *L. monocytogenes*. Ces germes présentent une résistance. Ces résultats sont confirmés par de nombreuses expériences (**Cosentino et Tuberoso, 1999, De-Billerbeck, 2002**) ayant montre que les bactéries à Gram- sont plus résistant aux extraits végétaux que les bactéries à Gram+.

Trois souches bacteriennes à Gram- et une souche à gram+ : *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. enterica* et une souche à gram+ : *E. faecalis*,on montré une sensibilité intermediaire assez marquée pour les concentrations dépassant 60,25mg/ml avec des diametres d'inhibition allant à 17mm

La sensibilité de ces germes à notre extrait peut constituer donc une piste sérieuse pour trouver un remède ou un moyen naturel et efficace contre ces bactéries pathogènes multi résistantes.

I.4- Evaluation du pouvoir antifongique d'extrait ETOH de *salvia argentea* :

I.4.1- Evaluation de l'activité antifongique par la technique de micro-dilution sur milieu liquide :

Tableau05 : les concentrations de **CMI** : concentration minimale inhibitrice, **CMF** concentration minimale fongicide.

	<i>C. albicans</i> ATCC 10251	<i>C. albicans</i> ATCC 444	<i>C. albicans</i> ATCC 26790
CMI	60,5	121	7,56
CMF	60,5	121	7,56
CMF/CMI	1	1	1

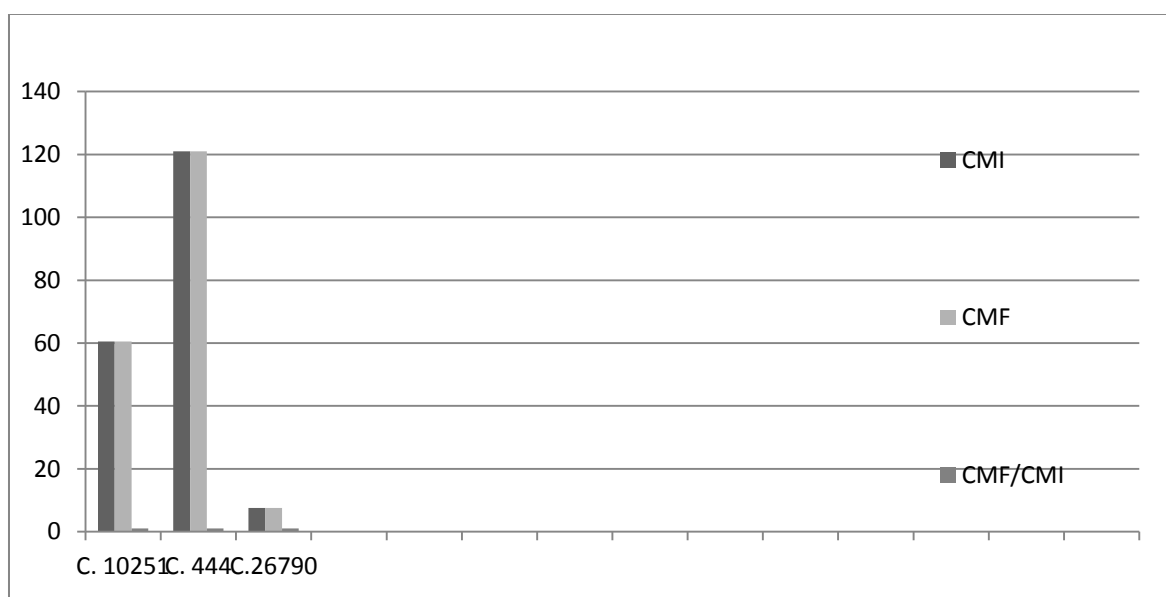


Figure 25: Résultat des CMI et CMF de l'extrait éthanolique de *salvia argentea* vis-à-vis des souches fongique.

CMI: concentration minimale inhibitrice, **CMF** : concentration minimale fongicide.

La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'extrait ETIOH

(S.a) vis-à-vis Trois souches des levures est réalisée par la méthode des micro- dilutions.

Les résultats concernant la détermination des concentrations minimales inhibitrice (CMI) montre que l'extrait de *salvia argentea* a un effet inhibiteur avec une concentration 121 mg/ml vis-à-vis *Candida albicans* (IPP444), et une concentration de 60.5 mg/ml vis-à-vis *Candida albicans* ATCC 10251, une concentration de 7.56 mg/ml vis-à-vis, *Candida albicans* ATCC 26790.

Pour déterminer la nature fongicide ou fongistatique de nos l'extrait éthanolique de *salvia argentea* nous avons calculé le rapport (CMF/CMI) (Tableau.5) Si ce rapport est inférieur ou égal à 2, l'extrait est considérée comme fongicide; si ce rapport est supérieur à 2, l'extrait est considérée comme fongistatique (Derwiche et coll. 2010).

Nos résultats ont montré aussi que toutes les valeurs de CMI sont équivalentes à celles de CMF vis-à-vis toutes les souches testées.

D'après nos résultats, le rapport CMF/CMI vis-à-vis des 3 souches : *C. albicans* ATCC 10251 *C. albicans* ATCC 444 *C. albicans* ATCC 26790 .le rapport CMI/CMF à est inférieur 2, l'extrait est donc exercer une action fongicide sur les souches.

I.4.2- Evaluation de l'activité antifongique par la technique de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme) :

Tableau06 : Diamètres d'inhibition d'extrait de *salvia argentea* pour les souches fongiques.

	Concentration de l'extrait (mg/ml) Les zones inhibitions de l'extrait (mm)									
	242	121	60.5	30.25	15.12	7.56	3.78	1.89	0.94	0.47
<i>C. albicans</i> 25720	17	6	6	12	9	8	10	6	6	7
<i>C. albicans</i> IP444	18	12	12	15	6	10	6	6	10	6
<i>C. albicans</i> 10251	6	6	6	14	6	16	10	6	6	14

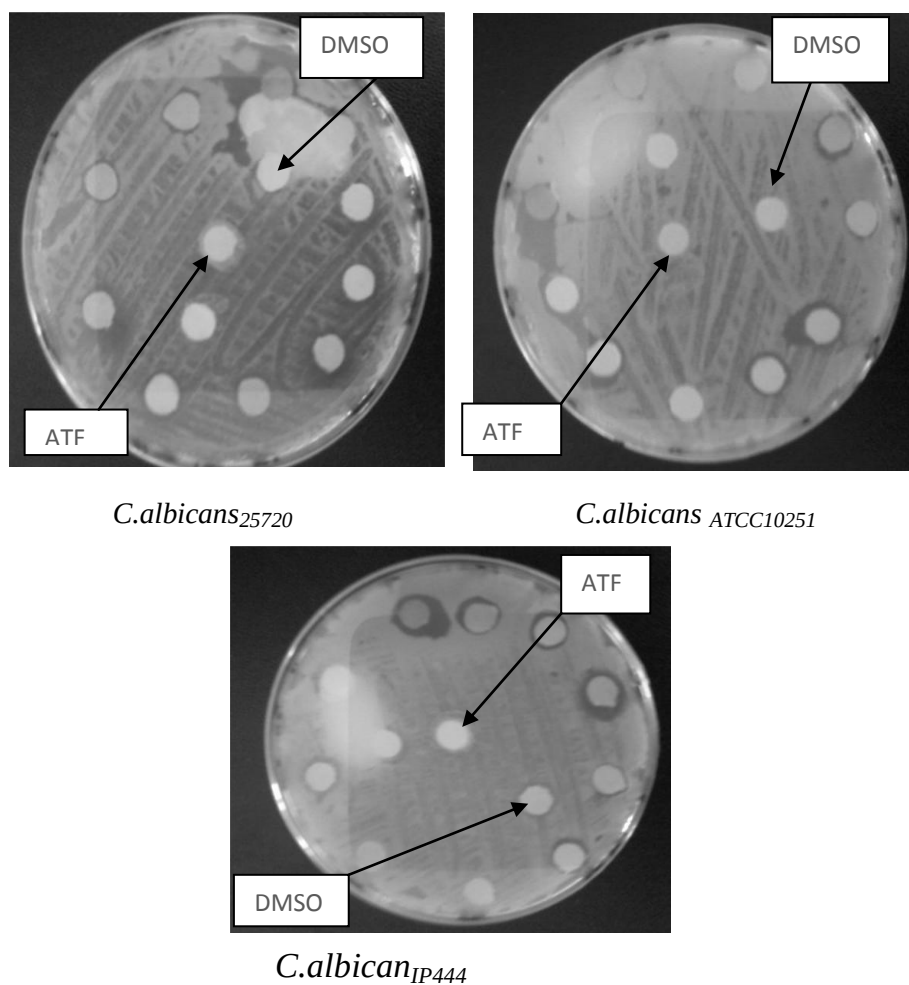


Figure 26 : les zones d'inhibition d'exttrait éthanolique et antifongique des souches fongiques

Les résultats relatifs à l'évaluation de l'activité antifongique d'extract ETOH de S.a sur les souches des levures de référence sont présentés dans le (tableau 06).

L'extract ETOH ne montre aucune activité antifongique vis-à-vis la souche *C.albicans*₂₅₇₂₀ aux concentrations 0,47 mg/ml jusqu'aux 121 mg/ml. A concentration supérieure 242 mg/ml diamètre d'une zone d'inhibition 17 mm montrent une activité antifongique forte.

L'extract ETOH montre une activité antifongique élevée vis-à-vis la souche *C.albicans* ATCC10251 à concentration 0,94 mg/ml diamètre d'une zone d'inhibition 14 mm.

L'extract ETOH montre une activité antifongique modeste vis-à-vis la souche *C.albican*_{IP444} à concentration 0,94 mg/ml. A concentration supérieure 30,25 mg/ml diamètre d'une zone d'inhibition 15 mm montrent une activité antifongique forte.

Conclusion Générale

De nos jours, un grand nombre des plantes aromatiques et médicinales possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer des activités antibactériennes et antifongiques de l'extrait éthanolique de *Salvia argentea*. L'obtention de l'extrait ETOH a été réalisée par la méthode de macération. Le rendement d'extrait éthanolique a été de 2.12 %.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur quatorze souches bactériennes et trois souches fongiques, selon la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme) et la méthode de micro-dilution sur milieu liquide. L'extrait a montré une activité antibactérienne remarquable pour la majorité des souches l'étude de l'activité antifongique montre que les levures testés sont toutes sensibles à l'extrait car elles n'ont montré aucune croissance selon les résultats de CMF. Nous en déduisons que l'effet de cet extrait ETOH est fongicide.

L'étude de l'activité antibactérienne par la méthode de micro-dilution sur milieu liquide indique que l'huile essentielle testée ne montre aucun effet sur les souches bactériennes ce qui témoigne de leur résistance. Contrairement à l'extrait qui a montré une activité antibactérienne intéressante sur les souches testés (*B.cereus*, *P.multocida*, *K.pneumonia*, *P.aeruginosa*, *B. subtilis*, *E. faecalis*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. enterica*)

A la fin de cette étude, nous retiendrons que l'extrait biologique de notre plante exerce un effet bactéricide et fongicide sur les souches étudiées et pourrait par conséquent être utilisé dans le traitement des maladies infectieuses après des études plus approfondies.

Références Bibliographiques

Références bibliographique

- ❖ **Ahmed .K, (2005)** Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae p106.
- ❖ **Ati. S, (2010)** Cartographie de l'aire de répartition de l'espèce *Genista numidica ssp numidica* et sa valeur biologique dans l'Est algérien.
- ❖ **Bankaddour, Z, (2015)** Contribution à l'étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles d'*Artemisia judaica* et du *Pituranthos scoparius* p30.
- ❖ **Boudjouref. M, (2011)** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L p45.
- ❖ **Boumediene. N, Agha .O, (2014)** Contribution à l'étude de l'activité biologique d'une espèce du genre *Rata* de Djebel Tessala (Algérie occidentale) et à la faisabilité d'un Plan de conservation.p46
- ❖ **Boutheina .A , (2011)** Etude comparative de trois variétés d'huiles Essentielles de menthe dans la région d'Ouargla.
- ❖ **Cavallo .J.D, Chardon .H, Chidiac .C, Courvalin .P, Dabernat .H, (2008)** comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie recommandations p46
- ❖ **Dahmani.H,(2009)** Etude du pouvoir antimicrobien des extraits bruts de l'algue *cystoseirastrictade* la côte ouest algérienne (plage de Madrid) p16.
- ❖ **Frédéric .B, (2011)** es questions et travaux de recherche nécessaires au développement de la filière ; exemple de l'apport des sciences cognitives à la production/valorisation des métabolites secondaires d'intérêt.p18
- ❖ **Frouhat.z, Lahcini .b, (2013)** Lutte biologique par l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* p20,p23
- ❖ **Hassaine. S, (2013)** Etude de la résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques au niveau du CHU de Tlemcen.p14
- ❖ **Hayat. B, Khedidja .A, (2015)** Etude de l'activité Antibactérienne des extraits de *Pistacia lentiscus* p11, p13.p55

- ❖ **Hayate. B, Khalid. El B, Touriya .Z, Jalila.E, Said.Ch, Tajelmolk. A (2014)** Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa* p13.
- ❖ **Hellal .Z, (2011)** contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur la sardine (*Sardine pilchardus*).p 4
- ❖ **Hellal.A,(2013)** Recherche de *Campylobacter* dans la volaille en Algérie : Etude du profil d'antibiorésistance.
- ❖ **Mebarka. L, (2014)** Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb.
- ❖ **Merouane. A. (2014)** Caractérisation, activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de trois espèces de sauges (*salvia algeriensis*, *salvia argentéa* et *salvia barrelieri*. Université Hassiba bne bouilide-chlaf, algérie.p10
- ❖ **Mohammedi .Z, (2013)** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie
- ❖ **Mostefa. M, Messaoud. B,et Amel. B, (2009)** Etude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du Miel naturel récoltes du territoire algerien
- ❖ **Nadia. B, (2009)** Caractérisation phénotypique et génotypique d'isolats de *Salmonella* Typhimurium provenant de porcs sains ou septicémiquesP7
- ❖ **Naïrouz .B, (2015)** Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de-Plantes Médicinales Seules et Combinées.
- ❖ **Noureddine .H, (2010)** Evaluation de l'activité antifongique et antibactérienne et de la cytotoxicité de quatre conservateurs :Imidazolodinyl urée, Diazolidiny urée,GermabenIIet Bromure de N-cétyl-N,N,N-triméthylammonium p51,p55,p56
- ❖ **Pelin .B, Cănan .Ö, and Kâmuran A, (2008)** The Morphological and Anatomical Properties of *Salvia argentea* L. (Lamiaceae) in Turkey.

- ❖ **Rabia.G, Warda.KH, (2014)** Traçabilité de l'identification des métabolites secondaires végétaux.
- ❖ **Riccobono .L, Maggio. A, (2015)** Chemical composition of volatile and fixed oils from of *Salvia argentea* L. (Lamiaceae).
- ❖ **Sarah.L, (2011)** Recherche de substances à activités antimicrobiennes antibactériennes et anticandidoses) produites par des souches levuriennes isolées des sols sahariens.p23
- ❖ **Sassia. M,(2014)** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *rosmarinus officinalis*. p15
- ❖ **Somia. K, (2014)** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits des noyaux des dattes variété «Ajwa ».p15
- ❖ **SOUMIA .D, (2009)** Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L.
- ❖ **Traoré.Y, Ouattara.K, Yéo. D, Doumbia.I, Coulibaly.A, (2012)** Recherche des activités antifongique et antibactérienne des feuilles d'*Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae) p 4236.
- ❖ **https://fr.wikipedia.org/wiki/Salvia_argentea**
- ❖ **<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>**
- ❖ **http://wimastergardener.org/?q=Salvia_argentea**

Annexes

1- Milieux de culture

Eau physiologie

Na Cl	9g
Eau distillée	1000ml

Gélose Sabouraud

Peptone	10g
Glucose	40g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml

pH 7,0

Suspendre la poudre dans un litre d'eau distillée, en suite chauffer sous agitation jusqu'à ébullition pour la dissolution totale du milieu et stériliser par autoclavage à 121 °C pendant 15 min.

Bouillon Sabouraud

Peptone	10g
Glucose	40g
Eau distillée	1000ml

pH 7,0

Suspendre la poudre dans un litre d'eau distillée, chauffer si c'est nécessaire pour la dissolution totale du milieu et stériliser par autoclavage à 121 °C pendant 15 min.

Bouillon nutritif

Peptone	10 g
Extrait de levure	5 g
Na Cl	5 g
Eau distillée	1000 ml

pH = 7,2

Suspendre 25g de la poudre dans un litre d'eau distillée, en suite stériliser par autoclavage à 121 °C pendant 15 min

Gélose nutritive

Peptone	10 g
Extrait de levure	5 g
NaCl	5 g
Agar	15-20g
Eau distillée	1000 ml

pH 7,2

Suspendre 40g de la poudre dans un litre d'eau distillée, en suite chauffer sous agitation jusqu'à ébullition pour la dissolution totale du milieu et stériliser par autoclavage à 121 °C

Bouillon Mueller Hinton:

Infusion de viande de boeuf	2,0
Hydrolysate de caseine	17,5
Amidon	1,5
Eau Distillée	1L

pH = 7,2

Suspendre 23 g de la poudre dans un litre d'eau distillée, en suite stériliser par autoclavage à 121 °C pendant 15 min.

Gélose Mueller Hinton :

Infusion de viande de bœuf	4,0
Hydrolysate de caseine	17,5
Amidon	1,5
Agar	15,0
Eau Distillée	1L

pH = 6,8

Suspendre 38g de la poudre dans un litre d'eau distillée, en suite chauffer sous agitation jusqu'à ébullition pour la dissolution totale du milieu et stériliser par autoclavage à 121 °C pendant 15 min.

Le résultat d'extrait éthanolique après décantation 24h



La phase hydro-alcoolique

La phase résiduel

1-Les photos des microplaques d'extrait de *salvia argentea* sur les souches bactériennes

<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>L.monocytogenes</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>S. enterica</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>K.pneumonia</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>C. freundii</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>S. typhimurium</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>C. fetus</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>E. faecalis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>B. cereus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>P. multocida</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>E. cloacae</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>S. aureus</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>E.coli</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

2-La photo de microplaque d'extrait de *salvia argentea* sur les souches fongiques

<i>C.albicans</i> ATCC 10251	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>C. albicans</i> (IPP444)	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>C.albicans</i> ATCC 2679	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-

3-Les photos des microplaques d'HE du citron sur les souches bactériennes:

<i>L.monocytogenes</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>B. subtilis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>C.freundii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>S.typhimurium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>K.pneumonia</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>E. coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>E. cloacae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

<i>P. multocida</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>S. enterica</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Résumé

Ce travail s'inscrit dans la perspective d'une évaluation qualitative et quantitative de l'activité antibactérienne et antifongique *in vitro* d'extrait de *salvia argentea* vis-à-vis des souches bactériennes et antifongiques associées à plusieurs pathologies humaines.

On a commencé notre travail par l'extraction d'extrait (ETOH) 70% de *salvia argentea* le rendement obtenu est 2.12%.

Les testes antibactériens et antifongique d'extrait biologique été opérés sur les souches pathogènes suivant deux méthodes, les résultats montrent que nos extrait a une action bactéricide et fongicide vis-à-vis des souches étudiées.

Les plantes médicinales constituent une source de nouvelles molécules à activité antibactérienne et antifongique économiquement accessibles pour faire à l'apparition de phénomène de résistance et sensible des germes aux antibiotiques.

Mot clés : extrait éthanolique, *salvia argentea* , activité antibactérienne, activité antifongique.

Summary

This work falls under the prospect for a qualitative and quantitative of antibactérienne activity and antifongic evaluation *in vitro* of the `extracted from *salvia argentea* Screw-with - screws of the bacterial stocks and antifongic stocks associated several human pathologies.

One began our work with the extraction of the extracts (ETOH) 70%of *salvia argentea* the outputs obtained 2.12% .Test antibacterial and antifongic deferent extracts biological summer operated on the pathogenic stocks according to two methods, the results show that our extracts testified to an action bactericide and fungicide screw-with - screw of the studied stocks.

The medicinal plants constitute a source of new molecules with antibacterial activity and antifongic economically accessible to make with the appearance of phenomenon of resistance and sensitive of germs to antibiotics.

Key word: vegetable extracts, *salvia argentea*, pathogenic, antibactérienne activity, antifongic activity.

المخلص

هذا العمل هو جزء من التقييم النوعي والكمي مستخلصات فراش ندى واستعمالها كمضاد حيوي للسلاطات البكتيرية و الفطريات المرتبطة مع العديد من الأمراض التي تصيب الانسان.

بدأنا عملنا من خلال استخراج مستخلصات فراش ندى *salvia argentea* 70% ETOH الحصول على مردودية 2.12% النتائج تبين أن سلاطات البكتيريا و الفطريات المدروسة كانت مقاومة و اخرى حساسة لهذا المستخلصات وتبين أيضا أن حساسيتها متعلقة بتركيز هذه الأخيرة.

ومن هذه التجارب البيولوجية نستنتج أن الأعشاب الطبية تشكل لنا منبع جديد في المضاد الحيوية.

الكلمات المفتاحية : النشاط المضاد للبكتيريا و المضاد للفطريات ، مستخلص الايثانول ، فراش ندى