REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE Dr. TAHAR MOULAY SAIDA
FACULTE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
Master en Biologie

OPTION : Biotechnologie Végétale

Présenté Par :Herbadji Assma

THEME :

Contribution à l'évaluation de l'effet antibactérien et antifongique des huiles essentielles et la décoction de *Salvia argentea*

Soutenu le 09/10/2016 devant la commission d'examen :

*Mr HACHEM Kadda	Maitre Conférence « B »	Président
*Mme BEN ABDESSLEM Yasmina.	Maitre-assistante « A »	promotrice
*Melle CHIKHI Amira	Maitre-assistante « A »	Examinatrice

Année Universitaire : 2015-2016.

Remerciements

Mon infinie gratitude et mes remerciements vont à l'endroitdeMme BEN ABDESSLEM Yasmina,qui m'a fait l'honneur d'encadrer ce travail et lequel il n'aménagé aucun effort malgré ses nombreuses responsabilités.

J'exprime mes sincères remerciements et ma profonde reconnaissance à Mr HACHEM Kadda, qui m'a honoré de sa présence en acceptant de présiderle jury de cette soutenance.

Mes remerciements et mes profondes considérations vont à l'endroit deMelle CHIKHI Amira, qui a accepté de donner des critiques sur ce mémoire et de m'éclairer avec leurs commentaires.

A mes enseignants et enseignantes qui nous ont aidés durant nos études universitaire.

Au responsable du laboratoire, qui m'a accepté de m'accueillir, et de mefaciliter mon intégration dans le milieu de la pratique, j'exprime mes gratitudes.

Enfin, mes remerciements vont vers toutes les personnes qui, de près ou deloin m'ont apportés leur soutien, leur conseil etleur contribution dansl'édification de ce mémoire.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

Aux deux être le plus chers au monde, qui ont souffert nuit et jourpour nous couvrir de leur amour, mes parents.

A mon père "Mohamed" pour son patient avec moi et son encouragement.

A ma source de bonheur, la prunelle de mes yeux, ma mère "Kheira".

Que le bon ALLAH vous garde en bonne santé.

Je dédie aussi ce modeste travail :

A mes sœurs : Soumia .Faiza.Amina .

A mes chers frères : Moulay.Mahfoud et Youcef

A mes très chers petites : Noura. Nouh.Mayassa.

A toute promotion Biotechnologie Végétale 2016.

A tous ceux que j'aime et que je respecte.

Résumé

Notre travail porte sur l'étude de l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle et la décoction de la plante Salvia argentea. L'extraction d'huile essentielle a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation. Le test d'activité antibactérienne sur huit souches bactériennes (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus résistant à la méticilline, Pasteurella multocida, Klebsiella pneumonia, Enterobacter cloacae, Citrobacter freundi et Salmonella enterica.), et fongiques (Candida albicans et Saccharomyces cerevisiae).

(Les résultats montrent que l'huile essentielle du *Salvia argentea* possède une forte activité antibactérienne avec des diamètres d'inhibition varie entre 8 et 15 mm. Et l'extrait aqueux possède une faible activité antibactérienne avec des diamètres d'inhibition varie entre 6 et 8 mm.

L'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles et de la Décoction du Salvia argentea a été réaliser par la méthode d'aromatogramme(la méthode de diffusion des disques).

Mots clés : Extraction,Hydrodidtillation,Salvia argentea, huile essentielle, décoction,activité antibactérien, activité antifongique,inhibition,CMI.

Summary

Résumé

Our work focuses on the study of the antibacterial and antifungal activity of the essential oil and a decoction of the plant Salvia argentea. The essential oil extraction was performed by the method of hydrodistillation.et decoction

The antibacterial activity test on eight bacterial strains (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus résistant à la méticilline, Pasteurella multocida, Klebsiella pneumonia, Enterobacter cloacae, Citrobacter freundi et Salmonella enterica.), and fongical (Candida albicans et Saccharomyces cerevisiae).

The results showed that the essential oil of Salvia argentea has a strong antibacterial activity with inhibition diameters between 8 and 15 mm. And the aqueous extracthas little antimicrobial activity with inhibition diameters vary between 6 end 8 mm.

The antibacterial and antifungal activity of essential oils and decoction of Salvia argentea was performed by the method aromatogramme (Disk diffusion method).

Keywords: Extraction, Hydrodidtillation, Salvia argentea, essential oil, decoction, antibacterial, antifungal activity, inhibition, CMI.

الملخص :

يركز عملنا على دراسة النشاط المضاد للبكتيريا ومضاد للفطريات للزيوت العطرية ومستخلص نبات فراش الندى.

تم إجراء استخراج الزيوت الأساسية من خلال طريقة الغلي و عملية التقطير ببخار الماء

لاختبار النشاط المضاد للبكتيريا على ثمانية سلالات بكتيرية (المكورات العنقودية الذهبية، مثسلين-resstant-sataphylococcus الذهبية Klebsilla الالتهاب الرئوي، أمعائية المذرقية، الليمونية الفروبندية، Salmonalla enirica والعنق القولونية، المتقلبة الرائعة، الأمعائية cloaceai، المكورات المعوية البرازية)، وثلاثة سلالة الفطرية (C.albicans، S.cervisiae).

وأظهرت النتائج أن الزيت الأساسي لنبات فراش الندى لديه نشاط مضاد للجراثيم قوي بأقطار تثبيط بين 8 و 15 ملم. والمستخلص المائي لديها القليل من النشاط البكتيري بأقطار تثبيط تختلف بين6 و 8 مم.

تم تنفيذ النشاط المضاد للبكتيريا ومضاد للفطريات لزيوت الأساسية و المستخلص المائي لنبات فراش الندى بطريقة (aromatogramme).

كلمات البحث: استخلاص,التقطير المائي,الزيوت الأساسية,الزيوت الأساسية,فراش الندى ، مغلي، مضاد للجراثيم، مضاد للفطريات النشاط، الحد الأدنى للتركيز المثبط، CMI.

Liste des figures

- **Figure n°01:**coloration Gram de S.aureus……4
- **Figure n°02 :**culture de S.aureus…….. 4
- **Figure n°03:**coloration Gram d'Eoli (G^-)……5
- **Figure n°04 :** coloration Gram d'Eoli (G^-) Grossissment×15000……5
- **Figure n° 05:**distilation traditionnelle des fleurs de roses(Rosa damascenna)……...12
- **Figure n°06 :**répartition géographique du genre *Salvia argentea* dans le monde……..13
- **Figure n°07 :***Salvia argentea*……*14*
- **Figure n°08:**photo des feuilles de *Salviaargentea*…….. ……*14*
- **Figure n° 09 :***Salvia argentea*dans leur lieu de récolte…….. ……..*15*
- **Figure n°10 :**fleure de *Salvia argentea*……15
- **Figure n°11 :** tige de *Salvia argentea*…… ….16
- **Figure n°12:**lieu de récolte (ainzarga)…… …… ……. ..*32*
- **Figure n°13:**feuilles séchés de *Salviaargentea*…….. ……..*34*
- **Figure n°14 :** feuilles broyée de*Salviaargentea*……..*34*
- **Figure n°17:**les étapes de décoction de broyat des fuilles de *S.argentea*……*35*
- **Figure n°18:**Décoction de *S.argentea*……*35*
- **Figure n°19:**méthode de diffusion sur disque…… *39*
- **Figure n°20:**Ré-isolement des souches des Bactéries…….. *39*
- **Figure n°21:**Ré-isolement des souches des levures…… *39*
- **Figure n°18:**Aromatogramme……*40*
- **Figure n°19:**utulisation de la microplaque……..*41*
- **Figure n°20:**solution décoctée de *S.argentea*……*43*
- **Figure n°21:**Biote pétri d'E.*coli*……..*45*
- **Figure n°22:** Biote pétri de S.aureus……..……..*45*

- **Figure n°23:** Biote pétri de M-resstant-S.aureus……..*45.*
- **Figure n°24:**Biote pétri de P.multocida…… *45*
- **Figure n°25:**Quelques effets antibactériens des huiles essentielles……*46*
- **Figure n°26:**effet des HE sur C.albicans$_1$……*46*
- **Figure n°27:** effet des HE sur C.albicans$_2$……*46*
- **Figure n°28:** effet des HE sur S.cervicea……*47*
- **Figure n°29 :**effet de décocté C.albicans$_1$……*49*
- **Figure n° 30 :**effet de décocté C.albicans$_2$……*49*
- **Figure n°31 :**effet de décocté sur S.cervisea……*49*

Liste des tableaux

Tableau 1 : Récapitulation des principales huiles essentielles produits et des principaux pays producteurs dans le monde 2008…….23

Tableau 2:la date et l'origine de récolte……33

Tableau3 :listes des différentes souches testé……..34

Tableau4:répartoire des résultats obtenus par la méthode des aromatogrammes (effet des HE sur les bactéries)……48

Tableau 5 :répartoire des résultats obtenus par la méthode des aromatogrammes (effet des HE sur les levures)……49

Tableau 6 : répartoire des résultats obtenus par la méthode des aromatogrammes (effet de décocté sur les bactéries)……51

Tableau 7: répartoire des résultats obtenus par la méthode des aromatogrammes (effet de décocté sur les levures)……53

Table des abréviations :

Abréviation	Signification
S.argentea	***Salvia argentea***
AFNOR	**Association Française de Normalisation**
S.aureus	**Staphylococus aureus**
M-resstant-S.aureus	**Methicillin-resstant-staphylococcus aureu**
P.multocida	**Pasteurellemultocida**
K.pneumonia	**Kleebsiellapneumonia**
E.cloacea	**Entrobactercloacea**
C.Freundii	**CitrobacterFreundii**
S.enterica	**Salmonella entirica**
E.coli	**Escherichia coli**
C.Albicans	**Candida Albicans**
S.cervisiae	**Saccharomyces cervisiae**
GN	**Gélose nutritif**
BN	**Bouillonnutritif**
MH	**Muëller Hinton**
MHB	**Muëller Hinton Bouillon**
HE	**Huile essentielle**
RHE	**Le rendement de l'huile essentielle**
CMI	**Concentration Minimale inhibitrice**
CMB	**Concentration Minimale Bactéricide**
C°	**Degré Celsius**
Cm	**Centimétre**
mm	**Millimètre**
µl	**Microlitre**
ml	**Milliliter**
min	**Minute**
DMSO	**Dimethylsulfoxide**
L	**Litre**
M	**Masse de la matiére végétale**
M'	**Masse de l'huile essentielle**
N°	**Numéro**
H	**Heur**
UFC	**Unités Formant Colonies**

Table des matières

-Remerciement

-Dédicace

-Listes des figures

- Listesdes tableaux

- Table des abréviations

-Résumé

-Introduction Générale**…….. 01**

La partiesI: Etude bibliographiques

CHAPITRE I :*Salvia argentea*

I-1-Introduction**……...**03

I-3.Matériel bactérien……03
I-3-1.Staphylococcus aureus……03
A) Classification……03
B) Généralités……04
I-3-2.Escherichia coli……04
A)Classification……05
B)Généralités……05
I-3-3.Enterobacter cloaceai……05
I-3-4.Klebsilla pneumonia……05
I-4.Le matériel fongique……06
I-4-1.Candida albicans……06

I-2- Méthodes d'Extraction Traditionnelles……..09

I-2-1- Infusion……. 10
I- 2-2- Décoction…….. …… 10
I- 2.3- Macération…… 11
I- 2-4- Distillation……11
I-3-Famille des Lamiacées……12
I.4-Présentation de genre Salvia……12
I-5-Généralités sur la Salviaargantea ……13
I-6-Classification de *Salviaargentea* ……13
I.7-Description botanique ……15
I-7-1- feuilles……15
I-7-2-Fleurs……..15
I-7-3-tiges ……16

CHAPITRE II :*LES HUILES ESSENTIELLES*

II-1-Bref historique……22
II-2- Définition……22
II-3- Production mondiale des huileessentielles……23
II-4- Localisation de l'huile essentielle dans la plante……14
II-5- Le rôle des huiles essentielles……25
II-6- Propriétés physiques……25
II-7- Composition chimique……26
II-8- Facteurs influençant la composition chimique……27
II-8.1- Les facteurs intrinsèques……27
II-8.2- Les facteurs extrinsèques……27
II-9- Toxicité des huiles essentielles……28
II-10- Activités biologiques des huiles essentielles……28

II-10.1- Activité antioxydante……29
II-10.2- Activité antibactérienne……30
II-10.3- Activité antifongique……30
II-11- Méthode d'extraction des huiles essentielles……30
II-11.1- Extraction par entraînement à la vapeur d'eau…….30
II-11.2- Extraction par hydro distillation d'huile essentielle……30
II-11.3- Expression à froid……31
II-11.4- Extraction par solvants organiques…….31
II-11.5- Extraction par fluide à l'état supercritique……31

La parties II: Etude bibliographiques

CHAPITRE I :*Matériels et méthodes*

I-1. Objectif ……32
I-2. Matériel biologique……32
I-2.A-Choix des plantes ……32
B-La récolte des plantes ……32
I-C-La consevation des plantes ……33
I-C.1-Préparation de plante ……35
I-6. Préparation de solution du plante par décoction ……35
I-5.Activités antibactériennes ……37
I-5-1.Méthodes d'aromathogramme…… 37
5-1.1.Préparation des disques……37
5-1.2.Préparation des précultures ……37
5-1.3Préparation des suspensions bactériennes ……37
5-1.4Tests de l'activité antibactérienne……37
5-1.5.principe ……37
5-1.6.Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'HE……38
I-6.Méthode de diffusion sur disque (l'aromatogramme) ……38
I-7.Ré-isolement des souches bactériennes……39
I-8.Préparation de l'inoculum……39

I-9.L'ensemencement…….40

I-10.Lecture…….41

I-5.2Méthode de microdilution……41

5-2.1Préparation de l'inoculum ……40

a. Préparation de pré-culture……40
b. Préparation de la suspension bactérienne……40

5-2.3Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la méthode des micro-dilutions sur milieu liquide :

A)Activité antibactérienne……42

B)Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)……43

CHAPITRE I : *Résultats et discussion*

II-1- Caractéristiques organoleptiques ……46

II-2.Rendement de décocté ……46

II-3. Rendement des huiles essentielles……46

II-4.Activités antibactériennes des huiles essentielles de S.argentea……49

II-4.A)-pour l'E.coli ……49

II-4.B)-pour S.aureus ……49

II-4 C)-pour M-resstant-S.aureus……49

II-4 D)-pour P.multocida ……49

II-5. Activités antibactériennes de décoction de S.argentea……50

5-1.les Bactéries ……50

5-1.A)-pour S.aureus ……50

5-1.B)-pour M-resstant-S.aureus……50

5-1.C)-pour P.multocida ……..50

5-1.D)-pour K.pneumonia……50

5-1.E)-pour E.cloacea……..50

5-1.F)-pour C.freundii ……..50

5-1.G)-pour S.entirica……50

5-1.H)-pour E.coli ……50

II-5-2.Les levures ……53

5-2.A)pourC.albicans 1……53

5-2.B)pourC.albicans 2 ……53

5-2.C)pourS.cerevisea……50

II-6.Activité antibactérienne……50

II-7.Activité antifongique……53

Conclusion……59

Références bibliographiques……61

Annexes……66

Introduction Générale

I. Introduction Générale :

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales ont été le principal, voire l'unique recours de la médecine.

Les premiers traitements utilisés par l'homme étaient des préparations simples à base d'eau pour extraire les principes actifs des plantes médicinales. L'utilisation de la tisane, que ce soit infusion, décoction ou macération, est retrouvée parmi les méthodes les plus anciennes à côté des fumigations, des inhalations de vapeur, de l'application d'une solution sur le corps. La tisane n'est pas uniquement un apport d'eau. Il s'agit d'une préparation médicinale utile en médecine et en phytothérapie. L'eau permet ainsi de récupérer certains constituants actifs hydrosolubles (Goetz , 2004).

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses rites religieux. L'utilisation des plantes médicinales comme source de remède pour se soigner ou prévenir des maladies est originaire des millénaires jusqu'à la récente civilisation chinoise, indienne et du Proche-Orient.

Elle est devenue certainement un art. Au fil des siècles, la thérapeutique par les plantes s'est dissociée des pratiques magiques pour devenir empirique puis scientifique. Cela était évident au début du 19ème siècle qui marque la découverte des alcaloïdes (la morphine, la strychnine, quinine...). Dans les pays industrialisés, les recherches dans le domaine des plantes médicinales durant les dernières décennies. Néanmoins, les substances actives isolées constituent environ 25% des préparations médicamenteuses.

Actuellement les plantes aromatiques et les huiles essentielles possèdent un atout considérable et jouissent d'une popularité grâce à la découverte progressive de leurs propriétés médicinales : antibactériennes, anti - inflammatoires, antiseptiques, antivirales, antifongiques, antitoxiques, anti - tumoral, insecticides, insectifuges, tonifiantes, stimulantes, et calmantes, etc.. , ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique tels que la parfumerie, la

cosmétique, l'aromathérapie et l'agroalimentaire. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux .Le recours à la médecine traditionnelle, alternative ou complémentaire est due à diverses raisons comme par exemple : le coût relativement faible des plantes médicinales par rapport aux médicaments conventionnels, la disponibilité de ces plantes surtout dans les régions les plus éloignées et au sein des populations les moins favorisées, la résistance aux médicaments, la méfiance envers les produits de synthèse et leurs effets secondaires indésirables, l'envie de consommer « bio » et ces effets bénéfiques sur la santé, l'existence de maladies pour lesquelles il n'y a pas de traitement pharmaceutique efficace, la confirmation en laboratoire et en clinique de l'innocuité et de l'efficacité d'un nombre de plus en plus important de plantes médicinales, et l'échange culturel avec des cultures étrangères, notamment d' autres systèmes de médecine**.** (ZENASNI,2014).

En Algérie, les plantes médicinales et les remèdes n'ont jamais été totalement abandonnés et les gens n'ont jamais cessé de faire appel à la médecine traditionnelle, ce qui a conduit à maintenir une tradition thérapeutique vivante malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne. (HAMZA,2011).

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale : Méditerranéenne, Saharienne et une flore Paléo Tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques. Ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable. Les objectifs fixés sont l'inventaire ainsi que l'évaluation chimique et pharmaceutique des plantes médicinales algériennes dans le double but de valoriser et de rationaliser leur usage traditionnel et d'isoler des composés d'intérêt thérapeutique potentiel **(**BALKHIRI,2015).

-Saida, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales y posse spontanément. L'intérêt porté à ces pantes n'a pas cessé de croitre au cours de dernières années.

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est de mettre en évidence l'activité antibactérien et antifongique des huilles essentielles et la décoction de la plante aromatique de la région de Ain zarga (saida) ; *Salvia argentea* sur les souches bactériens suivantes : Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus résistant à la méticilline, Pasteurella multocida, Klebsiella pneumonia, Enterobacter cloacae, Citrobacter freundi et Salmonella enterica.), et fongiques (Candida albicans et Saccharomyces cerevisiae)Et ce en utilisant les deux méthodes :

*Diffusion sur milieu solide (aromatogramme)

*Dilution en milieu liquide (microplaque)

-Dans notre travaille nous avons retenu les bactéries suivantes :

II. Matériel biologique utilisé :

II.1. Staphylococcus aureus :

A)Classification

Règne Bacteria

Division Firmicutes

Classe Bacilli

Ordre Bacillales

Famille Staphylococcaceae

Genre Staphylococcus

Espèce Staphylococcus aureus

B)Généralités

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques, qui se divisent sur plusieurs plans pour former des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin, d'où leur nom (en grec staphylos). Ce sont des bactéries Gram positifs. Staphylococcus aureus (plus communément appelé staphylocoque doré) est l'espèce la plus pathogène du genre Staphylococcus. Elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes, de septicémies physiques (greffe, prothèses cardiaques). S. aureus se présente comme une coque en amas (grappes de raisin). Cependant il peut également être isolé, par

paires ou en très courte chaîne (Figure 1)Sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée à l'origine de son nom staphylocoque doré (Liu 2005).

Les S. aureus forment en aérobiose des colonies crémeuses, pigmentées (typiquement jaune d'or) et opaques.

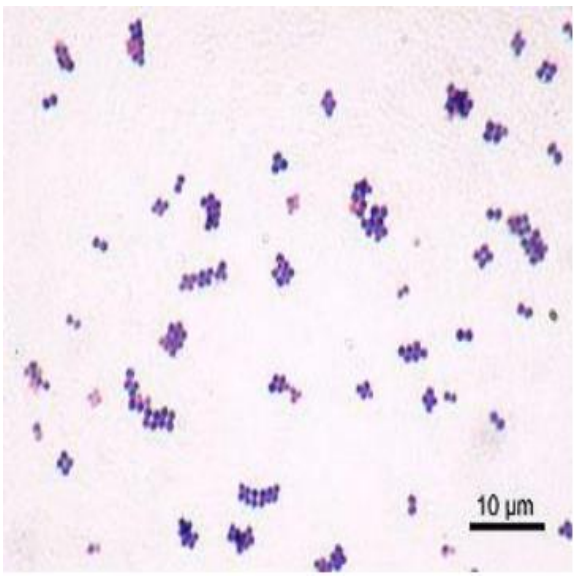


Figure N°1 : Coloration Gram de S. aureus (Gram positif) / Figure N°2 Culture de S.aureus

II.2.Escherichia coli:

A)Classification

Règne Bacteria

Embranchement Proteobacteria

Classe Gamma Proteobacteria

Ordre Enterobacteriales

Famille Enterobacteriaceae

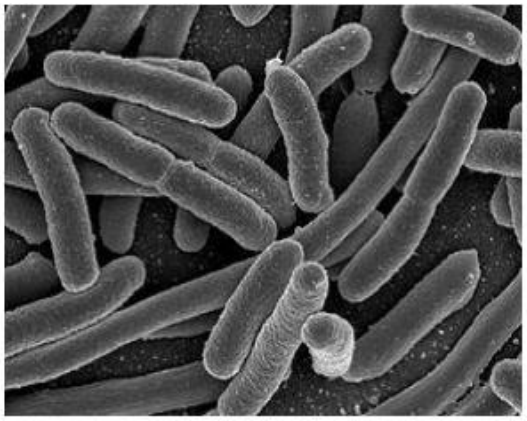
Genre Escherichia

Espèce Escherichia coli

B)Généralités :

La famille des entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif, immobiles ou mobiles par cils péritriches, quelquefois capsulés, aérobies - anaérobies facultatifs, attaquant le glucose par voie fermentaire. Les entérobactéries sont en général des hôtes normaux ou pathologiques, suivant les espèces

microbiennes, du tube digestif de l'homme et des animaux. Elles semblent plusspécifiquement adaptées à l'homme ou l'animal; certaines son t responsables d'infections humaines parfois sévères (fièvre typhoïde, dysenterie bacillaire, peste). Tandis que d'autres groupes prolifèrent en abondance dans l'environnement (sol-eaux). Elles participent aux grands cycles de dégradation des matières orga niques ou sont étroitement associées aux plantes chez lesquelles elles peuvent déterminer des altérations nuisibles dans le domaine agro- alimentaire (nécroses, dégénérescence ou ramollissement tissulaire, pourriture molle, etc). Elles sont aussi rencontré es dans les bio- industries (fermentation de fromages et produits laitiers, alcools, traitements médicaux supplétifs, industrie pharmaceutique ..). Escherichia coli découverte en 1885 par Theodor Escherich, dans des selles de nourrissons, couramment appelée "colibacille" (Figure 2). C'est une bactérie intestinale commune chez l'Homme et les animaux. Elle est recherchée comme germe témoin de contamination fécale, dans l'eau et les aliments. Certaines souches d'E. coli peuvent entrainer des gastro- entérites, infections urinaires, méningites, ou septicémies.



FigureN°3Coloration Gram d'E coli (bacilles à Gram négatif) F N° 4Grossissement × 15000

II.3.Enterobacter cloaceai

Bacilles à Gram négatif de famille Enterobacteriaceae, mobiles, non sporulésprésent dans l'environnement mais il est aussi commensal du tube digestif de l'homme et des animaux, responsable de l'infection urinaire, bactériémie, infection respiratoire, suppurations diverses et l'infection tissulaire après une plaie souillée par de la terre, il est souvent associé à Bacillus cereus (DANIELLE CLAVE, 2011).

II.4.Klebsilla pneumonia

Genre de bactérie, non mobiles de famille Enterobacteriaceae, capsulés avec des colonies à aspect de muqueuses.

Il se trouve dans les matières fécales de l'homme et des animaux, elle provoque les bronchites, broncho-pneumonies, pleurésies, infections urinaires et septicémies. (NATHALIE, 2006).

III.Le matériel fongique :

III -1.Candida albicans :

Actuellement, le genre Candida comprend 81 espèces de champignons levuriformes.Candida albicans est la plus souvent à l'origine de la plupart des manifestations pathologiques chez l'homme. On la rencontre habituellement, à l'état saprophytique, dans le tube digestif de l'homme et, par contiguïté, elle peut être retrouvée au niveau de la muqueuse vulvo-vaginal, (ou de la bouche). Mais on ne retrouve qu'exceptionnellement Candida albicansau niveau de la peau. Cette espèce est responsable de plus de 80 % des infections connues sous le terme de candidose, comme les infections superficielles cutanées, infections superficielles muco-cutanées.(GOUMNI et al,2013).

Synthèse Bibliographique

Chapitre*I*

Salvia argentea

1-Introduction :

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine. On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies (Schauenberg et Paris ,2006).

Les plantes aromatiques sont utilisées comme tous les végétaux en médecine, en parfumerie, en cosmétique et pour l'aromatisation culinaire. Elles font partie de notre quotidien sans que nous le sachions.

Il reste difficile de définir les molécules responsables de l'action, bien que certains effets pharmacologiques prouvés sur l'animal aient été attribués à des composés tels que les alcaloïdes des terpènes, stéroïdes et des composés polyphénoliques.

Aujourd'hui il a été estimé que les principes actifs provenant des végétaux représentent 25% des médicaments prescrits soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes.(MAKHLOUFI,2013).

La région méditerranéenne d'une manière générale et l'Algérie en particulier, avec son climat doux et ensoleillé est particulièrement favorable à la culture des plantes aromatiques et médicinales.

La production des huiles essentielles à partir de ces plantes pourrait constituer à ce titre une source économique importante pour notre pays Cette étude porte sur la famille des Lamiacées notamment *Salvia argentea* Cette espèce et utilisée en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques.

2- Méthodes d'Extraction Traditionnelles

L'extraction veut dire la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs,

traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. 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).

La tisane, que ce soit infusion, décoction ou macération, est un procédé d'extraction de constituants actifs des plantes médicinales. Le mot tisane vient du grec « ptisané » qui désignait orge mondé, puis tisane d'orge. L'utilisation de la plante en tisane est retrouvée

parmi les méthodes les plus anciennes à côté des fumigations, des inhalations de vapeur, de l'application d'une solution sur le corps. L'eau chaude permet ainsi de récupérer certains constituants actifs hydrosolubles (Goetz, 2004).D'autres techniques traditionnelles étaient aussi utilisées pour la récupération des principes liposolubles et aromatiques comme les huiles infusées (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).

2-1-Infusion:

C'est la forme de préparation la plus simple, elle se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et les bien tremper afin d'extraire leurs principes médicinales. Elle convient pour l'extraction de parties délicates ou finement hachées des plantes: feuilles, fleurs, graines, écorces et racines, ayant des constituants volatiles ou thermolabiles comme les huiles essentielles.

2-2- Décoction:

Elle convient pour l'extraction de matières végétales dur ou très dur : bois, écorce, racines, ou des plantes avec des constituants peu solubles (ex : l'acide silicique). Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min, pour bien extraire les principes médicinales (Baba-Aïssa, 2000; Kraft et Hobbs, 2004).

2.3- Macération:

Elle consiste à mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voir plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser. Elle convient pour l'extraction de plantes contenant du mucilage, comme les graines de lin ou les graines du plantain des sables, leur forte concentration en amidon ou pectine peut causer une gélatinisation s'ils se préparent dans de l'eau bouillante. Egalement utilisée pour empêcher l'extraction de constituants indésirables qui se dissolvent dans l'eau chaude (Kraft et Hobbs, 2004).

Elle concerne aussi les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition (Baba-Aïssa, 2000).

2-4- **Distillation**:

C'est une pratique très ancienne utilisant la vapeur d'eau pour récupérer les principes volatiles. Développée par Jabir Ibn Hayyan (Geber 721-815) qui a rajouté l'alambic à l'ancien appareil de distillation pour la réfrigération, mais utilisée par Al Kindi (Alchindius 805-873) et IbnSina (Avicenne 980-1037) pour la préparation des parfums. Les eaux distillées ou hydrolats, sont obtenues par distillation de la plante (feuilles, tiges…), alors que les eaux florales sont obtenues de la même manière mais à partir des fleurs (Shakeel, 1999; Goetz et Busser, 2007). De nos jours cette technique traditionnelle est encore utilisée à Constantine pour l'extraction de certaines plantes aromatiques.

Figure n°5:Distillation traditionnelle des fleurs de roses (Rosa damascenna).

I.3-Famille des Lamiacées

La famille des lamiacées connue également sous le nom des labiées, comporte environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites; mais dont la plupart se concentrent dans le bassin méditerranéen tel que le thym, la lavande et le romarin(Botineau, 2010). Elle divisée en deux principales sous-familles: les Stachyoideae et les Ocimoideae. Les lamiacées sont des herbacées ayant la consistance et la couleur de l'herbe, parfois sous-arbrisseaux ou ligneuses(Botineau,2010). Une grande partie de ces plantes sont aromatiques riches en l'huile essentielle d'où leur intérêt économique et médicinal.

Entre autres, un grand nombre de genres de la famille des Lamiaceae sont des sources deterpènoides, flavonoïdes et iridiodes glycosylés.

I.4-Présentation de genre Salvia

est considéré comme étant le genre le plus large et le plus important de la famille des lamiacées (Lamiaceae ou Labiatae) (BAGCI et al., 2008; WALTER et al., 2002). Il rassemble, à lui seul, plus de 900 espèces identifiées autour du monde (BEKTAS et al., 2005; KIVRAK et al., 2009).

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; STANLEYet 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).

*En Algérie, les espèces qui ont été déterminées sont au nombre de dix huit : SalviaBalansaedeNoé; S. officinalis L. ; S. ChudaeiBatt. et Trab.; S. triloba L. fils; S. LavandulaefoliaVahl.; S. AucheriBenth.; S. phlomoidesAsso.; S. Jaminiana de Noé; S. verbenaca(L.) Briq.; S. Horminum L.; S. aegyptiacaL.; S. silvestrisL.; S. tingitanaEtte.; S. SclareaL.; S. ÆthiopisL.; S. algeriensisDesf.; S. BarrelieriEttling. et S. argenteaL.(QUEZEL ET SANTA, 1963).

-Les espèces Salviare présentent un groupe d'espèces cosmopolites, qui montrent une gamme remarquable de variation (PISTELLI, 2006). Ce genre est distribué dans trois régions principales dans le monde :530 espèces à l'Amérique centrale et latine, 250 espèces en Asie centrale et en régions méditerranéennes, 30 en Afrique du Sud et 90 espèces en Asie de l'Est figure01) (WALKERet al., 2004).

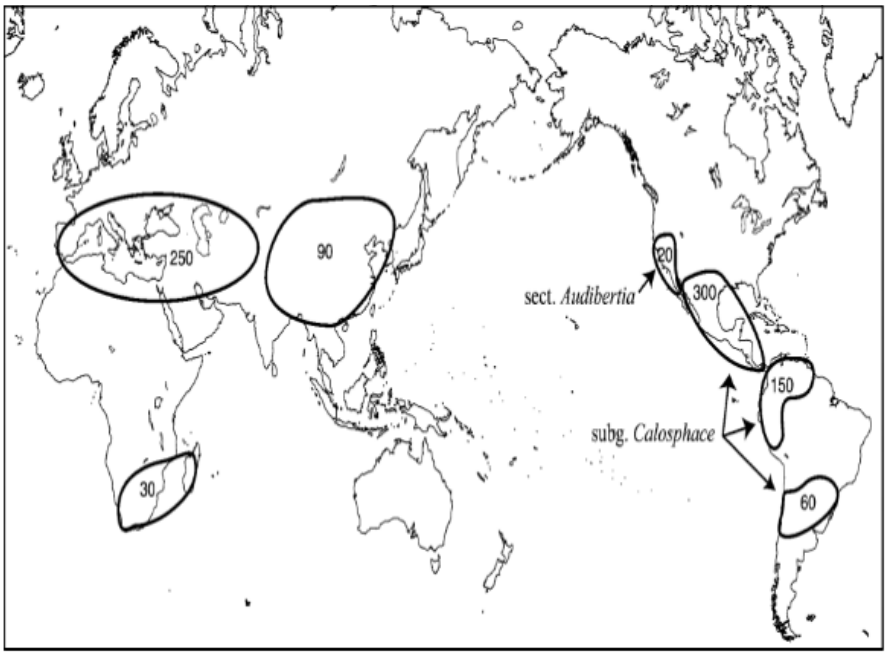


Figure06:Répartition géographique du genre Salviadans le monde, selon WALKERet al.,(2004).

I.5-Généralités sur la Salvia argantea :

Salvia argentea, est une plante bisannuelle. Elle est répondue en Afrique du nord et en Europe méridionale. Au cours de son développement, elle commence par former une rosette basale de feuilles veloutées qui s'étale jusqu'à atteindre 1 mètre de diamètre, en fin d'hiver. En début d'été,lorsqu'elle atteint environ 1m de hauteur, elle fleurit en développant un epanicule de petites fleurs blanches ou jaunes (BURNIEetal., 2006). L'espèce se caractérise non seulement par ses fleurs de coloration jaunâtres mais aussi par ses inflorescences terminées par les bractées et par leurs grandes feuilles velues crénelées-dentées, étalées en rosette (figure 07).

Figure N°07 : *salvia argantea* (Barnes et al.,2007).

I.6-Classification de *Salvia argentea* :

Selon Dweek (2000*),salviaargentea* se classe comme suit :

Rènge : Plantea

Classe : Magnoliophyta

Ordre : Lamiales

Division : Magnoliophyta

Famille : Lamiaceae

Sous-famille : Neptoideae

Genre : Salvia

Espèce : *Salviaargentea*

Nom binominal : *salviaargentea* (Barnes et al.,2007)

Le nom commun :فراش الندى

I.7-Description botanique :

***feuilles** :

Les feuilles sont recouvertes d'un duvet argenté, très doux au toucher, qui rend cette sauge populaire après des horticulteurs. Les fleurs, blanches, sont verticellées le long de tiges d'environ 50 cm de haut.

Figure N°08: photo des feuilles de *Salvia argentea* (identifier par Mr HACHEM,2016).

***Fleurs :**

Fleurs en verticilles axillaires avec divers bractées colorées,Blanches, sont verticillées.

Figure09 : fleure de *Salvia argentea* , (Barnes et al.,2007).

***tiges :**

Le long de tiges d'environ 170 cm de haut.

Figure10 : tige de *Salvia argentea*,(Barnes et al.,2007)

I.8-Composition chimique de *Salvia argentea* :

De nombreuses espèces ont été étudiées pou leur compositions chimiques biologiquement actives constituantes. L'étude phytochimiques sur les espèces *Salvia argentea* ont été largement réalisée, el leurs principaux constitiants chimiques peuvent être classés comme les polyphénols et les terpènes. Le principal composé de parties aériennes sont les flavonoïdes, triterpénoides et substances volatiles, principalement monoterpènes alors que diterpénoides sont généralemnt trouvés dans les racines (Tapeu,2006). Certain types d'acides phénoliques, à savoir les dérivés de l'acide caféique, ont principalment été trouvés dans cette genre (Lu et Foo, 2002).

Salvia argentea contient des salvinorines, principalement de la salvinorine-A et de la salvinorine-B. Elle contient égélment les composants parents psychoactifs suivants : salvinorine A, salvinorine F (activité inconnue), salvinorine B, salvinorine T G A, divinatorines A, divinatorines D, divinatorines E,salvicinase A.

Seul la salvinorine-A semble être à l'origine des effets psychotropes, elle est donc couramment appelée simplement salvinorine.C'est un diterpène de formule chimique $C_{23}H_{28}O_8$. Contrairement à la plupart des composants psychoactifs connus, la salvinorine A n'est pas une amine ni un alcaloides, ce qui siginfie qu'elle ne contient aucun groupement azoté fonctionnel. Elle n'agit pas non plussur les récepteurs classiques (5-HT2A). (kissileff H.R,2003).

Il a été démontré que les effets de la salvorine A sont bloqués par les antagonistes récepteurs opioïdes kappa. Ceci signifie que les effets de la *Salvia argentea* peuvent étre largement, sion entierement, imputés à l'antagonisme kappa. La savonorine A serait unique,car elle est la seul substance naturelle connue induisant un état visionnaire via ce mode d'action(Stephen.C et al.,2004).

I.9-Propriétés et effets pharmacologiques des *Salvia argentea* :

I.9.1- Propriétés pharmacologiques :

Les modes d'actions très particuliers et hors du commun de la Salvinorine A, intriguent beaucoup les scientifiques. Par exemples, Bruce Cohen et ses collègues d'Harvard ont étudié le potentiel de ‘‘régulateur d'humeur'' lié à la SalvinorineA qui pourrait faire l'objet d'étude de traitement chez des personnes touchée par les troubles

bipolaires. De plus, en activant les récepteurs opioïdes ‘’kappa’’, la Salvinorine pourrait réduire la dépendance aux stimulants. D’autres chercheurs soutiennent l’hypothése que la Salvinorine A peut amoindrir les symptômes chez les personnes souffrant de psychoses et troubles dissociatifs.

Pleusieurs études démontrent que le principe actif Salvinorine A contenu dans la *Salvia argentea* ; pourrait traiter la dépendance de certaines drogues. A ce sujet, Thomas Prisinzano le professeur assistant de l’université de Lowa affirme que la Salvinorine A perrmettrait de traiter l’addiction à la cocaïne : en donnant un libre accès à la cocaïne chez le rat, ce dernier interrompu sa consommation de cocaïne lorsqu’on lui donne un libre accès Salvinorine A en parallèle. Selon d’autres sources, la *Salvia argentea* pourrait avoir un potentiel en tant que thérapie traitant la dépendance aux stimulant tels que les amphétamines, et aux opiacés(Marini A et al,2012).

I.9.2-Effets thérapeutique :

Selon Barnes et al.,(2007) de nombreux usages avancent que fumer des feuilles séchées de *Salvia argentea* produirait des effets très légers ou ordinaires. Cette idée erronée tient au fait au’ une certaine quantité de feuilles doit être fumée pour entrainer des effets psychoactifs, ou alors que la température de combustion lors de l’expérience n’est pas assez élevée pour faire évaporer la salvinotine A (étant donné que la vaporisation se produit à de hautes températeures). Les effets varient beaucoup selon les doses et les individus.

Lorsque *Salvia argentea* est fumée, les effets principaux sont rapidement sensibles.Le « sommet » le plus intense est atteint aux alentours d’une minute et dureenviron cinq minutes, suivi d’un retour graduel à la réalité. A 10 minutes, des effets typiques moins intenses mais toujours perceptibles persistent, laissant toutefois la priorité à un retour de la perception ordinaire qui se contruit jusq’au point initial, aux alentours de 20 minutes. Mâcher les feuilles provoque une apparition plus tardive des effets, en10 à 15 minutes .Dans l’usage du jus selon la méthodes traditionnelle, les effets apparaisssent environ 20 minutes après l’ingestion(Walker et al.,2004). A faible doses, l’usager peut faire l’exoérience de rires spontanés, bégaiements, effets visuels stroboscopiques ou nn sens accru de la couleur ou tesxture. Les doses intermédiares ressembleraient à une distorsion du temps et des hallucinations visuelles(motifs fractals, formes géométriques) deviennent de plusen plus sensibles.

Des sensation tombantes,similaires mais plus prononcées à ce qui est occasionnellement ressentiau début du sommeil sont aussi décites.

A doses élvées, mes effets sont plus nombreux et puissants.Ceux-ci peuvent éventuellement inclure une expérience de décorporation, une perception de distorsion dimesnsionnelle, des vertiges, des sensation d'ouïe saturée, sesation de vent ou pression physique,dissolution de l'ego,dissociation ou perte de la parole, expéreine de réalités alternatives(Hughes G.M et al.,2008).

Les effet de *Salvia argentea* sont souvent décrits par ereur comme ceux du LSD, par des personnes n'ayant jamais consommé la substance, notament politiciens et journalistes. Les usagers au contraire, décrivent ses effets comme uniques à la substance (38,4%), ou comme similaires à la méditation, au yoga ou une transe (23,2%) ; seulment 17,7% d'usagers trouvent une resssemblance aux autres psychoactifs sérotoninérgiques (mescaline, psilocybine, LSD,ect) (Walker et al.,2004).

I.9.3-Usage traditionnels :

Aujourd'hui, cel usage semble n'étre plus présent que chez les Masatèque. *Salvia argentea* est connue sous le nom de *herba pastora* (« herbe de la bergère ») *ou herba de la Virgen* (« herbe de la vierge »). D'après la taxonomie mazatéque, elle est apparentée à deux autres espèces de *lamiacea*, *Coleusblumei* et *Coleuspumlilus*. La sauge est la mère, C.pumilus est le père et C.blumei est aussi bien l'enfant que le filleul. Leur feuilles fraiches sont machées et l'usage des Coleus n'est qu'un palliatif à celui de sauge (Marini A.et al.,2012).

Plant de *Salvia argentea* acclimaté dans un salon en Haute-Savoie. L'emploi de la sauge de devins est en relation étroite avec les cultures mazatèques des champignons hallucinogènes. En effet, les chamanes d'Oaxaca l'utilisent lors de rituels divinatoires ou curatifs come substituts de teonanacatl ou d'ololiuqui lorsqu'ils se font rares. Les rituels se déroulent la nuit, dans l'obscurité et le silence complet. Soit le guérisseur est seul avec son patient, soit d'autre patient et des personnes bien portantes les accompagnent. Avant de sucer et de mâcher les feuilles sans avaler la salive, le chamante le encense avec du Copal et les voue aux dieux an priant.(Lézard,2000).

Les Mazatèques utilisent cette sauge sous la forme d'un cigare, le *priem* (feuilles fraiches roulées à la main).Ce cigare est sucé et mâché sans en avaler le jus, les substances actives étant absorbées par la muqeuses mais non pas par la voie digestive. La dose minimale pour un priem esr de six feuilles fraiches et de dix si l'on veut accentuer les effets.La réaction débute précisément après dix miutes et dure environ 45 minutes. Les feuilles séchées de *Salvia argentea* peuvent également être fumées bien que cet usages soit rejeté dans l'usage traditionnel mazatèque qui privilégie la technique de la chique. Deux à trois inhalations profondes de la moitié d'une feuille peuvent avoir des effets psychotropes (Lézard ?2000).

I.9.4-Usages modernes :

Les feuilles séchées peuvent étre fumées à la pipe, mais la plupart des usages préfèrent L'utlilisation d'une pipe à eau. La température requise pour libérer la salvinorine A de la matière végétale est relativement haute (environ 240°C). Fumer la *Salvia* dans une cigarette ou joint est également possible, mais moins efficace. Les feuilles séchées peuvent aussi être infusées ou reconstituées par de l'eau puis secondairement mâchées.Il existe des préparations concentrées,l'extrai de la feuille de *salvia*, avec une intensité relative suggérée peuvent aussi être fumés à la place des feuiles naturelles ; ceci réduirait la quantité de fumée inhalée en tenant compte du dosage accru de salvinorine, facilitant des expériences plus fortes.Une solution(''teinture'') absorbée sous la langue est une autre dorme de *salvia* préparée (Lézard,2000).

Chapitre II
Les Huiles essentielles

II-1-Bref historique

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent deL'an 3000 avant J.C. (Baser &Buchbauer, 2010). Les huiles essentielles semblent donc AvoirAccompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses.Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premièresvégétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, rites religieux, Coutume espaïennes,alimentation, etc.(Besombes, 2008).

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation, avec lacivilisationarabe, l'huile essentielle devient un des principaux produits decommercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et laSyrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques.(Baser&Buchbauer, 2010).

II-2- Définition

Il s'agit d'un mélange de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétiséset stockés dans certains tissus végétaux spécialisés. Extraites de la plante grâce à desprocédésphysiques tels l'hydro distillation, l'entraînement à la vapeur ou par expression à froid ;Les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique dela plante(Bruneton, 1993).Les produits obtenus par extraction avec d'autres procédés ne sont pas repris dans. La définition d'huile essentielle donnée par la norme AFNOR (Association Françaisede Normalisation).(AFNOR, 2000).Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les huiles essentiellesnecontiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs(huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc.). laplante.(AntonetLobstein, 2005).Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de Sesolubiliser dans les graisses et par leur

caractère hydrophobe. Le terme « essentielle»faitréférence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante(Bruneton, 1993).

II-3- Production mondiale des huiles essentielles :

Plusieurs pays tirent une grande partie de leurs ressources de l'exploitation des plantes .àhuiles essentielles. On estime aujourd'hui à environ 40 000 le nombre d'espèces aromatiques croissant dans le monde dont 3 000 ont été étudiées et 300 sont exploitéesindustriellement(Souzaetal.,2006).Plus de 90 % des espèces à étudier et à valoriser poussentdans les pays tropicaux . Les principales huiles essentielles produites et lesprincipaux paysproducteurs sont résumés dans le tableau 01.

Huiles essentielles	Production (Tonnes)	Principaux pays producteurs
Huiles d'oranges	51000	USA, Brésil, Argentine
Huiles du citron	9200	Argentine, Italie, Espagne
Huiles de l'eucalyptus	4000	Chine, Inde, Australie, Afrique du Sud
Huile de la menthe poivrée	3300	Inde, USA, Chine
Huile du clou de girofle	1800	Indonésie, Madagascar
Essence de la citronnelle	1800	Chine, Sri Lanka
Huiles de la menthe verte	1800	USA, Chine
Huiles du bois de cèdre	1650	USA, Chine
Huile de la lavande	1100	France

Tableau 01:Récapitulation des principales huiles essentielles produites et des principaux pays producteurs dans le monde en 2008 (Perfumer&Flavorist, 2009).

II-4- Localisation de l'huile essentielle dans la plante

Il arrive très fréquemment que la composition de l'huile essentielle d'une plante esttrès variable, selon qu'elle soit extraire de l'un ou l'autre organe de cette plante .Dans certaines plantes, l'essence est produite par des tissus sécréteurs. Dans d'autres,elle se trouve en liaison glucosidique à l'intérieur des tissus et ne se manifeste que lorsqu'onfroisse, écrase, sèche ou distille la plante.(Schauemberg et Paris, 2010).

Les essences sont sécrétées dans différentes parties variant selon la plante aromatique.Ce peuvent être de minuscules cellule épidermique dans les pétales de la

rose ou des poilssécréteurs disposés à la périphérie des calices floraux, des feuilles et des tiges chez les labiées(thyme, sauge) ou de grosses cellules disposées au sein des tissus végétales : tiges, écorces,racines, feuilles, semences.(Scimeca et Tétau, 2005).Toutes les plantes de la famille des Labiées possèdent dans leurs tissus épidermiqueset foliaires des glandes sécrétrices riches en huiles essentielles aromatiques.

II-5- Le rôle des huiles essentielles

En plus des propriétés thérapeutiques des huiles essentielles à l'extérieur des plantes, ilne faut pas négliger non plus la fonction de ses huiles dans la plante.Toutefois, les parfumsémis jouent un rôle attractif pour les insectes pollinisateurs(Deroin, 1988).

De plus, en règle générale, les huiles essentielles constituent un moyen de défensenaturel contre les insectes prédateurs et les microorganismes. Les substances émises sont dansce dernier cas appelées «phytoalexines». Ce type de toxine n'est produit qu'en cas d'infectionet n'entre donc pas dans la composition d'une huile essentielle provenant d'une plantesaine.

II-6- Propriétés physiques

Les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétésphysiques, elles sont généralement des lipides à la température ordinaire, elles sont solublesdans les alcools, et dans la plus part des solvants organiques.

D'après Padrini etLucheroni(1997), les huiles essentielles sont divisées en quatreclasses, suivant leurs couleurs:

- Les H.E. incolores.
- Les H.E. jeunes.
- Les H.E. bleues.
- Les H.E. vertes brunes ou jeunes verts.
- Leur point d'ébullition varie de 160°C à 240°C.
- Leur densité est inférieure à celle de l'eau, varie de 0,75 à 0,99.

- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont très altérables, sensibles à l'oxydation, elles sont donc de conservation limitée.
- Dissolves les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels.

II-7- Composition chimique

Les plantes vertes sont de véritables petites usines chimiques.(Delaveau et al., 1985).Les cellules végétales sont capables en dehors de la synthèse des composéesfondamentaux de la matière vivante qui sont, les protéines, les lipides, les sucres decoordonner les multiples réactions chimiques conduisant à l'élaboration desessences.(Garnero, 1991).

Dans le cas des huiles essentielles seuls sont rencontrés les terpènes les plus volatilsc'est-à-dire ceux dont le poids moléculaire n'est pas élevé.(Belaiche, 1979).Le nombre des molécules chimiquement différentes qui constituent une huileessentielle estvariable (Belaiche, 1979). A côté des composés majoritaires (entre 2 et 6généralement), onretrouve des composés minoritaires et un certain nombre de constituantssous forme de traces.(Pibiri, 2006).

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituantsquiappartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes :

*le groupe de terpénoïdes

*le groupe des composés aromatiques dérivés duphénylpropane.(Bruneton,1999)

D'après Pibiri (2006), la structure des composés des huiles essentielles est constituéed'unsquelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette debaseest souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. Lamajoritédes sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygène,pourquelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés.

Selon Maihebiau (1994), cette structure varie en fonction :

Du nombre d'atomes de carbone qui les constitue :

- Les monoterpènes

-Les sesquiterpènes

-Rarement les diterpènes.

II-8- Facteurs influençant la composition chimique

Etant formées de mélanges généralement complexes, les huiles essentielles présentent unetrès grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendementdesplantes d'origine. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs, que nouspouvonsregrouper en deux catégories :

- Facteurs intrinsèques, liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné, àl'interactionavec l'environnement (type de sol ou climat, …) et au degré de maturitédu végétal concerné ,voire au moment de la récolte au cours de la journée ;
- facteurs extrinsèques, en lien avec la méthode d'extraction. (Besombes, 2008).

II-8.1- Les facteurs intrinsèques

Les cellules productrices d'huile essentielle pouvant se situer dans différents organes,Ilest possible d'obtenir différentes huiles selon les parties sélectionnées d'une même plante.Des travaux de de recherche ont montrés des différences de composition des huilesessentielles en raison d'organes différents (feuilles et fleurs) et de sous-espècesdifférentes.(Maffei et Sacco, 1997)

II-8.2- Les facteurs extrinsèques

Huang et al. (1995) ont montrés l'influence des méthodes d'extraction sur la compositiondes huiles essentielles.

Selon Fantino (1990), le stockage des matières premières avant distillation peutégalement influencer lacomposition et le rendement des huiles essentielles. Ce dernier a notédes pertesconsidérables d'huile essentielle lors d'un stockage prolongé au congélateur, mais peu d'évolution de la composition.

Par ailleurs et d'après Carette (2000), le temps de stockage des huiles essentiellesaprès extraction tend aussi àmodifier leur composition. Ce qui fait qu'elles seconservent entre12 et 18 mois après leur obtention, car, avec le temps, leurs propriétés tendent à décroître

II-9- Toxicité des huiles essentielles

La majorité des intoxications par les plantes connues est la cause d'un surdosage carleur accumulation dans l'organisme crée des affections dégénératives et même des effets secondaires plus banales (vomissements, vertiges, syncopes) L'abusd'essences concentrées peut aussi provoquer l'engorgement du foie et la rétention d'urine(Schauemberg et Paris, 2010).Il existe également des huiles essentielles qui peuvent provoquer des irritationscutanées lorsqu'on les utilise de façon externe (Kothe, 2007). Les effets toxiques semanifestent par des réactions allergiques (eczémas, abcès). Ce sont surtout les huilesessentielles et purifiées qui provoquent ces inflammations. (Schauemberg et Paris, 2010).

Les huiles essentielles sont des médicaments et une dose peut entrainer des troubles très graves, seul un praticien averti et apte à vous prescrire par contre les baumes, les huiles de corps, les huiles de bains vendus dans le commerce, sont sans danger, si bien sûr en respectent la posologie.

II-10- Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiquesetantimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques,antivenimeuses,antivirales, anti-oxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leurreconnaît égalementdes propriétés anticancéreuses(Valnet, 2005).

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sacompositionchimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tientà son«totum» ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires.(Lahlou, 2004).

II-10.1- Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans laconservationalimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsablesde ce pouvoir(Richard, 1992).

Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes selon le niveau de Leuraction : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ontuneactivité primaire sont interrompus dans la chaîne autocatalytique de l'oxydation (Multon,2002). En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables deretarderl'oxydation par des mécanismes indirects tels que le complexe formé par des ions métalliques ou laréduction d'oxygène.

II-10.2- Activité antibactérienne

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HEs, ilestprobable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanismeunique,mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire.(Carson et al., 2002).

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HEs sur lesbactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice deproton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules.Le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiquesdescomposants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans ladouble couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induireun changement de conformation de la membrane.(Cox et al., 2000; Carson et al.,2002).

Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chezEnterobacteraerogenesaaussi été rapportée . Les HE speuvent aussi inhiber lasynthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides.(Coxet al., 1991).

II-10.3- Activité antifongique

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurscomposés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contreleschampignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denréealimentaireLis-Balchin, 2002).

Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simpleobservation macroscopique. L'activité antifongique décroît selon le type defonctionchimique : Phénols›Alcools›Aldéhydes›Cétones›Ethers›Hydrocarbures Parmi les aldéhydes aliphatiques, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actif. En cequiconcerne les composés phénoliques, l'activité antifongique augmente avecl'encombrementstérique de la molécule (p -n-propylphénol› thymol› isoeugénol› eugénol**)**(Ultreeet al.,2002).

II-11- Méthode d'extraction des huiles essentielles

Le procédé d'obtention des HE intervient d'une façon déterminante sur sacompositionchimique. (Garnero, 1977).Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction desessences végétales,cette diversité est due à la variété des matières premières et à la sensibilitéconsidérable decertains de leurs constituants.(Legrand, 1993).

II-11.1- Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courantdevapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condenséespuis décantées. L'injection de vapeur se fait à la base de l'alambic .(Richard etPeyron,1992).

II-11.2- Extraction par hydro distillation d'huile essentielle

Ce mode d'extraction a été proposé par Garnier en 1891, c'est la méthode la plus utiliséepour extraire les HE et pouvoir les séparer à l'état pur mais aussi de fournir demeilleurs rendements. Le principe consiste à immerger directement la matière végétale àtraiter dans unballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènesvont secondenser sur une surface froide et l'HE sera alors séparée par différence dedensité(Bruneton, 1993).

II-11.3- Expression à froid

L'expression à froid est réservée à l'extraction des composés volatils dans lespéricarpes. Ils'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches encellulessécrétrices.(Basil et al., 1998).

II-11.4- Extraction par solvants organiques

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Lessolvantsles plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol moinsfréquemmentle dichlorométhane et l'acétone.(Legrand,1993; Dapkeviciuset al .,1998;Kim et Lee,2002).

En fonction de la technique et du solvant utilisé, on obtient (AFNOR, 2000) :

- Des hydrolysats : extraction par solvant en présence d'eau
- Des alcoolats : extraction avec de l'éthanol diluétraitées par l'éthanol ou des mélangeséthanol/eau.
- De résinoïdes ou extraits éthanoliques concentrés

L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par soncoût,les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la règlementation liée à la protectiondel'environnement. (Rivera, 2006).

II-11.5- Extraction par fluide à l'état supercritique

L'extraction par gaz liquéfié ou par fluide à l'état supercritique met en œuvregénéralement le dioxyde de carbone.(Aghelet al.,2004)d'autres travaux de

recherche de Luque de Castro et Jiménez (1998) ; GámizGraciaetLuque de Castro (2000) ; Ozelet al.(2003) ; Deng et al. (2005) montrentl'utilisation del'eau dans son état supercritique. Dans ce système, le solvant est utilisé enboucle parinterposition d'échangeurs de chaleur, d'un compresseur et d'un détendeur afin deporter lesolvant à l'état désiré à chaque stade du processus. La séparation de l'extrait a lieu enphasegazeuse par simple détente.

L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvantparsimple compression détente. De plus, les températures d'extraction son basses dans le casdedioxyde de carbone et non agressives pour les constituants les plus fragiles. A cesdifférentsavantages s'ajoutent ceux de l'innocuité, d'inertie et d'ininflammabilité deCO2.(Rivera, 2006).

Le frein du développement de cette technologie est le coût élevé des appareillages liéal'application de pressions de plusieurs centaines de bars.(Rivera, 2006).

Chapitre*III*

Matériels et méthodes

La partie expérimentale a été réalisée au laboratoire pédagogique Université Dr MOULAY TAHAR Saïda Faculté des sciences et technologie (Département de Biologie) pendant la période allant de Février 2016 à Mai 2016.

I-2. Matériel biologique:

I-2.A-Choix des plantes :

Salvia argentea est l'espèce végétale aromatique choisis selon leur abondance dans notre région et selon leur utilisation courante par la polulation de Saïda en médecine traditionnelle pour les maladies des voies repiratoire el l'allergie.

B-La récolte des plantes :

La récolte de *Salvia argentea* est provient de reboisement Ain zarga Saïda le mois de février 2015.

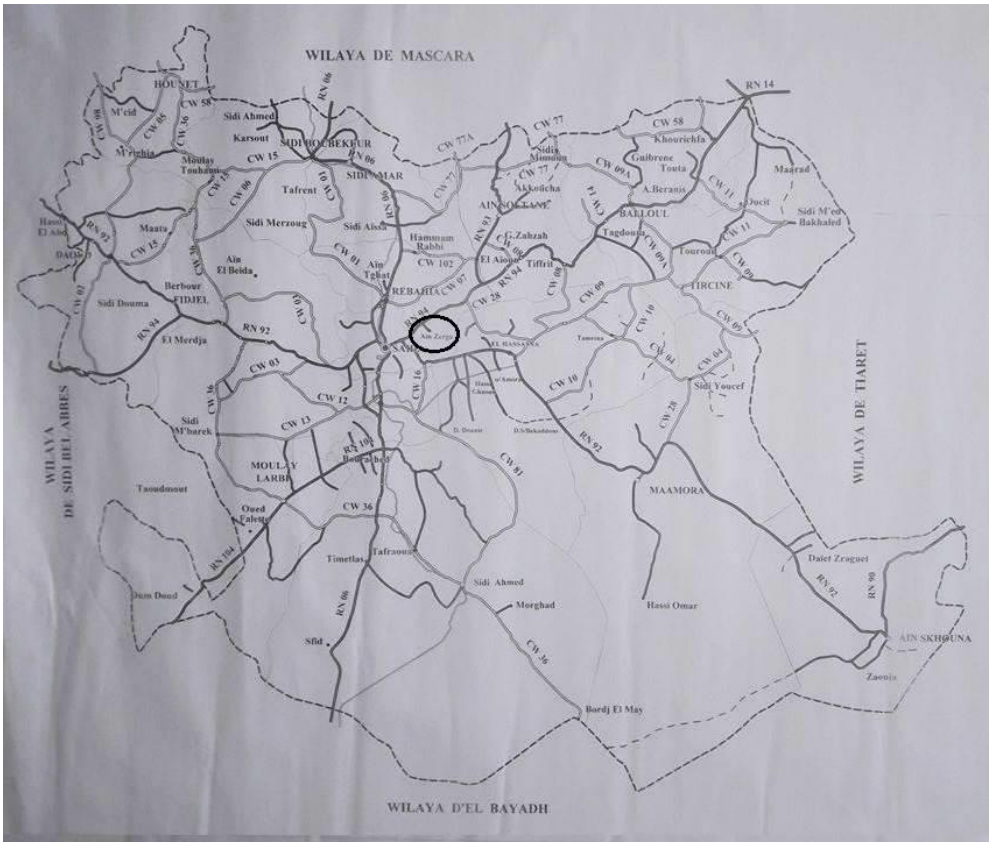


Figure N°11 : lieu de récolte

Figure N°12 : *Salvia argentea*

Tableau N°2 : la date el l'origine de récolte.

Espèce	Date de récolte	Quantité utulisé	Origine
Salvia argentea	03/02/2016	Feuille : 500g + 500g	Rebiosement Ain zarga

I-C-La consevation des plantes :

I-C.1-Préparation de plante :

***Le séchage :**

Les feuilles ont été nettoyées avec l'eau courante afin d'éliminer toute trace de terre et mises à sécher à l'ombre dans u1n endroits sec et aéré, pendant plusieurs jours jusqu'à dessiccation complète .Après le séchage, elles ont été finement broyées avec un broyeur électrique et les poudres obtenues ont été conservées à l'abri de la lumière et de l'humidité dans des flacons hermétiquement fermés. Pour qu'elles gardent leur qualité initiale.

Figure N°13 : Feuilles séchés de S.argentea **Figure N°14:**feuille broyée de S.argentea

I-3.Matériel bactérien:

trois souches de levure ainsi que 8souches bactériennes de références ont été utilisées pour déterminer l'activité antimicrobienne de décocté et des huiles essentielles de la plante étudiée, elles sont représentées dans le Tableau (3).

Nom de la souche	**Référence**
Enterococcus faecalis	**ATCC 49452**
Staphylococcus aureus	**ATCC 25923**
Listeria monocytogenes	**ATCC 19115**
Methicillin-resistant*Staphylococcus aureus*	**ATCC 43300**
Bacillus subtilis	**ATCC 6633**
Bacillus cereus	**ATCC 11778**
Proteus freundi	**ATCC 8090**
Pasteurella multocida	**ATCC 43137**
Salmonella typhimurium	**ATCC 13311**
Campylobacter fetus	**ATCC 27374**
Escherichia coli	**ATCC 25933**
Klebsiella pneumonia	**ATCC 70603**
Enterobacter cloacae	**ATCC 13047**
Citrobacter freundii	**ATCC 8090**
Pseudomonas aeruginosa	**ATCC 27853**
Salmonella enterica	**ATCC 13312**
Candida albicans	**ATCC 10231 /**
Candida albicans	**ATCC 26790 /**
Candida albicans	**IP 444 /**
Saccharomyces cerevisiae	**ATCC 204508**

Tableau N° 3 : listes des déférentes souches testé

I-6.Préparation solution de plante par décoction :

L'extrait aqueux de *Salvia argenteaa* été préparé à partir de 25 g des feuilles broyées, Le matériel végétal broyé est placé dans une ballon + 500 ml d'eau distillée . et surmonte l'extracteur d'un réfrigérant. A l'aide d'un chauffe ballon, porter le solvant à ébullition. Après 1H le décocté et reécupéré aprés filtré à l'aide d'un papier Whatman.

Figure N°16 : Décoction de S.argentea

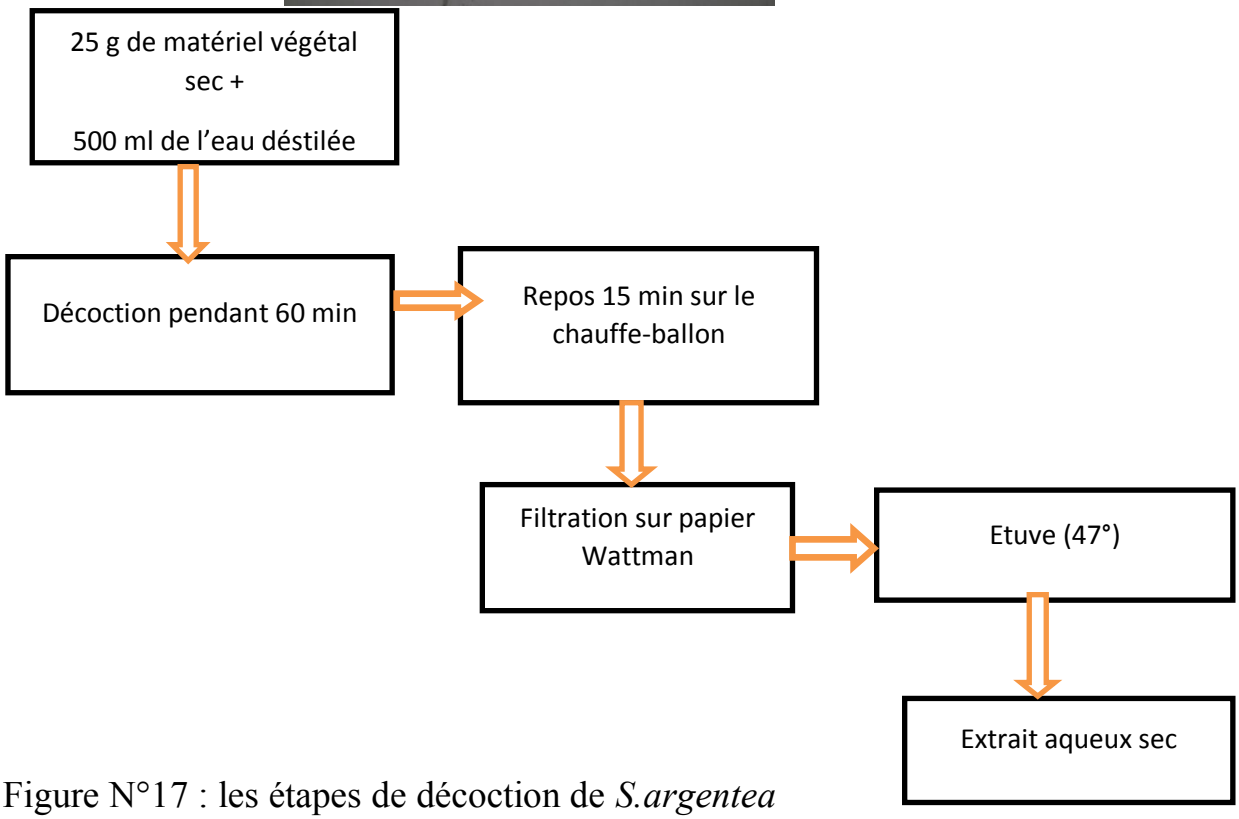


Figure N°17 : les étapes de décoction de *S.argentea*

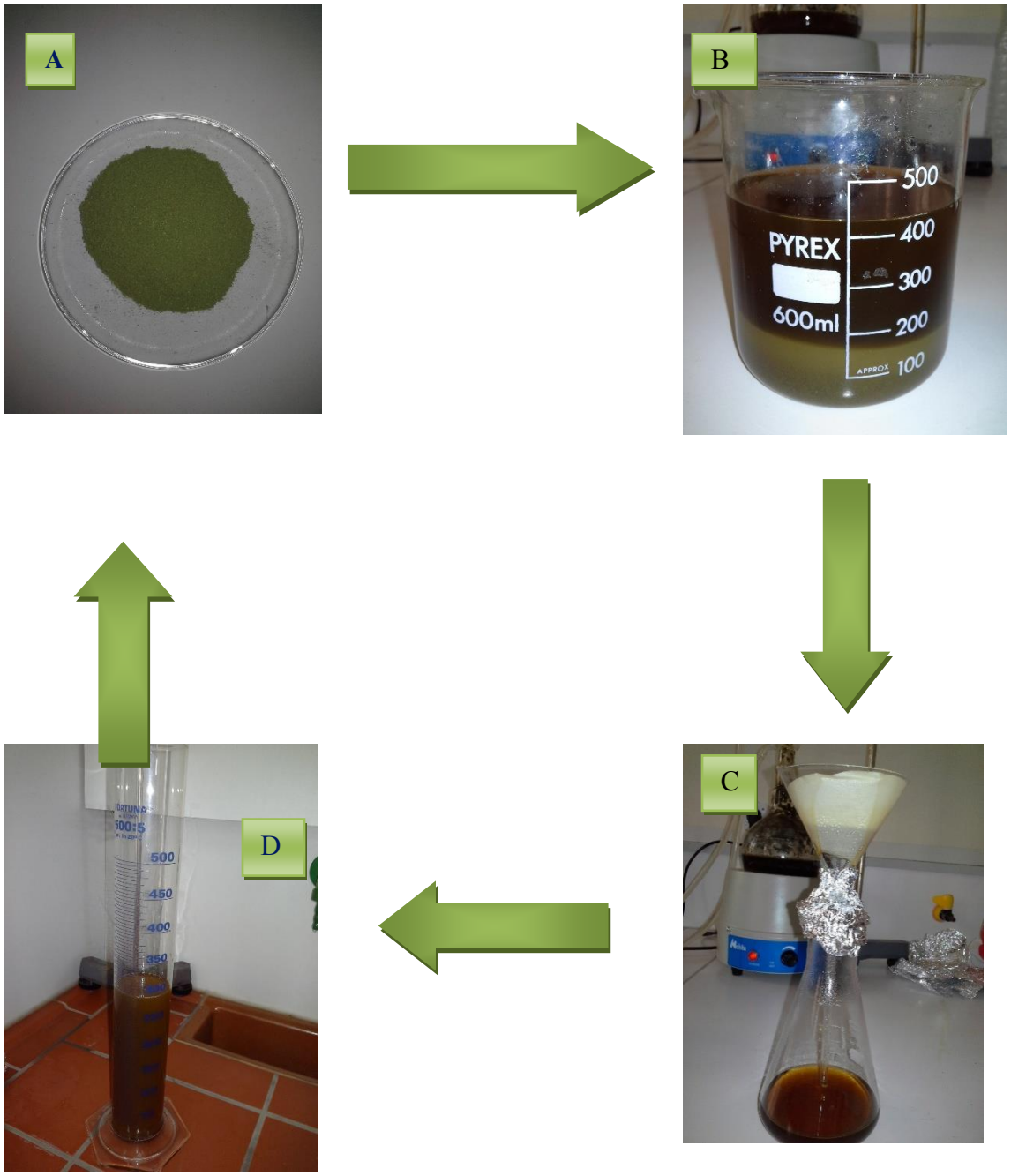


Figure 18 : les étapes de décocté de broyat des feuilles de Salvia argentea.

A La poudre de feuille de *Salvia argentea*.

a Réchauffement pendant 60 min + agitation .

C Le mélange laissé sur la plaque chauffante pendant 10mun.

D Le mélange filtré sur le papier wattman n°111.

I-5.Activités antibactériennes

I-5-1.Méthodes d'aromathogramme :

5-1.1.Préparation des disques

Les disques sont préparés à partir du papier wattman N3 de 6 mm de diamètre, ensuite elles sont mises dans du papier Aluminium puis dans un bocal en verre, stérilisés dans le four pasteur 20 minutes, et stockés à une température ambiante (le bocal en verre est hermétiquement fermé).

5-1.2.Préparation des précultures :

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boites de pétrie contenant de la gélose nutritive et incuber pendant 24 h à 37°C afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées.

5-1.3Préparation des suspensions bactériennes :

Al'aide d'un Anse de platine nous avons prélevée quelques (3 à 5) colonies bien isolées et parfaitement identiques et sont été mises dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% de sel (Na Cl). La suspension bactérienne est bien homogénéisée avec le Vortex et laisser sur la paillasse pendant 5 minute (OMS, 2005).

5-1.4Tests de l'activité antibactérienne :

L'évaluation de l'activité antibactérienneest effectuée par diffusion ou d'aromatogrammes.

5-1.5.principe :

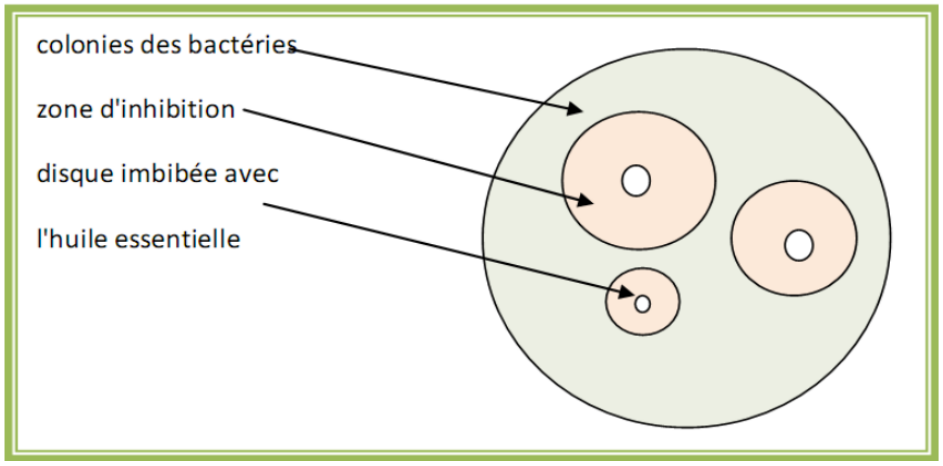
Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé Antibactérienne en milieu solide dans un boite de pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. l'effet du produit antibactérienne sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition (HELLAL, 2011).

5-1.6Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'HE

Pour mettre en évidence l'activité antibactérienne de *Salvia argentea*,nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disques, la méthode de dilution vis-à-vis huit souches bactériennes (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus résistant à la méticilline, Pasteurella multocida, Klebsiella pneumonia, Enterobacter cloacae, Citrobacter freundi et Salmonella enterica.), et fongiques (Candida albicans et Saccharomyces cerevisiae).

I-6.Méthode de diffusion sur disque (l'aromatogramme) :

La méthode de diffusion a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antibactérienne. Une suspension bactérienne de 18 à 24 heurs de chaque souche antibactérienne est préparée avec l'eau physiologieque (NaCl).
Des boites de Pétri contenant la gélose de Mueller Hinton sont inoculées. A la surface de chaque boite on dépose canque disques de papier filtre (Whatman n° 5) stériles de 6 mm de diamètre imbibés par 10 µl de différentes concentration d'huile essentielle supplémentée de DMSO (HE, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 et DMSO). L'ensemble est incubé pendant 24 heur à 37°C. Cette méthode est dite l'aromatogramme.
La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole avec des disques standard de 10µg. Cette méthode est dite l'antibiogramme.Après 24 heurs d'incubation, une zone ou un halo clair est présent autour du disque si l'huile essentielle inhibe le développement microbien.Dans la technique de diffusion il y a une compétition entre la croissance de la bactérie et la diffusion du produit à tester.



FigureN°19 : Méthode de diffusion sur disque

I-7.Ré-isolement des souches bactériennes :

On a fait un prélèvement des souches bactériennes qui sont testés par anse et ensemencés selon la méthode de stries sur une boite de Pétri coulée par gélose nutritive puis incuber 18 à 24 heurs à 37 °C, pour l'obtention des souches pures et jeunes.

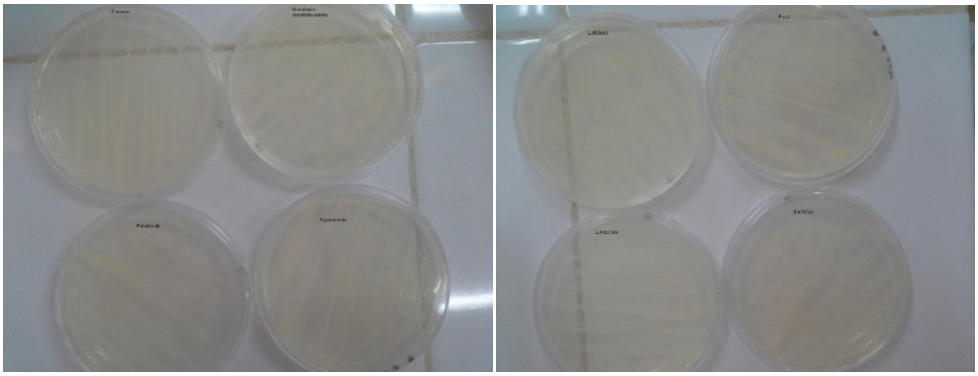


Figure N°20 : Ré-isolement des souches Bactériennes

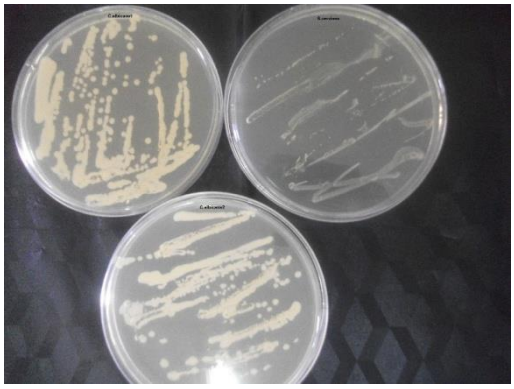


Figure N°21: Ré-isolement des souches fongiques

I-8.Préparation d'inoculum

A partir des boites contenant les germes pathogènes à partir des pré-cultures congelées, on racle 3 à 5colonies à l'aide d'une Anse de platine puis on la décharge dans un tube de l'eau physiologique stérile.

On dépose une goutte de suspension bactérienne, préparer sur la gélose coulée dans un boite de pétrie, puis on l'ensemence à l'aide de pipette pasteur.

les boites préparées sont incubées à 37°C pendant 18 à 24h.

I-9.L'ensemencement

Cette opération se fait après la préparation de l'inoculum ,avec un écouvillon on prend des colonies bactérienne et on met dans 5 ml d'eau physiologique, on trempe l'écouvillon stérile dans la suspension bactérienne. Puis on flotte l'écouvillon sur la totalité.

de la surface de MH, en haut et bas ,en strie serrées, un étalement uniforme en nappe.(BLAKHIRI,2013)

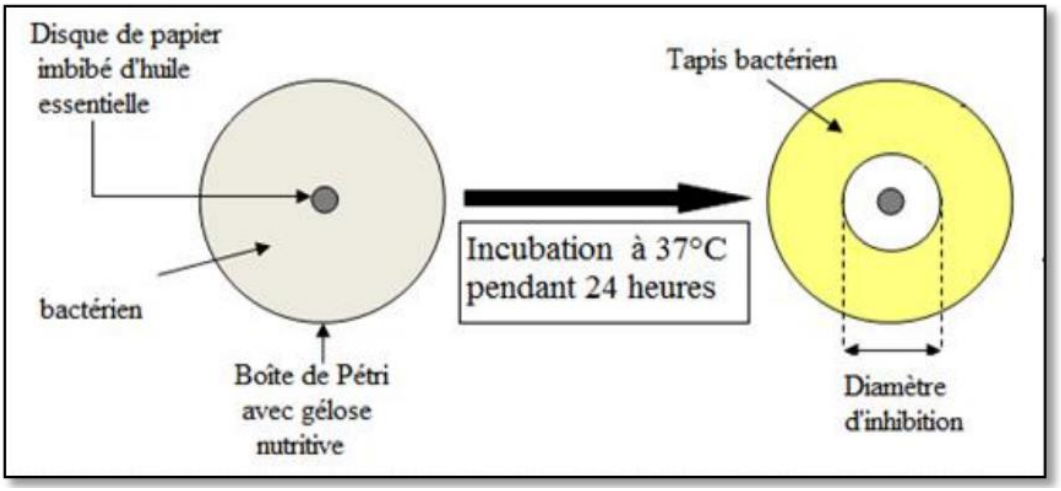


Figure N°22 : Aromatogramme

I-10.Lecture

A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par unhalotranslucide autour du puits, identique à la gélose stérile, dont le diamètre est mesuré à l'aide d'une règle en (mm) (y compris le diamètre du puits de 6mm). Lesrésultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par dessignes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'huile essentielle (Ponce et al., 2003).

I-5.2Méthode de microdilution :

Préparation des solutions de décoction :

Nous avons préparé une solution mère (3 ml) dans une éprouvette de 5ml à partir de 0.6 g de poudre de l'extrait aqueux après séchage(jusqu'au l'obtention d'une poudre sèche) dissout dans 1 ml du DMSO a fin d'obtenir une solution bien homogénéiser .Ce volume a été complété par le Bouillon Muëller Hinton (MH) jusqu'à 3 ml (3000 µl).

Ensuite, nous avons mélangé la solution manuellement et la filtré aseptiquement à l'aide d'un Filtre stérile.

5-2.1Préparation de l'inoculum :

a. Préparation de pré-culture :

Les tests de l'activité antimicrobienne doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de (18 à 24 heures) en phase exponentielle de la croissance. La réactivation des souches s'effectuée par ensemencement de l'espèce bactérienne dans un milieu de culture liquide (bouillon nutritif).

Après incubation de 24 heures à 37°C (bactéries) ou 48 heures à 30°C, un

deuxième repiquage est réalisé sur des boites de pétri contenant de la gélose nutritive, GN (bactéries) incubées à 37°C _30°C pendant 18 heures ou 24 heures, respectivement(Hellal,2011).

b. Préparation de la suspension bactérienne :

A partir des cultures jeunes sur la gélose nutritive (bactéries), nous avons Prélevé cinq (05) colonies bien isolées et identiques dans 5 ml d'eau physiologie stérile, agitées manuellement pendant quelques secondes.

L'ajustement de la charge bactérienne à 10^6UFC/ml, est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 625 nm.Selon la standardisation de Mc Farland, nous admettons une DO comprise entre 0.08 et 0.1 correspond à une concentration de108UFC/ml; la suspension d'inoculum est diluée à 1/100èmedans le milieu de culture pour avoir une concentration de 106UFC/ml.

L'ajustement de la charge fongique a été effectué par une cellule Thomas sous un microscope optique (Hellal, 2011).

5-2.3Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la méthode des micro-dilutions sur milieu liquide:

A)Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de S.argentea été évaluée par la méthode des microdilutions sur milieu liquide pour la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI). La technique utilisée a été décrite par CLSIen 2006. Elle est basée sur la capacité des microorganismes à produire une croissance visible àl'œil nu au sein d'une série de dilutions de la substance antimicrobienne (CLSI-M7-A7 2006).

Le Bouillon Muëller Hinton (MH) (pH de 7,2 à 7,4) est largement utilisé comme milieu standard pour la micro-dilution en plaque. Il permet une meilleure croissance de la plupart des bactéries pathogènes non exigeantes, en plus de son faible effet antagoniste vis-à-vis des antibiotiques. Ce bouillon est considéré comme milieu de référence. A partir d'une pré-culture bactérienne en milieu solide (gélose nutritive) de 24 h à 37°C, nous avons prélevé quelques colonies à l'aide d'une ansede platine que nous avons resuspendues dans du bouillon nutritif. La concentration cellulaire est 108 cellules/ ml. Une dilution au1/100èmeest effectuée pour avoir un inoculum final de 106cellules/ ml. Pour chaque ligne de la microplaque, nous avons déposés 50µl de l'inoculum dans les 12 puits à l'exception du puits N°12 qui servira de puits de contrôle de contamination, qui contient seulement le Bouillon Muëller Hinton, comme témoin positif (100 µl).Nous avons ensuite ajouté 50 µl de la solution de l'extrait aqueux dans les 12 puits à l'exception du puits N°11et puits N°12.le puits N°11 servira de témoin négatif (croissance sans extrai aqeux).Les plaques sont Scellées et placées dans une étuve à 35°C pendant 24 heures.La lecture du résultat s'effectue a 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). [(Espinel-Ingroff et Canton., 2007) ; (Majorosetcoll., 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).

B)Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) :

La CMB est définie comme la plus faible concentration de l'antibactérien qui détruit 99,9% de la concentration cellulaire finale. Après la détermination de la CMI (durant 24h d'incubation à37°C), les deux puits contenant les concentrationsen d'extrait strictement supérieures à la CMI vont servir pour la détermination de la CMB.Pour ce faire, un échantillon de 10 µl de chaque puits (ne présentant pas de croissance) va être transféré dans des boites de Pétri contenant du milieu Gélose nutritive. Les boites sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 h.Cette technique

nous permet de vérifier si lescellules sont viables et cultivables. La boite de celle de la CMB renferme un nombre de colonies inferieur à 3 **(PRESCOTT et coll. 1995).**

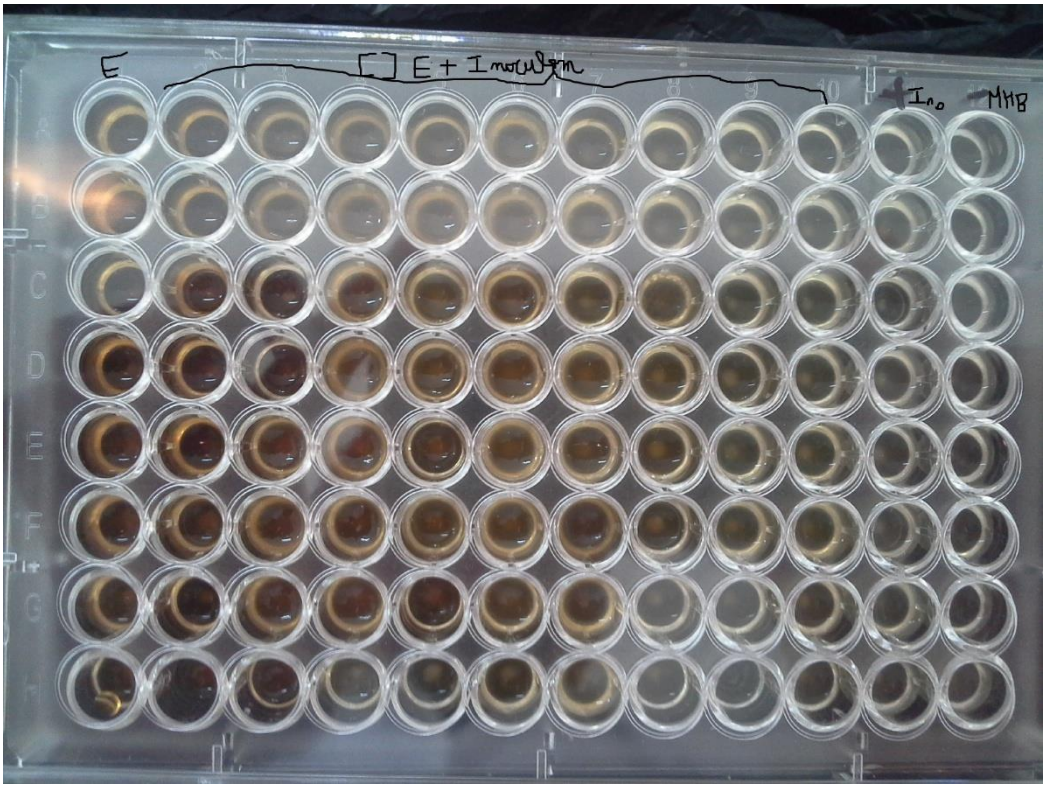


Figure N°18: Utilisation de la microplaque (la méthode des micro-dilutions sur milieu liquide)

Chapitre*IV*
Résultats et discussion

II-1-Caractéristiques organoleptiques :

Le décocté des feuilles de la plante *S.argentea*, présentent certains aspects qui le caractérisent en matière de couleur, de saveur et d'odorat. Ces aspects sont désignés par l'appellation «caractéristiques organoleptiques ». Le décocté est préparé à partir des feuilles de la plante *S.argentea* se distinguent par une coloration marron, une odeur très forte et un gout amer.

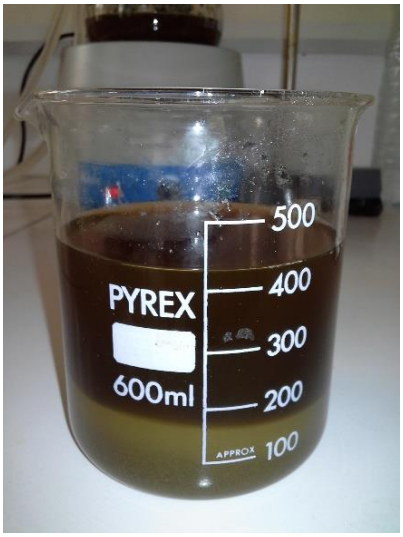


Figure N°23: solution décoctée de *S.argentea.*

II-2.Rendement de décocté :

50g de poudre séche de *Salvia argentea* dans 1l d'eau distillé sont porté à ébullition pandant 60min, le décocté et de 420 ml.

Néanmoins (BELAKREDAR2016) a obtenu de bon rendement en extrait éthanolique et méthanoloque de S. argentea, par macération estimé à 21,2% et 23% respectivement.

II-3. Rendement des huiles essentielles

Nous rappelons que l'huile essentielle a été extraite des feuilles sèches de *Salviaargentea* par un hydrodistillateur . Nous avons obtenu une huile de couleur jaune pâle avec une odeur forte . Nous n'avons pas pu récupérer une quantité huileuse importante, le rendement obtenu est voisin de 0.31%. Ces petites quantité de huille peuvent être dues à plusieurs facteurs cités dans la bibliographie notamment le degré de maturité des fleurs de *Salvia argentea*, l'interaction

avec l'environnement (type de climat, sol), le moment de la récolte et la méthode d'extraction.(Besombes, 2008).

-Le poids de tube vide+vise=24g

Le poids de tube +huile essentielle=25.59g donc poids de HE=1.59

M'=1.59 ; M=500g

*Nous avons aboutis aux résultats suivants :

- RHE%= (M'/M).100

-RHE%= (1.59/500)×100

RHE%=0.31%

II-4.Activités antibactériennes des huiles essentielles de S.argentea:

Les résultats obtenu ont montré que l'HE des feuilles de *S.argentea* présente une activité antibactérienne variable vis-à-vis les souches bactérienne testées.

II-4.A)-pour l'E.coli :

E.coli présente une forte sensibilité vis-à-vis l'HE de *S.argentea* et donne respectivement les diamètres de zone d'inibition (8.2-7.9)cm.

B)-pour S.aureus :

S.aureusprésente une très forte sensibilité vis-à-vis l'HE de *S.argentea* et donne respectivement les diamètres de zone d'inibition (14-12.5)cm.

C)-pour Staphylococcus aureus résistant à la méticilline:

S.aureusprésente une très forte sensibilité vis-à-vis l'HE de *S.argentea* et donne respectivement les diamètres de zone d'inibition (13-7.5)cm.

D)-pour P.multocida :

S.aureusprésente une très forte sensibilité vis-à-vis l'HE de *S.argentea* et donne respectivement les diamètres de zone d'inibition (15-10.1)cm.

Tableau N°4:Répertoire des résultats obtenus par la méthode des aromatogrammes.

Les bactéries / Les H.E	E.coli	S.aureus	Staphylococcus aureus résistant à la méticilline	P.multocida
Feuilles de S.argaentea	+++	+++	+++	+++

+++ : Très sensible

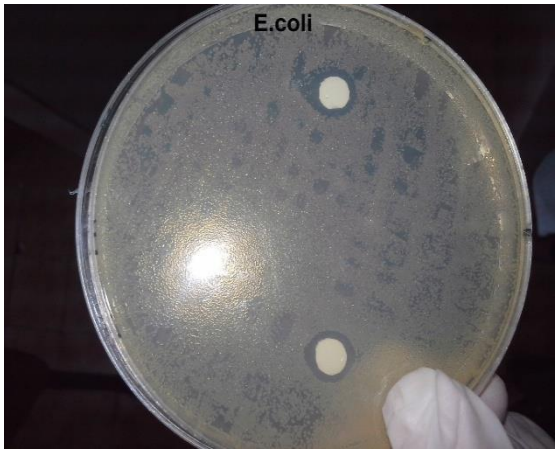


Figure N° 20: Boite pétri de E.coli

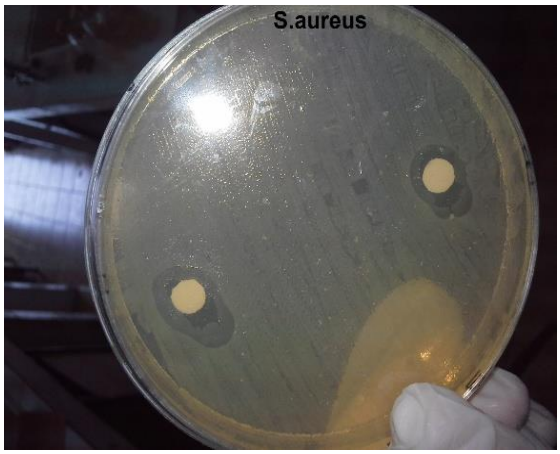
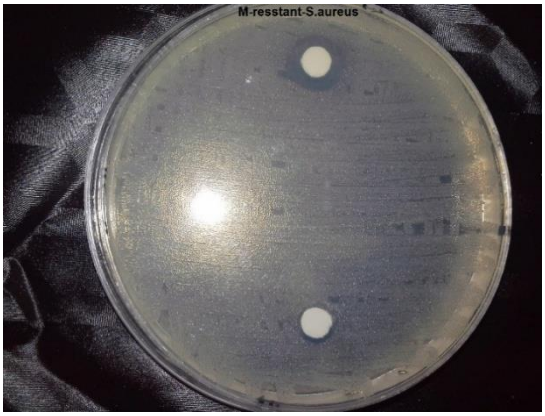


Figure N°21 : Boite pétri de S.aureus



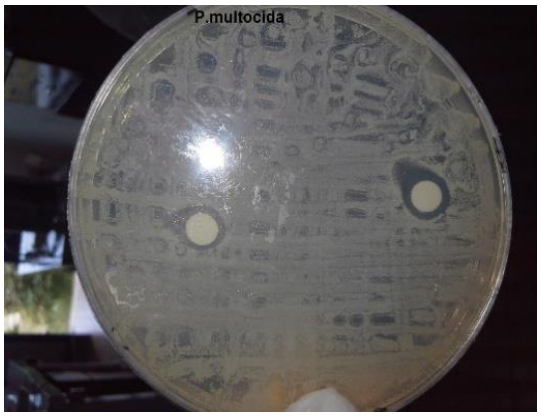


Figure N°22 : Boite pétri de M-resstant-S.aureus**Figure N° 23:** Boite pétri de P.multocida

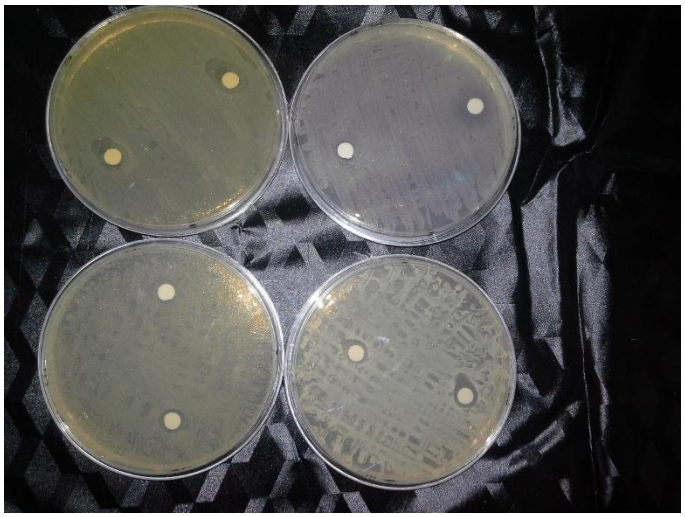


Figure N°24 : Quelques effets antibactériens des huiles essentielles

Activités antifongique des huiles essentielles de S.argentea:

Tableau N°5 : Répertoire des résultsts obtenus par la méthode des aromatogrammes.

Les levures / Les HE	C.albicans	C.albicans	S.cervisiae
Feuilles de S.argaentea	+++	++	+++

+++ :Très sensible

++ :Sensible

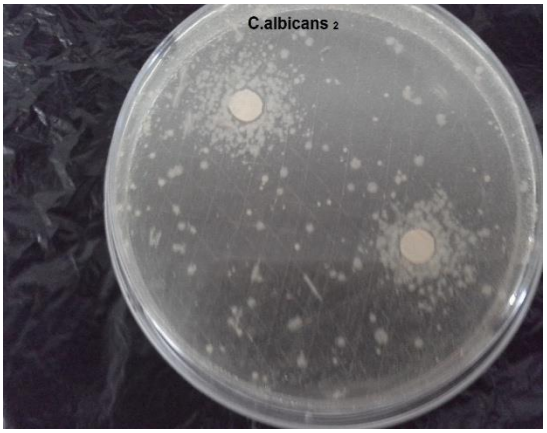


Figure N° 25 : Effet d'HE sur C.albicans1 **Figure N° 26 :** Effet de l'HE sur C.albicans2

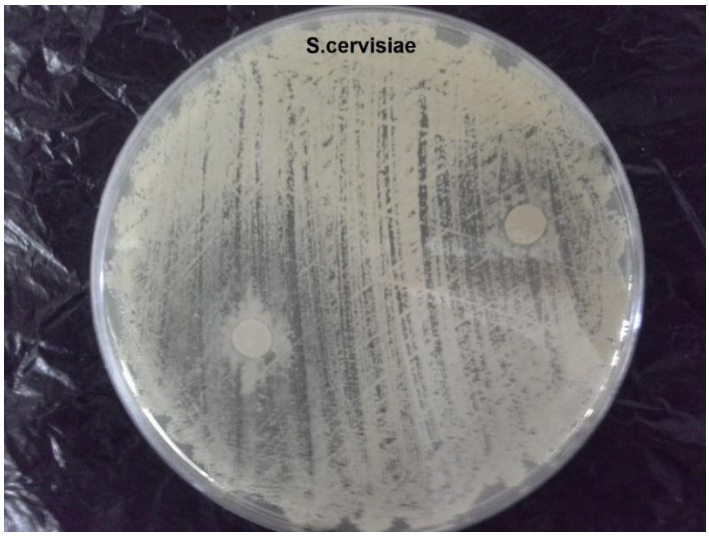


Figure N° 27 : Effet d'HE sur S.cervisiae

II-5.Activités antibactériennes de décoction de S.argentea:

5-1.les Bactéries :

Les résultats obtenu ont montré que la décoction des fleures de *S.argentea* présente une activité antibactérienne variable vis-à-vis les souches bactérienne testées.

5-1.A)-pour S.aureus :

S.aureusprésente une trèsfaible sensibilité vis-à-vis la décoction de *S.argentea* et donne respectivement les diamètres de zone d'inibition (6.2-6.3-6-6 et 6 pour le Témoin)cm.

5-1.B)-pour Staphylococcus aureus résistant à la méticilline:

S.aureusprésente une très faible sensibilité vis-à-vis la décoction de*S.argentea* et donne respectivement les diamètres de zone d'inibition (6-6.1-6-6.3 et 6 pour le témoin)cm.

5-1.C)-pour P.multocida :

S.aureusne présente aucune sensibilité vis-à-vis la décoction de *S.argentea* et donne respectivement les diamètres de zone d'inibition (6-6-6-6 et 6pour le Témoin)cm.

5-1.D)-pour K.pneumonia :

E.coli présente une forte sensibilité vis-à-vis la décoction de *S.argentea* et donne respectivement les diamètres de zone d'inibition (6.8-6.5-6.3-6.3 et 6 pour le Témoin)cm.

5-1.E)-pour E.cloacea :

E.cloacea présente une faible sensibilité vis-à-vis la décoction de *S.argentea* et donne respectivement les diamètres de zone d'inibition (6.2-6.1-6.1-6.1et6 pour le Témoin)cm.

5-1.F)-pour C.freundii :

C.freundii présente une faible sensibilité vis-à-vis la décoction de *S.argentea* et donne respectivement les diamètres de zone d'inibition (6.5-6.3-6.1-6.1et6 pour le Témoin)cm.

5-1.G)-pour S.entirica :

S.enterica présente une faible sensibilité vis-à-vis la décoction de *S.argentea* et donne respectivement les diamètres de zone d'inibition (6.5-6.3-6.1-6.1et6 pour le Témoin)cm.

5-1.H)-pour E.coli :

E.coli présente une faible sensibilité vis-à-vis la décoction de *S.argentea* et donne respectivement les diamètres de zone d'inibition (6.1-6-6-6 et6 pour le Témoin)cm.

Tableau N°6:Répertoire des résultsts obtenus par la méthode des aromatogrammes.

Les bactéries / Les Décoctés	S. areus	M-resstant-S.aureus	P. multocida	K. pneumonia	E. Cloacea	C. freundii	S.enterica	E. coli
Feuillesde S.argetea	+	+	+	++	++	++	++	+++

+ : faible sensibilité

++ : sensible

II-5-2.Activités antibactériennes de la décoction du S.argentea sur les levures :

5-2.A)pour C.albicans 1 :

C.albicans 1 présente une forte sensibilité vis-à-vis la décoction de *S.argentea*pour les fortes cocentrationset donne respectivement les diamètres de zone d'inibition (12-14-8-13 et10 pour le Témoin)cm.

Figure N°36 : effet de décocté sur C. albicans 1

5-2.B) pour C.albicans 2 :.

C.albicans2 présente une forte sensibilité vis-à-vis la décoction de *S.argentea*des fortes concentrationset donne respectivement les diamètres de zone d'inibition (15-8-7-6 et6 pour le Témoin)cm.

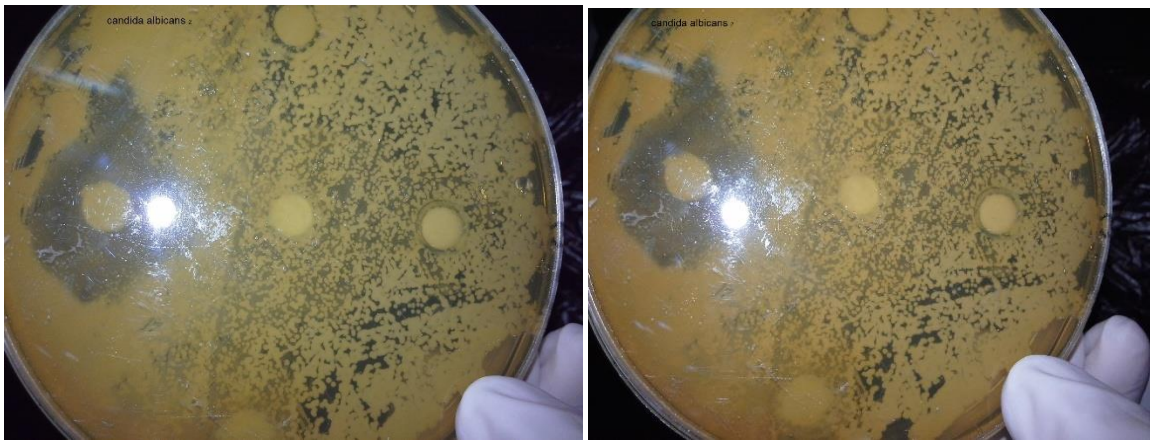


Figure N° 37 :effet de décocté sur C. albicans 2

5-2.C)pour S.cerevisea:

S.cervisea présente une forte sensibilité vis-à-vis la décoction de *S.argentea*des fortes concentrationset donne respectivement les diamètres de zone d'inibition (15-9-7-6et10 pour le Témoin)cm.

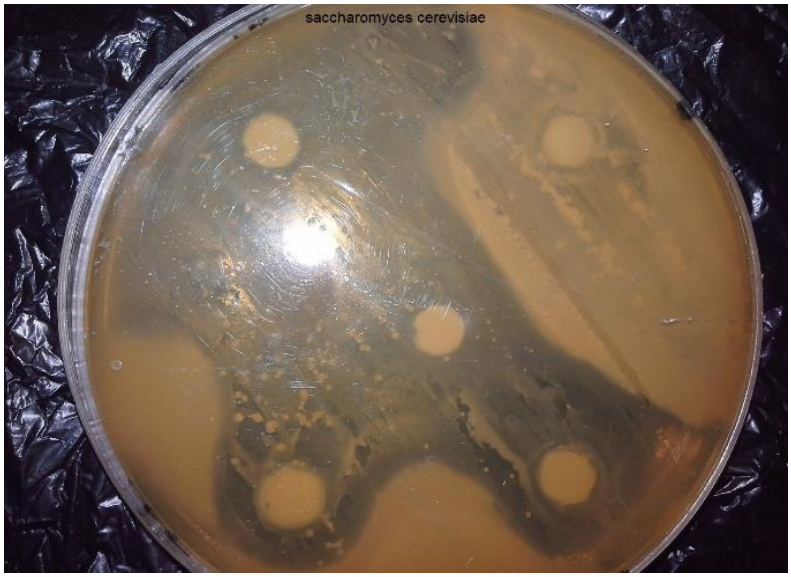


Figure N° 38 :effet de décocté sur S.cerevisea

Tableau N°7 : Répertoire des résultats obtenus par la méthode des aromatogrammes.

Les levures / Les décoctés	C.albicans	C.albicans	S.cervisiae
Feuilles de S.argaentea	+++	+++	+++

+++ :Très sensible

II-6.Activité antibactérienne

La méthode d'aromatogramme nous a permis de mettre en évidence lePouvoir antibactérien et antifongique de l'huile essentielle et l'extrait aqueux des fleurs de S.argentea vis-à-vis des Bactéries et des levure stestées.L'huile essentielle des fleurs de S.argentea a montré une activité antibactérienne antifongique

intéressante, par contre l'extrai aqueux des fleurs de Salvia argentea n'a pas montré une activitéantibactérienne intéressante. Cette faible efficacité est due probablement aux pertes des composés volatils de l'extrai durant le stockage et/ou l'extraction. Cette faible efficacité pourrait être aussi due au fait qu'au cours de la période d'incubation quelques composants volatils de l'extrait peuvent s'évaporer des milieux de culture, ce qui diminuerait sa concentration, et par la suite son activité antibactérienne.(MAROUANE 2013).

Cependant l'évaluation de l'activité antimicrobiennes des extraits éthanolique et méthanolique de Salvia argentea, par la méthode de diffusion sur disque vis-à-vis des différentes souches bactériennes (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus résistant à la méticilline, Pasteurella multocida, Klebsiella pneumonia, Enterobacter cloacae, Citrobacter freundi et Salmonella enterica.), et fongiques (Candida albicans et Saccharomyces cerevisiae) a montré une sensibilité remarquable avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 12,5 à 19mm pour (Pasteurella multocida et Klebsiella pneumonia) pour les fortes concentrations des extraits (100 mg/ml). (BELAKREDAR,2016) et (CHAMI et CHIKHAOUI,2016)

Cependant, les données collectées durant l'étude de la sensibilité des bactéries à l'extrait éthanolique de Salvia argentea, montrent clairement que Klebsiella pneumonia et Pasteurella multocida sont sensibles à toute les concentrations avec des zones d'inhibitions supérieurs à celle des autres souches (12, 9.5, 9, et 8mm) pour Klebsiella et (11, 9.5, 8 et 8.5mm) pour Pasteurella .Confirmant ainsi l'utilisation traditionnelle de l'espèce dans le traitement des infections respiratoires puisques les deux germes sont responsables de maladies respiratoires. (BELAKREDAR,2016).

La méthode des disques est généralement employée comme une analyse préliminaire pour étudier l'activité antibactérienne ensuite viennent des méthodes plus détaillées. Dans cette méthode, les paramètres tels que le volume de l'extrait placé sur les disqus, l'épaisseur de la couche d'agar et si un dissolvant est employé varient considérablement entre les études.(Manouetal.,1998; Burt, 2004). Ceci signifie que cette méthode est utile pour le choix des extraitsactives et pour la mise en évidence de leur activité antibactérienne.

Pour les huilles essentiels de S.argentea nous constatons que E.coli et Staphylococcus aureus sont les bactéries les plus sensibles. Ceci pourrait êtreexpliquépar le fait que les bactéries à G+ possèdent des dispositifs structuraux qui sont plus susceptiblesaux huiles essentielles (Abdul Rahman et al., 2010). En revanche, Staphylococcus aureus résistant à la méticilline et P.multocida est moins sensible. D'après Bassole et al.(2002), les staphylocoques sont déjà connus par leur anti bio-résitance.E. coli s'est avérée plus sensible, malgré qu'elle est Gram négatif. Il estpostulé que les différents composants des huiles essentielle smontrent différents degrés d'activité contre des bactéries G- et G+ (Dorman et Deans, 2000) et que la composition chimique des huiles essentielles peut varier selon plusieurs facteurs intrinsèque et extrinsèque (Lahlou, 2004).Il est connu aussi que les espèces bactériennes n'ont pas également la même sensibilité vis -à-vis d'un agent antibactérien. De même dans une population

bactérienne, il peut exister des différences individuelles de sensibilité. Ainsi, l'actionanti bactérienne est parfois partielle et après une diminution du nombre de bactéries, il y'a unereprise de la croissance bactérienne.(Dorman et Deans, L'activité antibactérienne peut dépendre aussi de la composition du milieu deculture.(Dorman et Deans, 2000).

Dans un étude réalisée par Abed (2007), les huiles essentiel extraites à partir des racines,tiges et des feuilles de S.argentea n'ont montré aucune inhibition de la croissance des staphylococcus aureus, E.coli ce qui prouve que la partie de la plante dont l'huile extraite à aussi influence sur l'activité biologique. Ont démontre que l'activité biologique de l'huile essentielle de Salvia argentea est due à l'anéthol qui est le composant majeur. Ces observation ont été confirmés par (Gulfaz et al ;2008 et Abdul Rahman et al 2010).

Les interaction entre les agents émulsifiants (DMSO), el les constituants des huiles essentielles représent un facteur important pour la mesure de leur activité antimicrobienne car elle peuvent diminuer l'activité antimicrobienne.

II-7.Activité antifongique :

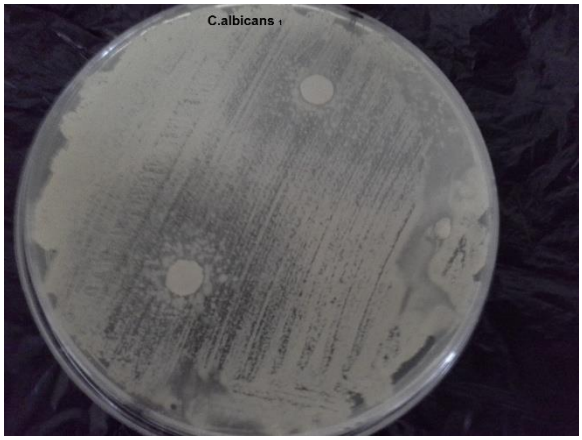
Les huiles essentiel peuvent étre utiles en tant qu'agent antifongique parce qu'elle affect plusieurs cibles simultanément et il n'y aucun rapport de résistance ou d'adaptation des microorganismes à cause de la diversité des composés chimiques (BAKKALI et al,2008).

Beaucoup de chercheurs ont confirmés la présence de l'activité antifongique de l'huile essentielle de S.argentea.De méme,nous résultats prouvent l'existence de cette activité et indiquent que les huiles essentiel de S.argentea ont une forte activité antifongique.

La méthode de diffusion des disques et intesivement employé pour étudier l'activité Antifongique des substance naturelles et des extraits des plantes.nous constatons facilement que l'extrait aqueux des fleurs de S.argentea n'a pas une très bonne activité si on la compare à l'antibiotiquede contrôle. Nousconstatons aussi que E.coli et Staphylococcusaureus sont les bactéries les plus sensibles.

*L'antifongique utulisé est FULCONAZOL.

L'action de l'antifongique sur les levures testées:



FigureN°47 : l'action de l'antifongique sur C.albicans 1

FigureN°48 : l'action de l'antifongique sur C.albicans 2

Figure N° l'effet de l'antifongique sur S.cervisiae

II-7Activité antibactérienne : détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations minimales bactéricides(CMB) :

La méthode des microdilutions sur milieu liquide est une technique quantitative permettant de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis une substance antimicrobienne. Cette méthode se base sur le pouvoir inhibiteur des huiles essentielles à l'intérieur d'un puits, dans un milieu nutritif (Mueller Hinton bouillon) ensemencée par l'inoculum des souches à testées.

Chapitre*IV*
Conclusion

Conclusion générale :

Un grand nombre de plantes aromatiques contiennent des composés chimiques ayant des propriétés biologiques différentes. Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés surles huiles essentielles extraites de ces plantes aromatiques. Cependant, les travaux de recherchesur les propriétés antioxydante, antibactérienne et antifongique de certaines plantes sont rares.

Par conséquent, l'évaluation de telles propriétés demeure une tâche intéressante et utile, enparticulier pour trouver de nouvelles sources d'agents antimicrobiens naturels. Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer in vitro des activités antibactériennes et antifongique de décoction et l'huile essentielle extraite des feuilles de *Salvia argentea* .L'extraction de l'huile essentielle des feuilles de *Salvia argentea*.a été réalisée par hydrodistillation. Le rendement a été voisin de 0.31%.

L'évaluation l'activité antibactérienne, par la méthode de diffusion des disques nous a permis demettre en évidence le pouvoir antibactérien et antifongique de l'extrait aqueux des fleurs de *Salvia argentea* vis-à-vis de huit bactéries et trois levures. Ce pouvoir est relativement faible, avec des zones

d'inhibition variant entre 8 et13mm.

En fin, nos résultats indiquent que l'extrait aqueux des feuilles de *Salviaargentea* n'a pas une très grande activité antibactérienne, par contre une activités antifongique intéressante vis-à-vis les souches fongique examinées(C.albicans 1 et 2 et S.cervisiae).En plus, le pouvoir antifongique de l'extrait aqueux et l'huiles essentieles des feuilles de S.argentea contre les levures testée indique que ces extraits ont une capacité inhibitrice de croissance importante.

A l'essor de la présente étude, il serait intéressant de mener une étude plus approfondiesurl'huile essentielle des feuilles de *Salvia argentea*afin d'isoler, de purifier etd'identifier les composés ayant une activité antibactérienne.

Références Bibliographiques

- Benzeggouta N. (2005) Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Infusées de Quatre plantes Médicinales Connues Comme Aliments. Mémoirede Magister, Université MentouriConstantine.
- Handa S.S. (2008) An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic plants. In: Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D.(Eds) Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre For Science and High Technology, Trieste, Italy. p 21-54.
- Goetz P. (2004) Plaidoyer pour la tisane médicinale, Phytothérapie, 1, 8-15.
  MAKHLOUFI.A,2013 : Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar(Matricariapubescens (Desf.) et Rosmarinusofficinalis L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru . Université Abou BakrBelkaid- Tlemcen-, Algérie p18
- Baba-Aïssa F. (2000), Encyclopédie des Plantes Utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. EDAS Algérie.
- Shakeel A.J. (1999) L'Industrie du Parfum dans laCivilisation Islamique, Afaq Magazine, 25/26, 153-167. (Article en Arabe)
- Besombes C., 2008. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécaniqued'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse Doctorat.Université de LaRochelle.p :41-45.
- Bruneton J., 1993,Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales, Tec &

  Doc,Lavoisier, Paris, p: 915.

- AFNOR, 2000, Huiles essentielles, Monographies relatives aux huiles essentielles, Tome2, 6 eme édition, AFNOR, Paris.
- Anton R. &Lobstein A., 2005, Plantes aromatiques, Epices, aromates, condiments ethuilesessentielles, Tec & Doc, Paris, p.522.
- AFNOR, 1986, Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », AFNOR, Paris, p.57.
- Deroin T., 1988, Biologie florale d'une Annonaceae introduite en Côte D'Ivoire :Canangadiagnosis and epidemiology of fungal infections, p: 249-257.
- Deleveau P., Lorrain M., Mortier F., Rivolier C., Rivolier J., ScheWeitzer A.R.,1985, Secrets et vertus des plantes médicinales, Ed. Sélection du Reader's Digest, Paris.
- Garnéro J., 1991, Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse etleur normalisation, Ed. Encyclopédie des médecines naturelles, Paris, France, p. 2-20.
- BelaicheP., 1979, L'aromatogramme, Traité de phytothérapie et d'aromathérapie,
  M.S.A.Editeur, Paris,Tome 1, p :204
- Maffei& Sacco, 1997, Perfumer and flavorist, Flavour and Fragrance Journal.13, p.61.
- Kothe H.W., 2007, 1000 plantes aromatiques et médicinales, Terres Editions.
- Lahlou M., 2004, Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils,Phytotherapy Research, p. 435-448.
- Richard H. et Peyron F., 1992, Epices et aromates, Ed .Tec & Doc-Lavoisier, Paris,p. 339.

- Duarte, M. R., & Lopez, J. F. (2007). Stem and leaf anatomy of PlectranthusneochilusSchltr.,Lamiaceae. Brazilian Journal of Pharmacognosy , 17 (4), pp. 549-556.
- Bektas, T., Dimitra, D., Atalay, S., Munevver, S., &Moschos, P. (2005). Antimicrobial and antioxidant activites of essential oil and various extracts of Salvia tomentosa Miller. Food Chemistry , 90, pp. 333-340.
- M'hammedi, Z. (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoides de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de magistère . Université Abou BakrBelkaid- Tlemcen-, Algérie, 155p.
- Quezel, P., & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Paris, France: éd CNRS, 603 p.
- Burnie, G., Forrester, S., Greig, D., Guest, S., Harmony, M., Hobley, S., et al. (2006). Botanica: Encyclopédie de botanique et d'horticulture (éd. française). Paris: éd Place des victoires(sous licence de Random House Australia).
- NATHALIE VERBEKE., 2006. L'Aromatherapie comme alternative credible a

  l'antibiotherapie. Préparatrice en pharmacie, p20.
- DANIELLE CLAVE, 2011. Fiche TechniqueBacteriologie: Enterobactercloacae .

  Laboratoire de Bactériologie Hygiène Toulouse. pp1-2.
- GOUMNI et al,2013, Etude de l'activite antimicrobienne de l'huile essentielle extrait de la plante laurusnobilisl.UniversitéKasdiMerbah-Ouargle-Algérie, p 10-11.
- HELLAL Z., 2011. Des propriétés antibactériennes et antioxydants de certaines huiles

essentielles extraites des Citrus Application sur la sardine (Sardina Pilchardus). Magistère,

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. pp1-8-45-78.

- ZENASNI L,2014.Etude de polymorphisme chimique des huiles essentielles de Thymus satureioidesCoss et d'OriganumcompactumBenth et du genre Nepeta et évaluation de leur propriété antibactérienne .Rabat Maroc p69.
- CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2006) Performance Standards for antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. Ninth Edition (M2-A9).26 (1).
- Prescott, Harley et Klein (1995).Microbiologie.DeBoek-Wesmael. S.A .,p.1014.
- MAROUAN Abdlaziz (2013): Caractérisation, activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de trois espèces de sauges (Salviaalgeriensis, Salviaargentea et Salviabarrelieri) Université Hassiba Ben Bouali à Chlef-Algérie p64.
- BALAKRDER (2016) : Contribution à l'évolution de l'activité antibactériennes et antifongique de l'extrait éthanolique de *Salviaargentea.*
- CHAMI, et CHIKHAOUI (2016) : Contribution à l'évolution de l'activité antibactériennes et antifongique de l'extrait méthanolique de *Salviaargentea.*

Annexes

Compositions des milieux de culture

1.Mileux de culture :

- **Eau physiologique :**

NaCl…… ….9g

Eau distillee……1000 ml

- **Gélose Mueller Hinton (GMH)**formule (en g/l)

Infusion de viande de bœuf …… ……..4,0

Hydrolysat de caseine……17,5

Amidon…… ……..1,5

Agar…… … ……..15,0

Eau Distillée …… ….qsp 1L

pH = 6,8 (±0,2) à 37°C

*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.

- **Bouillon Mueller Hinton (BMH)**formule (en g/l)

Infusion de viande de bœuf . ……..2,0

Hydrolysat de caseine ……17,5

Amidon ……1,5

Eau Distillée…… ….qsp 1L

pH = 7,2(±0,2) à 37°C

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

- **Gélose Nutritive (GN)** formule (en g/l)

Peptone ……..15,0

Extrait de levure ……..3,0

Chlorure de sodium ……..6,0

Glucose……1,0

Agar …… ……. 15,0

Eau Distillée…….. ….qsp 1L

pH = 7,3 (±0,2) à 37°C

*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 pendant 15 min.

Bouillon Nutritif (BN, Fluka)formule (en g/l) :

Peptone ……15,0

Extrait de levure ……3,0

Chlorure de sodium…… ……..6,0

Glucose……1,0

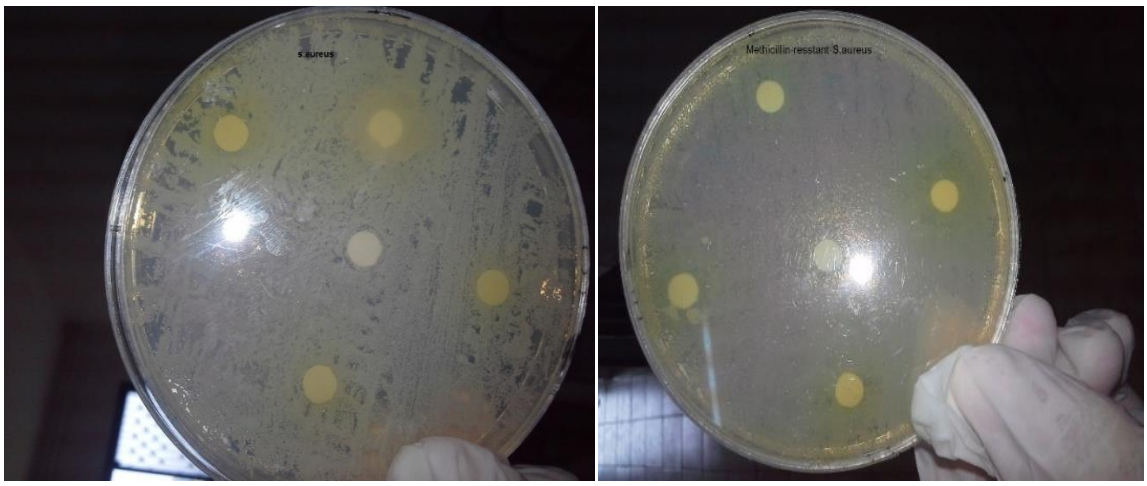
Eau Distillée…… ……..qsp 1L

pH = 7,1 (±0,2) à 37°C

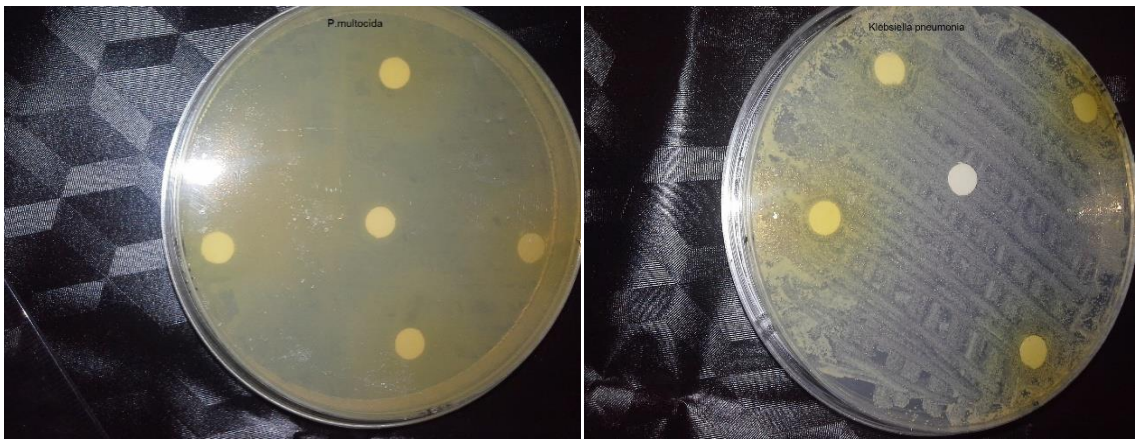
*Suspendre 25g de la poudre dans un litre d'eau distillée, en suite stériliser par autoclavage à 121 °C pendant 15 min.

Figure N°1 :Les différentes concentrations de décocté FigureN° 2 Stérilisations des extraits

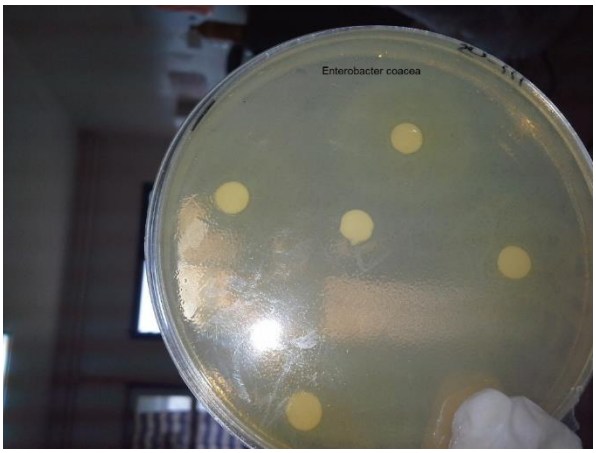
Figure N°3 : extraction des huiles essentielles de *Salvia argentea*

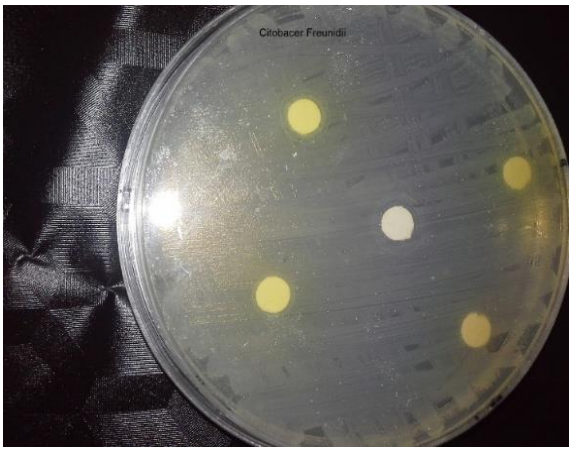


Eeffet de décocté sur S.aureusEeffet de décocté sur M-resstant-S.aureus

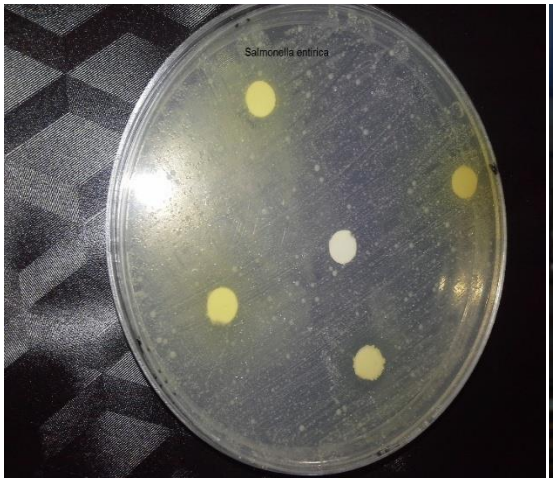


Effet de décocté sur P.multocidaEeffet de décocté sur K.pneumonia





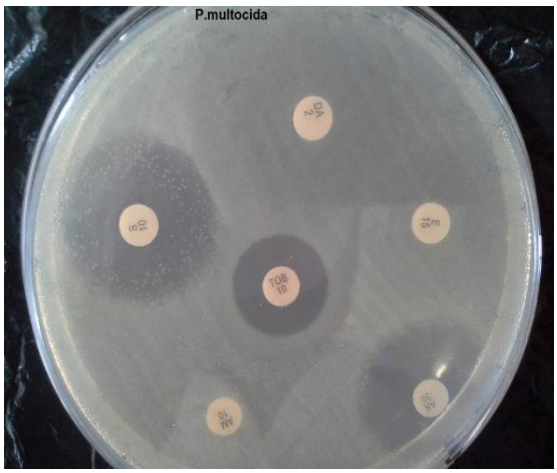
Eeffet de décocté sur E.cloaceaEffet de décocté sur C.freundii

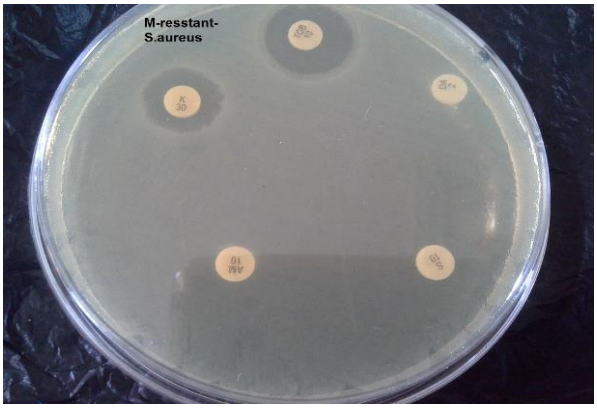


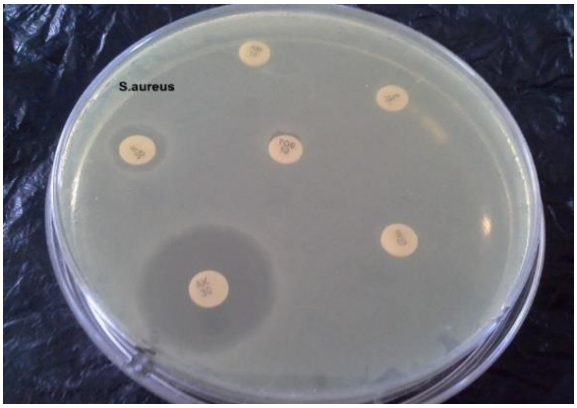
Effet de décocté sur S.enterica Effet de décocté sur E.coli

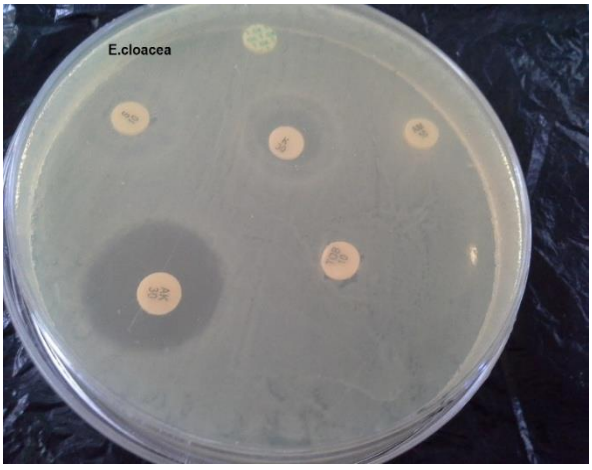
Figure N° 3 :effets antibactériens de décoction

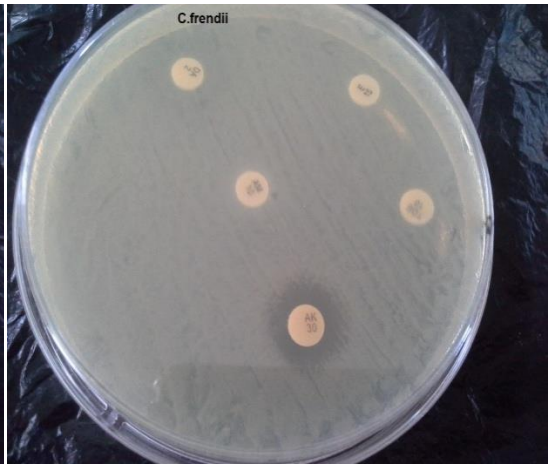
K.pneumonia


P.multocida


M-resstant-
S.aureus


S.aureus


E.cloacea


C.frendii

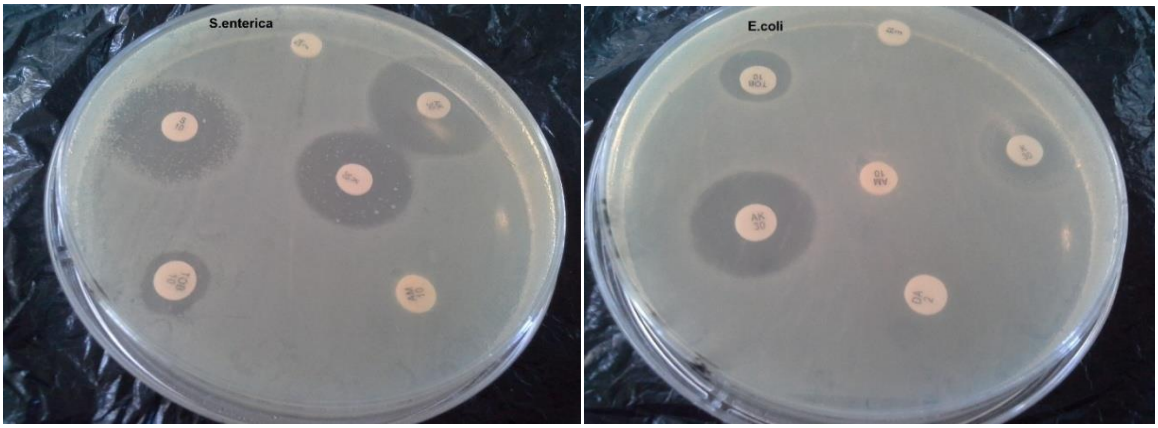


Figure 4 : **L'action des antibiotiques sur les bactéries testées**