

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la Nature
et de la Vie



جامعة فرحات عباس سطيف 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE

N°...../SNV/2016

THÈSE

Présentée par

Mme ADIMI LEILA ZADE

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière : BIOLOGIE

Spécialité : MICROBIOLOGIE

THÈME

**Contribution à l'étude des effets antimicrobiens et
antioxydants d'une plante médicinale : la Mélisse (*Melissa
officinalis*)**

Soutenue publiquement le 26 /04 /2018

DEVANT LE JURY

Président :	Mr HAMIDECHI A.hafid	Pr. Université M Constantine1
Directeur de	Mr GUECHI Abdelhadi	Pr. Université FA Sétif 1
Examineurs :	Mr DEHIMAT Laid	Pr. Université M Constantine1
	Mme MIHOUBI Ilham	Pr. Université M Constantine1

Laboratoire de Microbiologie Appliquée

Remerciements

Je remercie Dieu Allah le tout puissant qui m'a donné le courage et la patience pour réaliser ce travail.

J'exprime ma gratitude au Pr. Guechi Abdelhadi pour son encadrement et ses précieux conseils. Cette expérience fut enrichissante à de nombreux égards.

J'adresse mes remerciements au Pr. Hamidechi Abdelhafid de l'Université Mantouri de Constantine 1 de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'examiner mon travail et de présider le jury.

J'adresse mes remerciements également aux membres du jury de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être mes examinateurs: Pr. Dehimat Laid et Pr. Mihoubi Ilham de l'Université de Constantine 1 d'avoir accepté d'examiner mon travail.

J'exprime tous mes remerciements à toute personne qui a aidé dans la réalisation de ce travail en particulier mon mari Mr Nouasri Abdelfatah (Pr Université Ferhat ABBAS de Sétif1), Mr Harzalah Daoud (Pr Université Ferhat ABBAS de Sétif1), Mme Charvat Sabah (Pr Université Ferhat ABBAS de Sétif1), Mme Dehamna Saliha (Pr Université Ferhat ABBAS de Sétif1), Mme Amira Fatima, (Pr Université Ferhat ABBAS de Sétif1), Mr Mahdadi Rachid (Pr Université Ferhat ABBAS de Sétif1), Mr Khanouf Saddik (Pr Université Ferhat ABBAS de Sétif1), Mr Khenchouche Abdelhalim (Pr Université Ferhat ABBAS de Sétif1) et à toute personne dont j'ai oublié de citer le nom je dirai mille merci.

Adimi Leila Zade.

Dédicace

Je dédie ce travail

A mes chers parents

Ma défunte adorable mère Adimi Fatima Zahra pour son sacrifice et son soutien durant toutes mes années d'étude, j'aurai souhaité qu'elle soit aujourd'hui présente.

Mon cher père, Abdelhamid pour son encouragement et sa confiance en sa fille bien aimée.

A mon cher époux Mr Nouasri Abdelfatah pour tout son aide, sa confiance, son encouragement et sa patience.

A ma chère adorable fille Alaa Belkiss

A mon cher adorable fils Nour Essalem

A mes chers sœurs et frères

A toute ma famille Adimi

A toutes mes amies

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	xxi
CHAPITRE I	6
I. ETUDE DE MICRO-ORGANISMES	7
I.1. <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	7
I.1.1. Classification	7
I.1.2. Définition	7
I.1.3. Historique	8
I.1.4. Culture	8
I.1.5. Habitat	9
I.1.6. Caractères morphologiques	9
I.1.7. Caractères biochimiques	10
I.1.8. Structure antigénique	11
I.1.9. Vitalité	11
I.1.10. Pouvoir pathogène	11
I.1.10.1. Infections invasives (lésions suppurées)	11
I.1.10.2. Septicémies et endocardites	12
I.1.10.3. Manifestation d'origine toxinique (toxicose)	12
I.1.11. Les substances biologiques élaborées	12
I.1.12. Diagnostic bactériologique	13
I.1.13. Staphylocoque et antibiotiques	14
I.1.14. Traitement	14
I.1.14.a. Traitement préventif	14
I.1.14.b. Traitement curatif	14
I.2. <i>ESCHERICHIA COLI</i>	16
I.2.1. Classification	16
I.2.2. Définition	16
I.2.3. Habitat	17
I.2.4. Caractères biochimiques	17
I.2.5. Caractères morphologiques	17
I.2.6. Structure antigénique	17
I.2.7. Pouvoir pathogène	18
I.2.7.1. Infection intestinale	18

I.2.7.2. Infection urinaire -----	18
I.2.7.3. Septicémie-----	19
I.2.7.4. Infection néonatale-----	19
I.2.7.5. Autres infections à colibacilles -----	19
I.2.8.Substances biologiques élaborées par <i>Escherichia coli</i> -----	19
I.2.9. Diagnostic bactériologique -----	19
I.2.9.1. Dans les infections intestinales-----	19
I.2.9.2 Dans les infections urinaires-----	20
I.2.10. <i>Escherichia coli</i> et antibiotiques-----	20
I.2.11. Traitement-----	20
I.2.11.a. Traitement curatif-----	20
I.2.11.b. Traitement préventif -----	21
I.3. <i>CANDIDA ALBICANS</i> -----	22
I.3.1. Classification-----	22
I.3.2. Définition -----	22
I.3.3. Structure-----	22
I.3.4. Morphologie -----	23
I.3.5. Génome -----	23
I.3.6. Biologie -----	24
I.3.7. Multiplication-----	24
I.3.8. Candidoses -----	25
I.3.9. Symptômes -----	25
I.3.10. Facteurs favorisants-----	25
I.3.11. Critères d'identification-----	26
I.3.12. Culture -----	27
I.3.13. Diagnostic-----	27
I.4. <i>ASPERGILLUS NIGER</i> -----	29
I.4.1. Classification-----	29
I.4.2. Définition -----	29
I.4.3. Historique-----	30
I.4.4. Substrats-----	31
I.4.5. Morphologie -----	31
I.4.6. Milieux -----	32
I.4.7. Culture et Identification -----	32

I.4.8. Pathogénicité-----	33
I.4.9. Applications à la biotechnologie -----	34
I.4.10.Traitement des infections fongiques invasives-----	35
CHAPITRE II-----	36
II. L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE -----	37
II.1. DEFINITION DES ANTIOXYDANTS -----	37
II.2. MECANISME D'ACTION DES ANTIOXYDANTS -----	37
II.3. LE SYSTEME ANTIOXYDANT -----	37
II.3.1. Le système antioxydant endogène -----	37
II.3.1.1. Le système antioxydant enzymatique -----	37
II.3.1.2. Les antioxydants endogènes non enzymatiques-----	38
II.3.2. Le système antioxydant exogène-----	38
II.3.2.1. La vitamine E -----	38
II.3.2.2. La vitamine C-----	39
II.3.2.3. Les caroténoïdes -----	39
II.3.2.4. Les polyphénols -----	39
II.3.3. Les antioxydants synthétiques -----	43
CHAPITRE III -----	44
ETUDE DE PLANTES -----	44
III.1 RAPPELS SUR LA PHYTOTHERAPIE -----	45
III.2. LES HUILES ESSENTIELLES -----	46
III.2.1. Définition-----	46
III.2.2 Certaines propriétés des huiles essentielles -----	46
III.2.3. Mode d'action -----	47
III.2.4. Précautions d'emploi -----	47
III.3. LA MELISSE (<i>MELISSA OFFICINALIS</i> L.)-----	48
III.3.1. Classification -----	48
III.3.2. Description botanique -----	49
III.3.3. Habitat-----	49
III.3.4. Culture et récolte-----	50
III.3.5 Historique de la Mélisse -----	50
III.3.6 Parties utilisées de la plante-----	51
III.3.7 Composition -----	51

III.3.8 Usages traditionnels-----	52
III.3.9 Principaux effets-----	52
III.3.10 Posologie de la Mélisse-----	53
III.3.10.a. Usage interne-----	53
III.3.10.b. Usage externe-----	53
III.3.11 Etudes qui ont été faites sur les propriétés de la Mélisse-----	54
III.3.12 Propriétés de l'huile essentielle de la Mélisse-----	59
III.4 L'ORIGAN (<i>ORIGANUM VULGARE L.</i>)-----	61
III.4.1 Classification-----	61
III.4.2 Définition- Description-----	61
III.4.3 Récolte-----	62
III.4.4 Histoire-Tradition-----	63
III.4.5 Habitat-culture-----	63
III.4.6 Parties utilisées-----	63
III.4.7 Composants principaux de la plante-----	63
III.4.8 Principaux composants de l'huile essentielle-----	64
III.4.9 Principales indications-----	64
III.4.10 Mode d'action-----	65
III.4.11 Forme galénique disponible-----	66
III.4.12 Conseils d'utilisation-----	66
III.4.13 Précautions et contre-indications-----	66
III .5 LA LAVANDE (<i>LAVANDULA ANGUSTIFOLIA L.</i>)-----	67
III.5.1 Classification-----	67
III.5.2 Description-----	67
III.5.3 Habitat-----	68
III.5.4 La lavande à travers l'histoire-----	68
III.5.5 Parties utilisées-----	69
III.5.6 Composition :-----	69
III.5.7 Propriétés de la plante-----	70
III.5.8 Propriétés de l'huile essentielle-----	71
III.5.9 Préparations et usages-----	72
III.5.10 Effets indésirables de la Lavande-----	72
III.6 LA MENTHE POIVREE (<i>MENTHA PIPERITA L.</i>)-----	73
III.6.1 Classification-----	73

III.6.2 Description	73
III.6.3 Histoire et Origine	75
III.6.4 Habitat / Culture / Récolte	76
III.6.5 Composition	77
III.6.6 Parties utilisées en phytothérapie	77
III.6.7 Propriétés de la Menthe poivrée	78
III.6.8 Effets indésirables	79
III.6.9 Mise en garde dangers	79
III.6.10 Contre-indications de l'huile essentielle de menthe poivrée	80
III.6.11 Interactions médicamenteuses	80
CHAPITRE IV	81
MATERIEL ET METHODES	81
IV.1. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE	82
IV.1.1. Reception des souches	82
IV.1.2. Préparation des extraits frais de plantes	82
IV.1.2.1. Matériel utilisé	82
IV.1.2.2. Mode opératoire	83
IV.1.2.3. La décoction	83
IV.1.2.4. L'infusion	84
IV.1.3. Extraction des huiles essentielles	85
IV.1.3.1. Matériel	85
IV.1.3.2. Mode opératoire	85
IV.1.4. Préparation des extraits de la macération alcool	87
IV.1.4.1. Matériels nécessaires pour une macération	87
IV.1.4.2. Préparation de la macération hydro-éthanoïque	88
IV.1.5. Technique de mesure de la Densité Optique (DO) (La méthode de la spectrophotométrie)	88
IV.1.5.1. Matériel nécessaire pour une spectrophotométrie	88
IV.1.5.2. Mode opératoire	89
IV.1.6. Action des différents extraits frais de plantes sur <i>Escherichia coli</i>	90
IV.1.6.1. Technique de puits	90
IV.1.6.2. Technique de l'aromatogramme pour <i>Escherichia coli</i>	91
IV.2. ACTIVITE ANTIFONGIQUE	93
IV.2.1. reception des souches fongiques	93
IV.2.2. Préparation des extraits des plantes	93

IV.2.2.1. Extraction des huiles essentielles-----	93
IV.2.3. Technique des puits avec Les huiles essentielles Sur <i>Candida albicans</i> -----	97
IV.2.3.1. Matériel-----	97
IV.2.4. Technique de l'aromatogramme (méthode des disques) avec les huiles essentielles Sur <i>Candida albicans</i> -----	97
IV.2.4.1 Matériel -----	97
IV.2.4.2 Mode opératoire-----	98
IV.2.5. Méthode de la macération hydro-éthanoïque -----	98
IV.2.5.1. Mode opératoire -----	99
IV.2.6. Technique des puits avec les macérât sur <i>Candida albicans</i> -----	101
IV.2.6.1. Mode opératoire -----	101
IV.2.7. Technique de l'aromatogramme (méthode des disques) avec les macérâts sur <i>Aspergillus niger</i> -----	102
IV.2.7.1. Matériel-----	102
IV.2.7.2. Mode opératoire -----	102
IV.2.8. Technique de mesure la Densité Optique (DO) (La méthode de la spectrophotométrie) -	103
IV.1.5.1. Matériels nécessaires pour une spectrophotométrie -----	103
IV.1.5.2. Mode opératoire -----	103
IV.3. ACTIVITE ANTIOXYDANTE -----	106
IV.3.1. Matériel -----	106
IV.3.3. Mode opératoire -----	106
IV.3.3.1. L'extraction par macération -----	106
IV.3.3.2. Screeningphytochimique -----	107
IV.3.3.3. Test De blanchissement du β - carotène-----	107
CHAPITRE V -----	108
RESULTATS ET DISCUSSIONS -----	108
V.1. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE -----	109
V.1.1. Aspect morphologique des bactéries-----	109
V.1.2. Les plantes -----	110
V.1.2.1 Préparation des extraits frais de plantes -----	110
V.1.2.2. Préparation des extraits à l'aide de la décoction -----	111
V.1.2.3. Préparation des extraits à l'aide de l'infusion -----	112
V.1.2.4. Préparation des huiles essentielles -----	112
V.1.2.5. Préparation des extraits de la macération alcoolique -----	115

V.1.2.6. Préparation des extraits de plantes pour la spectrophotométrie -----	116
V.2. ACTIVITE ANTIFONGIQUE-----	124
V.2.1. Aspect morphologique des deux champignons-----	124
V.2.2. Les plantes -----	125
V.2.2.1. obtention des huiles essentielles -----	125
V.2.2.2. obtention des extraits de la macération alcoolique -----	130
V.2.2.3. Les différentes valeurs de l'évaluation de la densité optique pour <i>Candida albicans</i> et <i>Aspergillus niger</i> -----	131
V.3. ACTIVITE ANTIOXYDANTE-----	138
V.3.1. Rendement des extractions -----	138
V.3.2. Le screening phytochimique-----	138
V.3.3. Test de blanchissement du β - carotène -----	140
CONCLUSION ET PERSPECTIVES -----	144
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES -----	145
ANNEXES -----	159
PHOTO THEQUE -----	162
PRODUCTION SCIENTIFIQUE -----	172

RESUMES

ملخص

ان الهدف الرئيسي من هذا البحث هو مساهمة دراسة فعالية مضاد للبكتيريا، مضاد للفطريات والنشاط المضاد للأكسدة لنبتة طبية تعرف باسم الترنجان المنتشرة في منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط ولكنها للأسف مجهولة في بلادنا ومن ثم مقارنتها مع بعض النباتات الطبية المستعملة في منطقتنا بسطيف وهي نبتة الخزامة، الزعتر والنعناع. في الجزء الأول أجرينا اختبارات لتأكيد فعالية مضاد للبكتيريا، مضاد للفطريات ومضاد للأكسدة الخاص بنبتة الترنجان. لقد تم اختبار اثنين من البكتيريا

الأولى هي بكتيريا *Escherichia coli* سالبة الجرام المتعايشة مع الانسان ولكن يمكن أن تصبح في ظروف معينة ممرضة ، والثانية هي بكتيريا *Staphylococcus aureus* هي عبارة ايضا عن بكتيريا تنتمي إلى الفلور الطبيعية ويمكن أن تسبب المرض في ظروف معينة.

أثنان من الفطريات تم أيضا استعمالهما *Aspergillus niger* و *Candida albicans*

Candida albicans وهي خميرة خيطية تنتمي الى الفلور الطبيعية وقد تسبب عدة أمراض

Aspergillus niger وهو نوع من الفطريات الخيطية يسبب بعض الامراض واهمها ما يصيب الجهاز التنفسي عند الانسان.

أظهرت نبتة الترنجان نشاط مضاد للبكتيريا قوي على كلى النوعين من البكتيريا التي شملتها الدراسة قوة مضادة للفطريات وخاصة *Candida albicans*.

ان فحص مركبات الفينول اثبت مستويات عالية من مركب البوليفي نول عند الترنجان ويحتوي أيضا مركب الفلافونويد.

وخلال اختبار تبييض الكروتين تاكدنا أن نبتة الترنجان تحتوي على مضاد للأكسدة هام جدا .

في الجزء الثاني أجرينا دراسة مقارنة بين الترنجان والنباتات الاخرى وهي الخزامة، الزعتر والنعناع أعطت هذه المقارنة لنبتة الترنجان مكانا بارزا بالنسبة لطاقتها المضادة للبكتيريا والفطريات وقيمتها كمضاد للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: *Escherichia coli* ، *Staphylococcus aureus* ، *Candida albicans* ،

Aspergillus niger ، Aromatogramme, Spectrophotométrie ، الاختبار البيولوجي الترنجان ، الزعتر ، النعناع ، الخزامة ، مضاد الأكسدة ، مضاد للبكتيريا ومضاد للفطريات.

Résumé

L'objectif principal de ce travail était de chercher et confirmer l'activité antibactérienne, antifongique et antioxydante d'une plante médicinale la Mélisse, une plante très connue dans le bassin méditerranéen mais malheureusement ignorée dans notre pays. Et ensuite la comparer avec d'autres plantes médicinales très utilisées dans notre région Sétif : l'Origan, la Lavande et la Menthe.

Dans une première partie nous avons procédé à des tests pour confirmer le pouvoir antibactérien, antifongique et antioxydant de la Mélisse.

Deux fameuses bactéries ont été testées, il s'agit d'*Escherichia coli*, une bactérie à Gram négatif qui est commensale mais peut devenir pathogène dans certaines circonstances et la deuxième est *Staphylococcus aureus* qui est une bactérie appartenant à la flore normale et peut devenir aussi pathogène dans les conditions favorables.

Deux champignons ont été aussi utilisés, la levure *Candida albicans*, une levure filamenteuse de la flore normale. Elle peut être responsable de la candidose.

Aspergillus niger est un champignon filamenteux qui peut être responsable aussi de mycoses pulmonaires chez l'homme.

La Mélisse a révélé une très forte activité antibactérienne sur les deux types de bactéries étudiées. Elle a montré aussi un pouvoir antifongique surtout sur *Candida albicans*.

Le dosage des composés phénoliques a indiqué la présence de teneurs considérables en polyphénols chez la Mélisse et elle contient aussi les flavonoïdes. La Mélisse possède aussi un pouvoir antioxydant important qui a été montré par le test de blanchissement de β -carotène.

Dans la deuxième partie, on a procédé à une étude comparative entre la Mélisse et les autres plantes : l'Origan, la Lavande et la Menthe. Cette comparaison a bien montré que la Mélisse occupe une importante place quant à sa capacité antibactérienne, antifongique et antioxydante.

Mots clés : Mélisse, Lavande, Origan, Menthe, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, Aromatogramme, Bio-essai, Spectrophotométrie, pouvoir antioxydant.

ABSTRACT

The principal object of this work was to research and confirm the antibacterial, antifungal, and antioxidant activity of a medical plant called "Melissa", a very well known plant in the Mediterranean basin, but not very much in Algeria. Additionally, and in this study, Melissa has been compared to other medical plants (Lavender, Oregano, Mint) widely used in the region of Setif .

Two famous bacterias have been used: *Escherichia coli*, with a gram-negative. It is commensal, but it could become pathological in certain circumstances. The second bacteria is *Staphylococcus aureus*, which belongs to the normal flora. however, and in some conditions, it could become pathological as well.

Two fungi have also been used: *Candida albicans*, a filamentous yeast of the normal flora. It can cause candidiasis. *Aspergillus niger*, a filamentous fungus, which can be responsible for pulmonary fungal infections in men.

Melissa has shown a very strong antibacterial activity with both types of bacteria. It has also displayed an antifungal ability against *Candida albicans*.

The dosage of the phenolic compounds has indicated a presence of considerable levels of polyphenols in Melissa. It also contains flavonoids. Additionally, Melissa has a very important antioxidant ability, which has been confirmed with the bleaching of carotene test.

In a second part, a comparative study has been proceeded between Melissa and other plants: Lavender, Mint, and Oregano. This comparison has offered Melissa a very prominent place due to its antibacterial, antifungal, and antioxidant capacity.

Key words: Melissa, Lavender, Mint, Oregano, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, aromatoqram, bioassay, spectrophotometry, antioxidant ability.

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Coloration de Gram des <i>Staphylocoques</i>	8
Figure 2 : Morphologie des <i>Staphylocoques</i> sous microscope électronique.....	10
Figure 3: Morphologie d' <i>Escherichia coli</i> sous microscope électronique	16
Figure 4: Cellules de <i>Candida albicans</i> au microscope électronique	23
Figure 5 : Colonies de <i>Candida albicans</i>	27
Figure 6: Microscopie optique d' <i>Aspergillus niger</i> , grossie 100 fois.....	29
Figure 7 : Microscopie électronique d' <i>Aspergillus niger</i>	30
Figure 8 : Culture d' <i>Aspergillus niger</i> dans une boîte de Pétri	31
Figure 9: Affection d' <i>Aspergillus niger</i> (une otite externe).....	34
Figure 10: Traitement des infections fongiques	35
Figure 11: Liens indiquant l'effet des flavonoïdes sur les différentes maladies	41
Figure 12: <i>Melissa officinalis</i> L.....	48
Figure 13: Feuilles et fleurs de Mélisse.....	49
Figure 14: Parties aériennes séchées de la Mélisse	51
Figure 15: <i>Origanum vulgare</i>	62
Figure 16 : Fleurs de l'Origan	62
Figure 17 : <i>Lavandula angustifolia</i> L.	68
Figure 18 : Fleurs de <i>Lavandula angustifolia</i>	69
Figure 19: <i>Mentha piperita</i>	74
Figure 20: Fleurs de la Menthe poivrée.....	75
Figure 21: Culture sauvage (dans la nature) de <i>Mentha pipérta</i>	76
Figure 22: Parties aériennes de la Menthe poivrée.....	78
Figure 23: Huile essentielle de la Menthe poivrée « <i>Mentha piperita</i> »	80
Figure 24 : <i>Escherichia coli</i>	82
Figure 25 : <i>Staphylococcus aureus</i>	82
Figure 26: A, B et C : Préparation des extraits de plantes.....	83
Figure 27: Préparation des solutions décoctées.....	84
Figure 28 : Les flacons des solutions infusées	85
Figure 29 : Montage pour l'extraction des huiles essentielles	86
Figure 30: Décantation des Huiles essentielles	87

Figure 31: Lecture de la densité optique des échantillons.....	89
Figure 32: Boiteensemencée avec <i>Escherichia coli</i> (Méthode des puits).....	90
Figure 33 : Méthode des disques	91
Figure 34: <i>Candida albicans</i>	93
Figure 35 : <i>Aspergillus niger</i>	93
Figure 36: Montage de l'hydro distillation utilisé.....	95
Figure 37: Ampoule à décanter employée.....	96
Figure 38: L'ensemencement	102
Figure 39: Technique de l'aromatogramme	103
Figure 40 : A ,B,C et D :Etapes du procédé de la macération hydro-éthanoïque.....	100
Figure 41: Souche de <i>Candida albicans</i> réactivée dans le bouillon nutritif.....	101
Figure 42: Préparation des filtrats des plantes.....	104
Figure 43: Lecture des densités optiques pour les souches fongiques	105
Figure 44: Colonies de <i>Staphylococcus aureus</i>	110
Figure 45: Colonies d' <i>Escherichia coli</i>	110
Figure 46: Zone d'inhibition pour <i>Escherichia coli</i> avec l'Origan (jus frais).....	110
Figure 47: Zone d'inhibition d' <i>Escherichia coli</i> avec la Menthe (extrait décocté) ...	111
Figure 48: Zone d'inhibition avec la Menthe sur <i>Staphylococcus aureus</i> (extraits décoctés)	111
Figure 49: Zone d'inhibition avec la Mélisse sur <i>Staphylococcus aureus</i> (extraits décoctés)	112
Figure 50: Zone d'inhibition avec la Mélisse sur <i>Escherichia coli</i> (extrait infusé)...	112
Figure 51: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant le jus de Lavande en fonction du temps pour <i>Escherichia coli</i>	116
Figure 52: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant le jus de l'Origan en fonction du temps pour <i>Escherichia coli</i>	117
Figure 53: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant le jus de Mélisse en fonction du temps pour <i>Escherichia coli</i>	117
Figure 54: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant le jus de la Menthe en fonction du temps pour <i>Escherichia coli</i>	118
Figure 55: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant le bouillon nutritif en fonction du temps pour <i>Escherichia coli</i>	118

Figure 56: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant l'eau en fonction du temps pour <i>Escherichia coli</i>	119
Figure 57: Représentation graphique de l'évolution de la densité optique en utilisant jus de Lavande en fonction du temps pour <i>Staphylococcus aureus</i>	119
Figure 58: Représentation graphique de l'évolution de la densité optique en utilisant le jus de l'Origan en fonction du temps pour <i>Staphylococcus aureus</i>	120
Figure 59: Représentation graphique de l'évolution de la densité optique en utilisant le jus de Mélisse en fonction du temps pour <i>Staphylococcus aureus</i>	120
Figure 60: Représentation graphique de l'évolution de la densité optique en utilisant le jus de la Menthe en fonction du temps pour <i>Staphylococcus aureus</i>	121
Figure 61: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant le bouillon nutritif en fonction du temps pour <i>Staphylococcus aureus</i>	121
Figure 62: Représentation graphique de l'évolution de la densité optique en utilisant l'eau en fonction du temps pour de <i>Staphylococcus aureus</i>	122
Figure 63: Zone d'inhibition due aux huiles essentielles de l'Origan sur <i>Candida albicans</i> (Technique des disques).....	126
Figure 64: Zone d'inhibition due aux huiles essentielles de la Menthe sur <i>Candida albicans</i> (Technique des disques).....	126
Figure 65: Zone d'inhibition due aux huiles essentielles de la Lavande sur <i>Candida albicans</i> (Technique des disques).....	126
Figure 66: Zone d'inhibition due aux huiles essentielles de la Mélisse sur <i>Candida albicans</i> (Technique des disques).....	127
Figure 67 : Aucune inhibition avec l'eau (témoin) sur <i>Candida albicans</i> (technique des disques).....	127
Figure 68: Zone d'inhibition due aux huiles essentielles de l'Origan sur <i>Aspergillus niger</i> . (Technique des disques).....	128
Figure 69 : Zone d'inhibition due aux huiles essentielles de la Menthe sur <i>Aspergillus niger</i> (Technique des disques).....	128
Figure 70: Aucune inhibition avec les huiles essentielles de la Mélisse sur <i>Aspergillus niger</i> (Technique des disques).....	128
Figure 71 : Aucune inhibition avec les huiles essentielles de la Lavande sur <i>Aspergillus niger</i> (Technique des disques).....	129

Figure 72: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant la Lavande en fonction de temps pour <i>Candida albicans</i> .	131
Figure 73: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant l'Origan en fonction de temps pour <i>Candida albicans</i> .	131
Figure 74: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant la Mélisse en fonction de temps pour <i>Candida albicans</i> .	132
Figure 75: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant la Menthe en fonction de temps pour <i>Candida albicans</i> .	132
Figure 76: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant le bouillon nutritif en fonction de temps pour <i>Candida albicans</i> .	133
Figure 77: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant l'eau en fonction de temps pour <i>Candida albicans</i> .	133
Figure 78: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant la Mélisse en fonction de temps pour <i>Aspergillus niger</i> .	134
Figure 79: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant l'Origan en fonction de temps pour <i>Aspergillus niger</i> .	134
Figure 80: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant la Lavande en fonction de temps pour <i>Aspergillus niger</i> .	135
Figure 81: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant la Menthe en fonction de temps pour <i>Aspergillus niger</i> .	135
Figure 82: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant le bouillon nutritif en fonction de temps pour <i>Aspergillus niger</i> .	136
Figure 83: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant l'eau en fonction de temps pour <i>Aspergillus niger</i> .	137
Figure 84: Screening phytochimique des extraits éthanoliques des plantes la Mélisse, l'Origan, La Lavande et la Menthe(pour la detection des polyphénols)	139
Figure 85: Screening phytochimique des extraits éthanoliques des plantes la Mélisse, l'Origan, La Lavande et la Menthe(pour la detection des flavonoïdes).	139
Figure 86 : Blanchissement du β -carotène manifesté par les extraits de La Menthe .	142
Figure 87 : Blanchissement du β -carotène manifesté par les extraits de La Mélisse .	142
Figure 88: Blanchissement du β -carotène manifesté par les extraits de L'Origan.....	143
Figure 89: Blanchissement du β -carotène manifesté par les extraits de la Lavande..	143

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Résultats des observations macroscopiques concernant les deux bactéries.	109
Tableau 2: Action des différentes huiles essentielles sur la croissance d' <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> (la technique de l'aromatogramme).	113
Tableau 3: Action des différentes huiles essentielles sur la croissance d' <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> (Technique des puits)	114
Tableau 4: Action des différentes solutions de la macération alcoolique sur la croissance d' <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> en utilisant la technique de l'aromatogramme et la technique de puits.....	115
Tableau 5: Evaluation de la densité optique de Lavande avec <i>Escherichia coli</i>	116
Tableau 6: Evaluation de la densité optique de l'Origan avec <i>Escherichia coli</i>	117
Tableau 7 : Evaluation de la densité optique de la Mélisse avec <i>Escherichia coli</i> ...	117
Tableau 8 : Evaluation de la densité optique de la Menthe avec <i>Escherichia coli</i> ..	118
Tableau 9 : Evaluation de la densité optique du bouillon nutritif avec <i>Escherichia coli</i>	118
Tableau 10: Evaluation de la densité optique de l'eau avec <i>Escherichia coli</i>	119
Tableau 11: Evaluation de la densité optique de Lavande avec <i>Staphylococcus aureus</i>	119
Tableau 12: Evaluation de la densité optique de l'Origan avec <i>Staphylococcus aureus</i>	120
Tableau 13: Evaluation de la densité optique de la Mélisse avec <i>Staphylococcus aureus</i>	120
Tableau 14: Evaluation de la densité optique de la Menthe avec <i>Staphylococcus aureus</i>	121
Tableau 15: Evaluation de la densité optique du bouillon nutritif avec <i>Staphylococcus aureus</i>	121
Tableau 16: Evaluation de la densité optique de l'eau avec <i>Staphylococcus aureus</i> .	122
Tableau 17: Observation macroscopique des deux champignons.....	124

Tableau 18 : Action des différentes huiles essentielles sur la croissance de <i>Candida albicans</i> et <i>Aspergillus niger</i> en utilisant la technique de l'aromatogramme et bio-essai.	125
Tableau 19: Action des différentes solutions de la macération alcoolique sur la croissance d' <i>Candida albicans</i> et <i>Aspergillus niger</i> en utilisant la technique de l'aromatogramme (disques) et la technique de bio-essai (puits).	130
Tableau 20: Evaluation de la densité optique de la Lavande avec <i>Candida albicans</i>	131
Tableau 21: Evaluation de la densité optique de l'Origan avec <i>Candida albicans</i> ...	131
Tableau 22: Evaluation de la densité optique de la Mélisse avec <i>Candida albicans</i>	132
Tableau 23: Evaluation de la densité optique de la Menthe avec <i>Candida albicans</i>	132
Tableau 24: Evaluation de la densité optique du bouillon nutritif avec <i>Candida albicans</i>	133
Tableau 25: Evaluation de la densité optique de l'eau avec <i>Candida albicans</i>	133
Tableau 26: Evaluation de la densité optique de la Mélisse pour <i>Aspergillus niger</i>	134
Tableau 27: Evaluation de la densité optique de l'Origan pour <i>Aspergillus niger</i> . ..	134
Tableau 28: Evaluation de la densité optique de la Lavande pour <i>Aspergillus niger</i>	135
Tableau 29: Evaluation de la densité optique de la Menthe pour <i>Aspergillus niger</i>	135
Tableau 30: Evaluation de la densité optique du bouillon nutritif pour <i>Aspergillus niger</i>	136
Tableau 31: Evaluation de la densité optique de l'eau pour <i>Aspergillus niger</i>	136
Tableau 32: les rendements des extraits ($M_0= 20g$).	138
Tableau 33: Mise en évidence des différents groupes chimiques dans les extraits ...	140
Tableau 34: diamètres de l'inhibition avec les différents volumes des extraits de plantes.	140

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

AFSSaPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé.

DO : Densité optique

E coli : *Escherichia coli*

RGABA-A : Récepteurs GABA de type A

GN : Gélose nutritif

HE : Huile essentielle

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCB : Milieu de culture gélosé (polychlorobiphényles).

PCR : Polymérase-chaine-réaction

PDA : Milieu de culture contenant carottes, pomme de terre et bile de boeuf

RAT : Milieu de culture potato dextrose agar =gelose dextrosée à la pomme de terre

ROS : Reactive Oxygen Species = dérivés réactifs de l'oxygène

S aureus : *Staphylococcus aureus*

ST : Thermostable

SLT : Shiga-like toxine

SIDA : Syndrome d'Immuno Déficience Acquise

SNC : Système Nerveux Central

Subsp. : Subspecies = sous-espèce

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

INTRODUCTION

Gloire à Dieu le tout puissant qui a créé un univers foisonnant de signes merveilleux, de phénomènes visibles éclatants et d'entités matérielles chargées d'êtres vivants disséminés sur la surface de la terre ,suspendus dans l'espace ,voguant dans l'air et contenant de l'eau .

Béni soit le seigneur, le vrai, qui a créé la terre pour durer, les végétaux pour être arrosés et prospérer, les troupeaux pour paître et proliférer et les hommes pour bâtir et œuvrer, la végétation est antérieure au règne animale mais l'homme leur est postérieur et voilà qu'il en bénéficie et qu'il y puise sa nourriture, les éléments de son bien-être et les remèdes dont il a besoin en utilisant des plantes vertes (Debuigne, 1984).

L'homme a toujours utilisé les plantes dans sa vie pour se nourrir et se guérir de plusieurs infections y compris de la fièvre depuis l'antiquité ce qui a fait naître ce qu'on appelle la médecine traditionnelle.

En se servant de la forme et de la couleur les premiers hommes ont testé de nouvelles préparations (Rodriguez, 2007).

Depuis la nuit des temps les hommes ont su développer les extraordinaires vertus médicinales que recèlent les plantes dont la connaissance et l'utilisation thérapeutique basées sur l'analyse et l'observation s'appellent la phytothérapie (Ali Delille, 2010).

A l'heure actuelle et depuis plusieurs années un intérêt remarquable s'est dirigé vers l'étude des plantes médicinales dans différentes régions du monde (Muthu *et al.*, 2006) en vue de valoriser la médecine traditionnelle.

Parfois injustement méprisée, durant l'engouement pour la médecine chimique et ses nombreux effets secondaires que les remèdes de nos ancêtres permettent parfois d'éviter, la phytothérapie a aujourd'hui prouvé son efficacité et ses bienfaits incontestables dans notre vie quotidienne, confirmant que les plantes guérissent (Ali Delille, 2010).

De nouveaux médicaments ont été découverts à partir de plantes en se servant de l'enquête ethnobotanique et sont employés comme le *maprouneacin* (*Maprounea Africana Müll.Arg*) utilisé comme agent antidiabétique, le *taxol* (*Taxus Brevifolia Nutt*) utilisé comme drogue anti tumorale et plusieurs autres substances avec d'autres effets (Ajibesin *et al.*, 2008).

A ce jour plus de 10000 espèces de plantes différentes sont utilisées par les scientifiques et de nombreux médicaments sont élaborés à partir de leurs principes actifs. L'organisation mondiale de la santé (OMS) considère que dans de nombreux pays peu développés, les plantes et leurs composants représentent la première source de remèdes. Il y a des centaines de milliers d'espèces de plantes à fleurs sur terre.

Moins de 10% de ces espèces auraient été étudiées scientifiquement pour leurs propriétés pharmacologiques (Diallo, 2000 ; Anthony *et al.*, 2005).

Dans les pays pauvres qui n'ont pas accès aux médicaments dus à leurs conditions économiques (Muthu *et al.*, 2006) , près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire surtout.

Depuis 50 ans, le nombre de médicaments produits a explosé tant en nombre de références qu'en volume, ce qui a célébré l'industrie pharmaceutique.

Sans oublier les vies préservées depuis la découverte des antibiotiques par Alexander Fleming et le traitement préconisé pour les malades du Sida.

Des difficultés remarquables ont suivi l'emploi de médicaments chimiques, suite à leur inaccessibilité en particulier à cause de leur coût élevé, la résistance de certaines bactéries et les effets secondaires sévères et même toxiques pour certaines personnes (Bah *et al.*, 2006).

le Métronidazole cause des maux de tête et des nausées, il peut être même cancérogène et tératogène (Calzada *et al.*, 2006).

Des résistances des parasites de la bilharziose contre le Praziquantel ont été notées (Soliman et Ibrahim, 2005). L'utilisation par un grand nombre de personnes de traitements antiviraux en cas de pandémie grippale peut déclencher des événements indésirables graves.

De même, la Leishmaniose qui, selon l'Organisation Mondiale de la Santé est un grave problème peut entraîner un taux élevé de morbidité et une mortalité est traitée par l'antimoine qui est un danger pour la santé.

Les anti-inflammatoires sont dans certains cas la cause première des lésions et irritations gastro-intestinales. Les corticoïdes présentent plusieurs effets indésirables.

Les antibiotiques ont aussi des effets nuisibles et même dangereux (Iranshahi *et al.*, 2007; Filho *et al.*, 2008) , cependant la population les utilise sans penser à leurs dangers surtout à long terme sur les organes vitaux (Schenone *et al.*, 2006).

C'est pour éviter ces effets indésirables il est très intéressant de voir et essayer les effets de certaines plantes sur notre organisme.

Le meilleur médecin, c'est la nature car elle guérit les trois quarts de toutes les maladies " (*Galien*).

Cela existait pourtant depuis des centaines d'années pour ne pas dire des millénaires : la médecine traditionnelle avec ses traitements et ses remèdes à base de plantes médicinales était connue par le premier homme, alors, pourquoi ne pas élargir son emploi ?

Simplement parce que peu de travaux scientifiques ont été consacrés à ce sujet dans les revues scientifiques et médicales d'une part et d'autre part la force et l'action des grands groupes pharmaceutiques. La phytothérapie est alors étranglée par la pharmacie de synthèse.

La plupart des espèces végétales, contiennent des principes actifs qui peuvent aider l'homme à préserver sa santé et agir contre la douleur dont l'être est sensible et il ne peut faire face.

On a déduit aussi d'après des travaux de recherche que certaines plantes, ont des effets antibactériens, antifongiques et mêmes antiviraux assez puissants.

Parmi ces plantes, on trouve la Mélisse qui est consommée par l'homme depuis l'ancien temps, en infusion comme extrait liquide, pour ses formidables vertus relaxants et antioxydants...etc. En Algérie cette plante est un peu ignorée due à une négligence par la communauté scientifique.

Le but de notre thèse est de dévoiler les secrets d'une mystérieuse plante surtout ses effets antimicrobiens et antioxydants et la comparer avec trois autres plantes qui poussent dans la région de Sétif, de la même famille et qui sont : l'Origan, la Lavande et la Menthe. Ce choix n'étant pas aléatoire.

On pose ainsi une problématique avec comme objectifs :

- Etudier cette plante mal connue en Algérie.
- Prouver ses effets avec une comparaison à trois autres plantes de la même famille.
- Trouver celle avec le meilleur effet inhibiteur antimicrobien et antioxydant.

Donc notre objectif est double dans ce travail.

Cette étude est subdivisée en deux parties :

La première partie porte sur la synthèse bibliographique et comporte trois chapitres :

- Le premier concerne l'étude des microorganismes.
- le second concerne l'étude l'activité anti oxydante.
- Le troisième est consacré à une étude des plantes.

La deuxième partie porte sur la partie expérimentale et comporte deux chapitres :

- Le premier chapitre concerne le matériel et les méthodes
- Le second chapitre concerne les résultats et leur discussion

Nous terminons par une conclusion avec les recommandations.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

ETUDE DE MICROORGANISMES

I. Etude de micro-organismes

Les microorganismes sont des organismes vivants microscopiques c ad qui ne peuvent pas être observés sans l'aide d'un microscope. Ils regroupent les bactéries, les mycetes, les protozoaires, les virus et certaines algues

I.1. *Staphylococcus aureus*

I.1.1. Classification

Règne	<i>Bact�ria</i>
Embranchement	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Bacillales</i>
Famille	<i>Staphylococcaceae</i>
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>

(Marchal, 2003).

I.1.2. Définition

Les *Staphylocoques* sont des bactéries à cocci non sporulées, à Gram positif (Figure1) qui tendent à se grouper en amas ayant la forme de grappes de raisin, catalase positive, oxydase négative et immobiles. Le Genre *Staphylococcus* présente 30 espèces et sous espèces, les principales sont *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus saprophyticus* (Marchal, 2003).

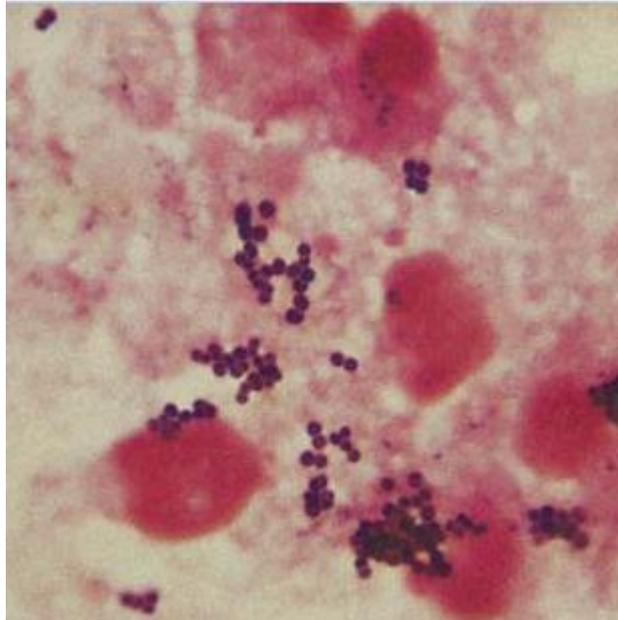


Figure 1: Coloration de Gram des *Staphylocoques*
(Cambau, 2013).

I.1.3. Historique

C'est Pasteur qui fut le premier en 1879 à observer les *Staphylocoques* dans un pus de furoncle, mais les *Staphylocoques* doivent leur nom à Ogston (1881) qui les a mis en évidence dans des abcès aigus et chroniques (Marchal, 2003).

I.1.4. Culture

La bactérie se développe facilement sur les milieux ordinaires et aussi sur les milieux riches en sels. Avec des conditions de pH et de température variables, *Staphylococcus aureus* se cultive facilement sur les milieux usuels, Comme tous les autres germes très répandus dans la nature, il est même capable de supporter les conditions hostiles. Ce dernier caractère est mis en évidence en utilisant le milieu de culture sélectif et salé de CHAPMAN pour réaliser l'isolement du *Staphylocoque* à partir d'un liquide contenant un mélange de plusieurs microbes.

En bouillon :

Staphylococcus aureus présente un trouble uniforme en quelques heures.

Sur gélose ordinaire :

Les colonies sont bombées, brillantes, opaques, lisses, rondes et de 1 mm de diamètre. Elles sont pigmentées généralement en jaune doré (*Staphylococcus aureus*), parfois en jaune citron, et parfois même non pigmentées.

En gélose profonde :

Staphylococcus aureus est un germe qui peut se développer dans la condition d'aérobiose et dans l'anaérobiose. C'est donc une bactérie aérobie-anaérobie facultative, capable de pousser dans l'épithélium de revêtement, en aérobiose et pour l'anaérobiose dans les tissus peu oxygénés, exemple : plaie de profondeur (Marchal, 2003).

1.1.5. Habitat

Staphylococcus aureus est un germe commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (rhino-pharynx, intestin).

Presque un tiers des hommes sont des porteurs sains qui abritent la bactérie dans des muqueuses (surtout les fosses nasales) et dans les régions cutanées humides (aisselle et périnée). Dans le milieu extérieur, cette bactérie peut se trouver longtemps dans l'environnement (Marchal, 2003). Les *Staphylocoques* peuvent être l'agent fréquent responsable des infections nosocomiales, (Fritz *et al.*, 2008) au cours des soins, ils sont transmis de la flore contaminante (Marchal, 2003).

I.1.6. Caractères morphologiques

Staphylocoque doit son nom à l'espèce qui a un aspect pigmenté de ses colonies avec une coloration en jaune d'or (Fritz *et al.*, 2008).

Le *Staphylococcus aureus* est donc nommé ainsi car ses colonies sont de couleur jaune, (*aureus*) est le mot latin doré qui sont lisse, bombées et brillantes. Elles peuvent être isolées ou en diplocoques (Figure2) ou groupées en amas ayant la forme de grappes de raisin de 0,8 à 1 µ de diamètre. La majorité est capsulée, mais la capsule peut se perdre (Marchal, 2003).

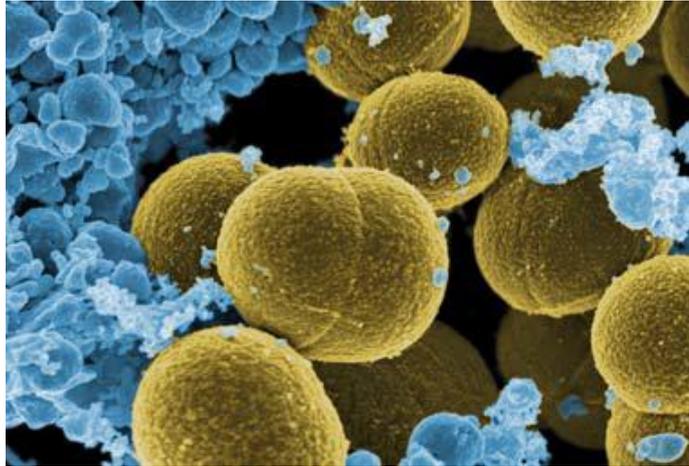


Figure 2 : Morphologie des *Staphylocoques* sous microscope électronique
(Elika,2013).

I.1.7. Caractères biochimiques

Les *Staphylocoques* sont des bactéries anaérobies facultatives et aérobies prédominantes avec catalase positive (Fritz *et al.*, 2008).

Ils peuvent fermenter le glucose (métabolisme anaérobie) à l'exception des *Microcoques*. Ils fermentent aussi le mannitol ce qui explique souvent, mais pas obligatoirement, la pathogénicité (Marchal, 2003).

Staphylococcus aureus possède une coagulase (enzyme provoquant la coagulation du plasma) ce qui le diversifie des autres espèces de *Staphylocoques* et peut produire aussi de nombreuses toxines.

La mise en évidence des caractères suivants est nécessaire pour l'identification de la bactérie :

Coagulase (différence avec *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus saprophyticus*), fermentation du glucose en anaérobiose (différence avec le *Microcoque*) et Catalase (différence avec le *Streptocoque*) (Marchal, 2003).

I.1.8. Structure antigénique

La paroi contient le peptidoglycane, les acides teichoïques et lipoteichoïques qui possèdent des effets biologiques démontrés in vitro, comme la sécrétion de cytokines par les cellules lymphomonocytaires. On a distingué que le peptidoglycane est peu immunogène par contre les acides teichoïques (polymères linéaires du ribitol phosphate) permettent la formation des anticorps détectés dans le sérum de malades qui présentent des infections récentes. Ces acides teichoïques sont les récepteurs de bactériophages (Marchal, 2003).

La paroi de *Staphylocoque* pyogène contient l'antigène polysaccharidique spécifique du groupe A et aussi une protéine apparaissant en microscopie électronique sous forme de fimbriae la protéine M.

I.1.9. Vitalité

Les *Staphylocoques* restent en vie pendant trois mois dans le pus et pendant un an sur gélose avec une température de +4°C, ils sont détruits à 58°C au bout de 60 minutes.

I.1.10. Pouvoir pathogène

I.1.10.1. Infections invasives (lésions suppurées)

Des infections locales avec formation de pus tels que furoncles, anthrax, impétigo bulleux, infections du site opératoire (nosocomiales) sinusites, otites moyennes aiguës et mastites avec pus peuvent se manifester après la pénétration des *Staphylocoques* par la peau ou les muqueuses. (Fritz *et al.*, 2008) . *Staphylococcus aureus* est aussi responsable d'une part importante des infections osseuses primitives (ostéomyélite) ou poste-chirurgical et des arthrites suppurées. Des atteintes pulmonaires dues aux *Staphylocoques* peuvent apparaître chez le nourrisson et chez les malades sous ventilation assistée, elles peuvent parfois conduire à de grave pleurésie purulente (Mylotte *et al.*, 1987).

I.1.10.2. Septicémies et endocardites

Les lésions suppuratives peuvent conduire à des septicémies. Une forme importante est la *Staphylococcie* maligne de la face. Elle peut avoir pour origine un furoncle de la lèvre ou de la narine qui va se compliquer d'une thrombophlébite suppurée.

Dans l'hôpital, on peut noter une proportion importante des septicémies à *Staphylococcus aureus* d'origine nosocomiale.

Ces septicémies à *Staphylococcus aureus* peuvent conduire à des métastases septiques surtout au niveau des poumons et de l'appareil ostéo-articulaire mais rarement dans l'appareil urinaire ou dans le système nerveux centrale.

I.1.10.3. Manifestation d'origine toxinique (toxicose)

Les intoxications alimentaires apparaissent après ingestion d'aliments contaminés par les entérotoxines. Quelques heures après l'ingestion, apparaissent nausées, vomissements et diarrhée massives (Fritz *et al.*, 2008).

Le *Staphylococcus aureus* peut parfois causer le syndrome de choc toxique staphylococcique qui entraîne une mortalité élevée.

Chez le nouveau-né, *Staphylococcus aureus* peut causer une infection cutanée pouvant se traduire par une dermite exfoliante (Mylotte *et al.*, 1987).

I.1.11. Les substances biologiques élaborées

Cogulase plasmatique : avec une fonction thrombotique et transforme le fibrinogène en fibrine. Une micro colonie entourée de fibrine dans un tissu rend sa phagocytose plus difficile.

Exfoliatines : les exfoliatines A et B responsables des bulles intra-épidermiques (épidermolyse).

Entérotoxines : On distingue plusieurs entérotoxines sérologiquement différentes (A-E, H G et I) qui sont responsables des intoxications alimentaires. Il s'agit de protéines (PM : 35 kDa) formant des antigènes exogènes et qui ne sont pas sensibles à la chaleur (15-30 min à 100°C). Presque la moitié des *Staphylocoques* produisent des entérotoxines.

Hyaluronidase et lipase : leur action est locale et facilitent l'extension tissulaire.

Hémolysine ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$) : L'hémolysine α peut détériorer les membranes de plusieurs espèces de cellules hôtes par formation de pores (c'est ainsi par exemple que ce produit l'hémolyse).

Leucocidine : Détruit les granulocytes neutrophiles et éosinophiles et les macrophages par formation de pores.

Toxine du syndrome de choc toxique 1: C'est un super antigène qui est produit par un nombre limité de souches (environ 15 à 20% des souches) (Fritz *et al.*, 2008).

I.1.12. Diagnostic bactériologique

Le diagnostic des *Staphylocoques* repose sur l'isolement de la bactérie des lésions au niveau desquelles elle se trouve ou par hémoculture en cas de septicémie ou de bactériémie.

Le diagnostic bactériologique de l'infection *Staphylococcique* est direct par la mise en évidence de la bactérie. Il n'y a pas de diagnostic indirect par recherche des anticorps circulants.

Les principales étapes du diagnostic sont les suivantes :

- Un prélèvement aseptique : pour bien s'assurer de l'isolement du *Staphylocoque* et que ce n'est pas un simple commensal de la peau ou des muqueuses et avant tout traitement antibiotique.
- Un examen microscopique visant la recherche de cocci régulières à Gram positif groupées en amas.

- Une culture sur simple gélose ordinaire si le germe n'est pas contaminé dans le cas contraire, on utilise un milieu de culture sélectif type de CHAPMAN (qui contient 7 % de Na cl, du mannitol et un indicateur de pH) (Marchal, 2003).

I.1.13. Staphylocoque et antibiotiques

Etant donné la fréquence de la résistance de *Staphylococcus aureus* aux Bêta-lactamines (ex. : Pénicilline), aux Aminosides (ex. : Gentamicine) et à certains Macrolides (ex. : Erythromycine), notamment chez les souches hospitalières, le diagnostic sera toujours complété par la mesure de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme) (Marchal, 2003).

Les souches communautaires sont généralement résistantes aux pénicillines G et A, mais sensibles aux Pénicillines M et aux Céphalosporines. Elles sont souvent sensibles aux Macrolides, aux Synergistines et aux Fluorquinolones (Dumitrescu *et al* , 2007).

I.1.14. Traitement

I.1.14.a. Traitement préventif

Il est nécessaire et capital de faire

- Une application des mesures d'hygiène et d'asepsie individuelle et collective (surtout dans les hôpitaux).
- Un contrôle et surveillance des aliments (crèmes glacées, pâtisseries, viandes hachées) (Marchal, 2003).

I.1.14.b. Traitement curatif

- Pour les *Staphylococcies* cutanéomuqueuses, on utilise: Les Macrolides ou apparentés (par exemple, Erythromycine 2 g/jour ou Pristinamycine 2 g/jour pendant 10 jours).
- Pour les *Staphylococcies* graves: on associe deux antibiotiques bactéricides exemple : Bêta-lactamine (Pénicilline semi-synthétique non hydrolysée par les pénicillinases: ex. Oxacilline) + Aminosite (ex. : Gentamicine, etc) ou Fluoroquinolones (ex. : Ofloxacin).

- En cas de résistance aux Pénicillines semi-synthétiques, le traitement utilise un antibiotique glycopeptide (Vancomycine ou Teicoplanine) seul ou associé à un autre antibiotique actif (Aminosides, Rifampicine, Acide fusidique et Fosfomycine (Marchal, 2003)).

I.2. *Escherichia coli*

I.2.1. Classification

Règne	<i>Bactéria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

(Marchal, 2003).

I.2.2. Définition

Dans la troisième édition de leur *Manual of Tropical Diseases*, publiée en 1919, Aldo Castellani et Albert J Chalmers rebaptisèrent le bacille d'Escherich *Escherichia coli* en l'honneur de son découvreur (Ari et Sezonov, 2008).

Escherichia coli (colibacille) est une entérobactérie (Figure 3) à Gram négatif, mobile (Marchal, 2003), capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole (Fritz *et al.*, 2008).

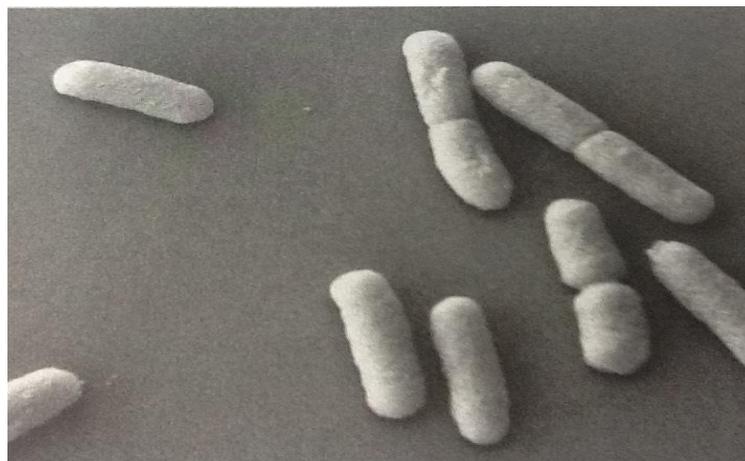


Figure 3: Morphologie d'*Escherichia coli* sous microscope électronique

(Ari et Sezonov, 2008)

I.2.3. Habitat

Escherichia coli est un élément important de la flore intestinale des bébés humains (Ari et Sezonov, 2008).

Chez l'adulte lorsque l'intestin héberge une flore très variée, *Escherichia coli* est une bactérie qui domine par sa présence cette flore aérobie du tube digestif à raison de 10^8 par gramme de fèces (flore totale : 10^{11} à 10^{12} bactéries par gramme).

Escherichia coli est un germe commensal de la flore du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux (Marchal, 2003).

Ce germe est un indicateur principal des contaminations et des souillures fécales de l'eau potable et les eaux usées (Fritz *et al.*, 2008). Ce colibacille est généralement un germe commensal mais il peut se transformer en pathogène si les capacités de défense de l'hôte se trouvent affaiblies ou s'il acquiert de nouveaux facteurs de virulence.

I.2.4. Caractères biochimiques

Escherichia coli est capable de réaliser une dégradation rapide du lactose. (Fritz *et al.*, 2008), avec oxydase négative, catalase positive, produit la vitamine B et K, réduit le nitrate en nitrite et fermente le glucose en galactose sans production de gaz (Abigail *et al.*, 2013).

I.2.5. Caractères morphologiques

Escherichia coli est une bactérie à Gram négatif et mobile avec une ciliature péritriche (Fritz *et al.*, 2008). Sa taille varie en fonction des conditions de croissance (entre 0,5 à 3 μm) avec des colonies blanches opaques de forme circulaire et de taille irrégulière. On note l'absence de la forme sporulée (Abigail *et al.*, 2013).

I.2.6. Structure antigénique

Sa structure antigénique est complexe et se base sur des antigènes O, K et H. Ceux des fimbriae ont aussi été rapportés. Les antigènes sont qualifiés par des nombres.

I.2.7. Pouvoir pathogène

Les colibacilles qui vivent dans l'intestin ne provoquent normalement pas de maladies mais leur pathogénicité peut s'exprimer dans certaines conditions (Pathogènes opportunistes) (Marchal, 2003).

I.2.7.1. Infection intestinale

Escherichia coli est responsable de gastro-entérites qui se traduisent par des diarrhées qui peuvent être banales comme elles peuvent être sanglantes et même cholériformes.

Chez le nourrisson la diarrhée peut conduire directement à une déshydratation. Certaines souches de colibacilles ont un pouvoir entéropathogène intrinsèque par acquisition de gènes de pathogénicité (Marchal, 2003).

Les 4 groupes les plus importants sont :

- *Escherichia coli* entéropathogène
- *Escherichia coli* entérotoxinogène
- *Escherichia coli* entéro-invasif
- *Escherichia coli* entéro-hémorragique

(Abigail, 2012)

I.2.7.2. Infection urinaire

Elle s'observe généralement au niveau des voies urinaires basses (urétrite, cystite et urétrocystite) mais elle peut s'étendre dans les bassinets et les reins (pyélonéphrite) (Fritz *et al.*, 2008).

Cette infection des voies urinaires se fait en général par voie ascendante, elle est plus fréquente chez la femme à cause de la brièveté de l'urètre. *Escherichia coli* est souvent responsable des infections urinaires nosocomiales.

L'infection est surtout favorisée par la présence de pili ou fimbriae (adhésine) à la surface des bactéries et qui possèdent des récepteurs à la surface des cellules épithéliales urinaires et par toute anomalie fonctionnelle de l'arbre urinaire.

Escherichia coli est la cause principale des trois-quarts des infections urinaires spontanées.

I.2.7.3. Septicémie

Escherichia coli est responsable de 11 à 24 % des bactériémies nosocomiales. La septicémie à *Escherichia coli* est causée par des souches pathogènes qui possèdent une résistance sérique (Fritz *et al.*, 2008).

I.2.7.4. Infection néonatale

Elle se déclare aussi par une septicémie ou méningite.

I.2.7.5. Autres infections à colibacilles

Infections des vésicules biliaires, des voies biliaires, infections des plaies, appendicites, méningites, péritonites ...etc.

I.2.8. Substances biologiques élaborées par *Escherichia coli*

Escherichia coli peut produire la vitamine B et K, une hémolysine, des entérotoxines thermolabiles (LT) ou thermostables (ST) et même une toxine analogue à la toxine de *Shigella dysentirea* (la shiga-like toxine) (Abigail *et al.*, 2013).

I.2.9. Diagnostic bactériologique

Il repose en premier sur l'isolement des bactéries du site de l'infection.

I.2.9.1. Dans les infections intestinales

En pratique, elles sont un peu difficiles à démontrer, le diagnostic utilise des souches entérohémorragiques qu'on peut reconnaître grâce à des milieux sélectifs et qui ne fermentent pas le sorbitol.

On réalise des prélèvements aseptiques avec examen microscopique pour la recherche d'une réaction inflammatoire de bacilles à Gram négatif, identification, culture, et antibiogramme (Marchal, 2003).

Les grands laboratoires de recherche identifient les facteurs de pathogénicité soit par des méthodes phénotypiques soit par des méthodes génotypiques.

I.2.9.2 Dans les infections urinaires

L'examen microscopique vise la recherche d'une réaction cellulaire de défense contre l'infection (présence de Polynucléaires) et avec la présence d'un nombre élevé d'*Escherichia coli*. Le diagnostic d'infection urinaire basse symptomatique à *Escherichia coli* (il en est de même pour les autres entérobactéries comme *Proteus mirabilis* et *Klebsiella*) est confirmé par une concentration de 10^3 - 10^4 /ml. Une concentration $=10^5$ /ml permet d'établir le diagnostic d'infection asymptomatique. En cas de symptômes évocateurs, on peut trouver des concentrations très élevées (10^6 /ml) lors d'une pyélonéphrite (Marchal, 2003).

I.2.10. *Escherichia coli* et antibiotiques

Les souches sauvages peuvent être détruites par tous les antibiotiques actifs sur les bactéries à Gram négatif. De nombreuses souches ont développé des résistances surtout en milieux hospitaliers. Il s'agit surtout des souches productrices de Pénicillinase.

L'antibiothérapie est utilisée selon l'antibiogramme avec les Céphalosporines, les Aminopénicillines ou les Acylaménipicillines, les Fluoroquinolone² et le Cotrimoxazole. Si la diarrhée est chronique on a recours à une compensation hydro électrolytique orale ou en perfusion (Fritz *et al.*, 2008). L'antibiogramme est donc nécessaire pour choisir le traitement.

I.2.11. Traitement

I.2.11.1. Traitement curatif

Pour les infections urinaires et biliaires on a recours à l'antibiothérapie et à corriger les facteurs favorisants (anatomiques, calculs...). Pour les diarrhées aiguës à colibacilles, le traitement curatif utilise la réhydratation. Pour les infections péritonéales, le drainage et l'antibiothérapie sont nécessaires.

I.2.11.2. Traitement préventif

Le traitement préventif se base sur l'application des règles et mesures d'hygiène générales surtout en ce qui concerne l'alimentation et les mesures d'hygiène personnelle et individuelle (Marchal, 2003).

I.3. *Candida albicans*

I.3.1. Classification

Règne	<i>Fungi</i>
Embranchement	<i>Amastigomycota</i>
Sous Embranchement	<i>Ascomycotina</i>
Classe	<i>Saccharomycetes</i>
Ordre	<i>Saccharomycetales</i>
Famille	<i>Saccharomycetaceae</i>
Genre	<i>Candida</i>
Espèce	<i>Candida albicans</i>

(Bouchet *et al.*, 1999)

I.3.2. Définition

Le *Candida albicans* est une levure microscopique qui se trouve dans la bouche, la peau, les voies génitales et le tube digestif. Une levure inoffensive mais dans certains cas, elle peut devenir pathogène et sera alors responsable de candidose. Cela se produit chez des organismes fragilisés dont les défenses immunitaires sont faibles comme les porteurs du VIH (virus du SIDA) ou les patients sous traitements immunosuppresseurs (maladies auto-immunes, des cancers ou après une greffe). Généralement, le *Candida albicans* est sans gravité sur les muqueuses ou la peau. Mais lorsqu'il touche les viscères digestifs ou les poumons, des manifestations pathologiques peuvent apparaître. Dans des cas extrêmes, une septicémie à *Candida albicans* est possible et de pronostic sévère (Bennett et Johnson, 2005). *Candida* est sensible à de nombreux facteurs (Botton *et al.*, 1990).

I.3.3. Structure

Le *Candida* est formé de :

- Manane: Glycoprotéine qui détermine l'adhésivité de *Candida* à la paroi intestinale.

- Chitine et glucane: polysaccharides qui permettent le maintien de la forme levure.

La forme levure contient peu de manane par contre la forme mycélienne est presque exclusivement constituée de manane (Tzung *et al.*, 2001).

I.3.4. Morphologie

Candida se présente dans les prélèvements pathologiques sous forme de petites cellules rondes ou ovalaires de 2 à 4 microns, bourgeonnantes souvent avec de filaments mycéliens ou pseudo-mycéliens (Figure 4).

Si on cultive *Candida* sur milieu de Sabouraud, on obtient des colonies blanchâtres, crémeuses, brillantes en 24 ou 48 heures, ne contenant que la forme levure.

Sur milieu P.C.B. ou R.A.T, on obtient du pseudo-mycélium et pour *Candida albicans*, précisément des chlamydospores.



Figure 4: Cellules de *Candida albicans* au microscope électronique

(Kabir *et al.*, 2012)

I.3.5. Génome

Candida albicans est un organisme qui possède 8 paires de chromosomes, le plus grand étant le R, les suivants sont numérotés de 1 à 7 selon une taille décroissante. Son génome contient environ 6 400 gènes.

I.3.6. Biologie

Les *Candida* se développent en milieu acide, de pH 2 à pH 6, mais peuvent supporter un pH de 9 (Laverdière, 2006).

Candida albicans est un saprophyte du tube digestif. Les levures sont maintenues en vie au ralenti par la présence de salive abondante, d'une flore saprophyte intacte sur toutes les muqueuses digestives de défenses organiques efficaces dans un organisme sain (Bennett et Johnson, 2005).

Uniquement une déficience des défenses organiques (prématurés, vieillards) ou un problème physiologique (diabète, maladies chroniques...) peuvent altérer cet équilibre ce qui conduit à une candidose qui se limite généralement au traditionnel muguet dont le degré dépend du trouble causal.

Jusqu'à l'heure actuelle, certaines personnes peuvent présenter des infections mortelles dues à *Candida*, il s'agit de ceux avec une maladie d'origine infectieuse (SIDA...) ou provoquées par l'emploi de certaines thérapeutiques.

L'emploi des corticoïdes et des immunodépresseurs a conduit à l'apparition des formes les plus graves comme les septicémies à *Candida* et les candidoses viscérales.

Les antibiotiques causent aussi un déséquilibre en détruisant la flore pathogène ce qui permet l'apparition de *Candida*.

La candidose vulvo-vaginale est très répandue due à la grande utilisation des oestroprogestatifs de synthèse, qui modifient l'acidité vaginale (Lee *et al.*, 1999).

I.3.7. Multiplication

Candida peut se développer sur les muqueuses, il peut alors causer des inflammations de la bouche, du nez, des yeux, de la gorge, du vagin, des voies urinaires, de la peau et des ongles (responsable d'eczéma et même d'acné).

Il peut modifier l'équilibre de la flore intestinale en détruisant les bifides bactéries. Il est alors responsable de mauvaise haleine, d'indigestion, de gaz, de ballonnements, de spasmes de l'intestin, de diarrhées et de démangeaisons anales.

Il peut donner une forme mycélienne agressive capable d'envahir les muqueuses gastro-intestinales jusqu'aux même les vaisseaux sanguins et lymphatiques (Zepelin *et al.*,1998).

I.3.8. Candidoses

Candida albicans, ce champignon microscopique peut causer des infections nommées les candidoses. Ces dernières peuvent se développer comme toutes les autres mycoses sur la peau ou dans les muqueuses (bouche, vagin et gland).

Lorsque l'infection touche le vagin ou le gland, elle devient une candidose dite sexuellement transmissible.

I.3.9. Symptômes

Chez les patients immunocompétents *Candida albicans* apparait sous forme d'un muguet buccal, avec rougeurs et démangeaisons cutanées, surtout au niveau des plis et des endroits chauds et humides qui facilitent son développement. Des infections génitales genre vulvo-vaginite avec pertes blanchâtres et démangeaisons apparaissent chez la femme et urétrite chez l'homme ou chez les patients souffrant d'une déficience immunitaire.

Le champignon se développe surtout au niveau de la bouche et de l'œsophage, il sera responsable de troubles de la déglutition et de douleurs œsophagiennes.

I.3.10. Facteurs favorisants

Candida albicans peut se transformer de l'état saprophyte à l'état pathogène sous l'influence de plusieurs facteurs :

Terrain favorable :

- Certaines maladies exemple le diabète
- Période de grossesse
- Déficit immunitaire
- Age
- Utilisation de médicaments comme les antibiotiques, oestro progestatifs et corticoïdes

- Irritations chroniques (prothèses dentaires,...).

Facteurs extérieurs :

- pH acide
- Humidité
- Macération (contacts répétés avec l'eau, occlusion, transpiration, obésité...).

I.3.11. Critères d'identification

Pour identifier *Candida albicans* en laboratoire plusieurs techniques sont présentes :

- Le test de chlamydospore qui sera positif sur milieu RAT .
- La germination positive de *Candida albicans* et qui donne un hyphes en présence du plasma de lapin à 37°C.
- Uréase négative sur milieu Christensen.
- Les colonies sont blanches et crémeuses sur gélose sang ou Sabouraud (Sheppard *et al.*, 2004) .

Culture sur milieu de Sabouraud

L'utilisation du milieu de Sabouraud permet l'apparition des colonies en 48heures. Leur caractérisation permet de connaître l'espèce en cause. Si on isole *Candida albicans* à partir des endroits cutanés cela facilite le diagnostic de candidose.

Avec une incubation à 25-30°C (éventuellement 37°C pour les prélèvements profonds).

Examen direct

Permet de détecter les levures bourgeonnantes et la présence de pseudo-filaments ou de filaments qui indiquent le pouvoir pathogène de *Candida albicans*.

I.3.12. Culture

La culture en boîte de Pétri des *Candida* offre des colonies de couleur blanche ou crème (Figure 5) et qui sont rondes et de grande taille (*albicans* signifie « blanchâtre ») (Bennett et Johnson, 2005).



Figure 5 : Colonies de *Candida albicans*

(Bennett et Johnson, 2005)

I.3.13. Diagnostic

Le diagnostic de la candidose présente souvent des difficultés on utilise surtout :

- **Coproculture**

On recherche directement le *Candida* dans les selles.

- **Eléments cliniques**

Au cours des études cliniques, on peut rechercher la présence des anticorps pour le *Candida* dans le sang (microscopie à fond noir) et dans les sécrétions vaginales ou du pénis.

- **Intradermo-réaction**

Se fait à l'aide du "Stallerpoint"(ressemble à celui utilisé pour la recherche des allergies), on réalise des petites piqûres sur le bras avec un appareil spécial et on met un produit qui va faire apparaître les symptômes du *Candida albicans*.

On note pendant 5 jours, l'évolution des réactions cutanées (apparition d'une petite zone de 1 à 3 centimètres de diamètre). S'il n'y a pas de réaction, *Candida albicans* est absent (les symptômes activés seront guéris).

- **Questionnaire d'évaluation :**

Le questionnaire est un élément important de dépistage et très utile pour détecter les porteurs d'une Candidose chronique (Laverdière ,2006).

I.4. *Aspergillus niger*

I.4.1. Classification

Règne	<i>Fungi</i>
Embranchement	<i>Amastigomycota</i>
SousEmbranchement	<i>Ascomycotina</i>
Embranchement	<i>Aspergillaceae</i>
Classe	<i>Eurotiomycetes</i>
Ordre	<i>Eurotiales</i>
Famille	<i>Trichocomaceae</i>
Genre	<i>Aspergillus</i>
Espèce	<i>Aspergillus niger</i>

(Bouchet et al.,1999)

I.4.2. Définition

Aspergillus niger, (l'Aspergille noire) est un champignon qui possède un thalle à croissance lente, avec mycélium blanc (Figure 6) ou jaune et revêt souvent incolore (Botton *et al.*,1990).

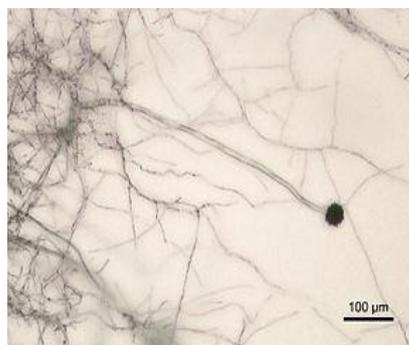


Figure 6: Microscopie optique d'*Aspergillus niger*, grossie 100 fois

(Anderson, 1971).

Il appartient à l'ordre des *Eurotiales* et il est un champignon filamenteux. Considéré parmi les espèces les plus communes du genre *Aspergillus*. Il apparaît sur les fruits et légumes sous forme d'une moisissure de couleur noire (Figure 7). Il se caractérise par l'absence de forme sexuée (téléomorphe) (Schuster *et al.*, 2002).

Sur le plan économique *Aspergillus niger* est une espèce importante car elle est utilisée dans la production de l'acide citrique, gluconique et des enzymes dans les fermentations industrielles (Segal, 2009).

Cette moisissure est habituellement sans danger et est un contaminant omniprésent. Mais elle peut devenir toxique et très dangereuse dans des conditions spéciales et rares, car elle peut être responsable de mycoses pulmonaires chez l'homme et les oiseaux (Ruchika *et al.*, 2009). Très largement répandu, il peut produire l'acide oxalique (Botton *et al.*, 1990).

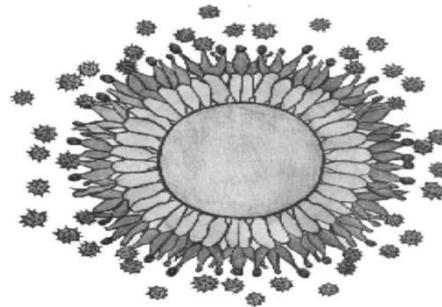


Figure 7 : Microscopie électronique d' *Aspergillus niger* (Botton *et al.*, 1999).

I.4.3. Historique

Aspergillus niger a été isolé à partir d'une plante estimée à environ 3000 ans *Welwitschia mirabilis* qui se trouve en Namibie et en Angola.

On peut isoler facilement *Aspergillus niger* du sol, de la poussière et de la peinture.

Il se cultive généralement dans les laboratoires (Figure 8). *Aspergillus niger* est isolé par chémostat.

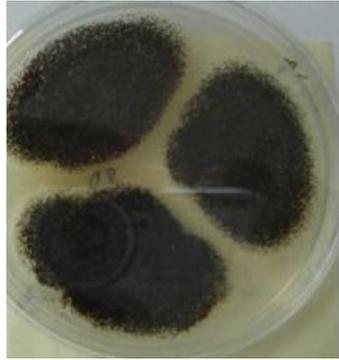


Figure 8 : Culture d'*Aspergillus niger* dans une boîte de Pétri
(Raper et Fennel, 1977))

I.4.4. Substrats

Aspergillus niger est une moisissure qui se trouve un peu partout et qui préfère généralement les sols secs et chauds. On a pu l'isoler de divers substrats comme : cire, sol, bois, eau (douce, polluée), légumes, fruits frais et secs, poussières atmosphériques, noix et noisettes.

Et même au niveau des produits industriels : cuir, caoutchouc, émulsion de cosmétique, métaux, papiers, plastiques, photographie, textiles (coton, laine), composants électroniques, peinture murale ou artistique et vernis (Anderson, 1971).

Cette moisissure pousse aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur. *Aspergillus niger* est une espèce cosmopolite détectée dans le monde entier. Espèce très commune du sol. Elle peut aussi contaminer la viande et les œufs, ou les fruits séchés au soleil. Elle se développe aussi sur la matière végétale en décomposition.

I.4.5. Morphologie

Aspergillus niger est un champignon connu par sa multiplication asexuée (l'anamorphe). C'est un champignon filamenteux avec des hyphes haploïdes, ramifiés, cloisonnés et formant un mycélium.

Les colonies d'*Aspergillus niger* sont obtenues de façon asexuée et sont couvertes de feutre blanc ou jaune qui contient des spores fongiques. Un mycélium, filiforme ou les hyphes sont partagés par une cloison et il est transparent. Les conidiophores (spores fongiques produites de façon asexuée) d'*Aspergillus niger* contiennent de globuleuses vésicules (globulaires) allant de 40 à 60 um de diamètre et se situent généralement entre 1à3mm de longueur.

Chaque vésicule globuleuse contient les phialides bisériés qui sont des projections de la conidiophore d'*Aspergillus niger*. Ces phialides sortent de metule brun, qui est le site où une cellule-mère est créé. Les phialides passent par un processus de conidiogénèse (Anderson, 1971).

I.4.6. Milieux

Aspergillus niger est une espèce qui peut vivre dans un milieu pauvre en eau, elle est xérophile. Elle est fréquemment isolée des fruits secs et des noix car elle se développe avec une activité de l'eau de $a_w=0,77$ à la température de 35 °C. Elle peut aussi vivre dans un milieu très humide (humidité relative de 90 à 100 %).

Aspergillus niger peut supporter un pH acide de 2 à haute activité a_w . Il se développe à des températures optimales de croissance se situant entre 11 et 42 °C. Une espèce mésophile avec une température maximale de 48 °C qui peut atteindre même 60 °C (John et Ailsa ,2009).

I.4.7. Culture et Identification

Pour identifier les *Aspergillus*, on procède par faire des cultures sur boites de Pétri, sur des milieux de culture classiques (Sabouraud, PDA, milieu de Czapek...).

L'isolement se fait à l'aide de l'aspect des spores, la coloration de la colonie, la pigmentation et la forme de la tête aspergillaire.

Aspergillus niger donne en 7 jours sur milieu Czapek des colonies atteignant 4 à 5 cm de diamètre et de couleur noire .L'incubation s'effectue à 25 °C (Ripert, 2013).

Aspergillus niger se caractérise par une température optimale de croissance entre 25 et 30 °C mais il peut supporter une température de 47-48 °C. Au début la colonie est de couleur blanche et translucide puis se transforme noire en sporulant. Le pH du milieu ne change pas (pH final 5,5) (Herman, 2007).

I.4.8. Pathogénicité

Plusieurs souches d'*Aspergillus niger* peuvent produire des Ochratoxines A (Samson *et al.*, 2001).

Chez les sujets avec immunité déficiente, *Aspergillus niger* donne une otite externe invasive qui peut engendrer une perte définitive de l'audition ou même la mort de la personne touchée.

Aspergillus niger envahit le canal de l'oreille externe (Figure 9) qui peut causer des dommages de la peau (Schuster *et al.*, 2002).

Si on compare *Aspergillus niger* à d'autres champignons filamenteux, il est relativement inoffensif malgré la présence de cas qui présentent des infections pulmonaires ou des infections de l'oreille et avec bien sur un système immunitaire affaibli. Ce champignon filamenteux produit l'Ochratoxine A qui est une mycotoxine alimentaire. L'homme se contamine avec cette toxine à travers la nourriture non prise en charge de moyens de protection.

Les recherches ont montré que lorsque les conditions sont favorables que moins de 10% de l'*Aspergillus niger* souches produisent l'Ochratoxine A.

Des études réalisées sur les animaux ont montré que l'Ochratoxine A d'*Aspergillus niger* provoque une immunotoxicité avec une réduction de la taille des organes immunitaires, diminution des réponses d'anticorps et une altération de la production de cytokines.

Plusieurs animaux comme la dinde, le poulet, et les canards sont très sensibles à l'Ochratoxine (aliments contaminés par *Aspergillus niger* ou de métabolites toxiques). Il se produit des répercussions sur l'industrie de la volaille (Schuster *et al.*, 2002).



Figure 9: Affection d'*Aspergillus niger* (une otite externe)

(Schuster *et al.*, 2002).

I.4.9. Applications à la biotechnologie

Aspergillus niger est un germe important employé dans la biotechnologie. Il produit un nombre important d'enzymes telles que des amylases, des lipases, des cellulases, xylanases, des protéases et de l'acide citrique qui sont considérés comme GRAS (généralement reconnus comme sûrs) par les États-Unis Food and Drug Administration.

On doit traiter *Aspergillus niger* en toute sécurité et avec soin malgré cette considération. On a pu produire aussi des protéines à partir d'un mutant d'*Aspergillus niger*. On a également utilisé *Aspergillus niger* pour le traitement des déchets chimiques connu sous le nom biotransformations.

Depuis presque une vingtaine d'années, *Aspergillus niger* servait comme hôte pour la transformation des enzymes alimentaires. Mais il faut toujours manipuler ce champignon avec prudence en évitant la formation de poussière de spores qui peuvent causer de graves maladies (voir pathologie) et avec une vérification de l'Ochratoxine A (Segal ,2009).

I.4.10. Traitement des infections fongiques invasives

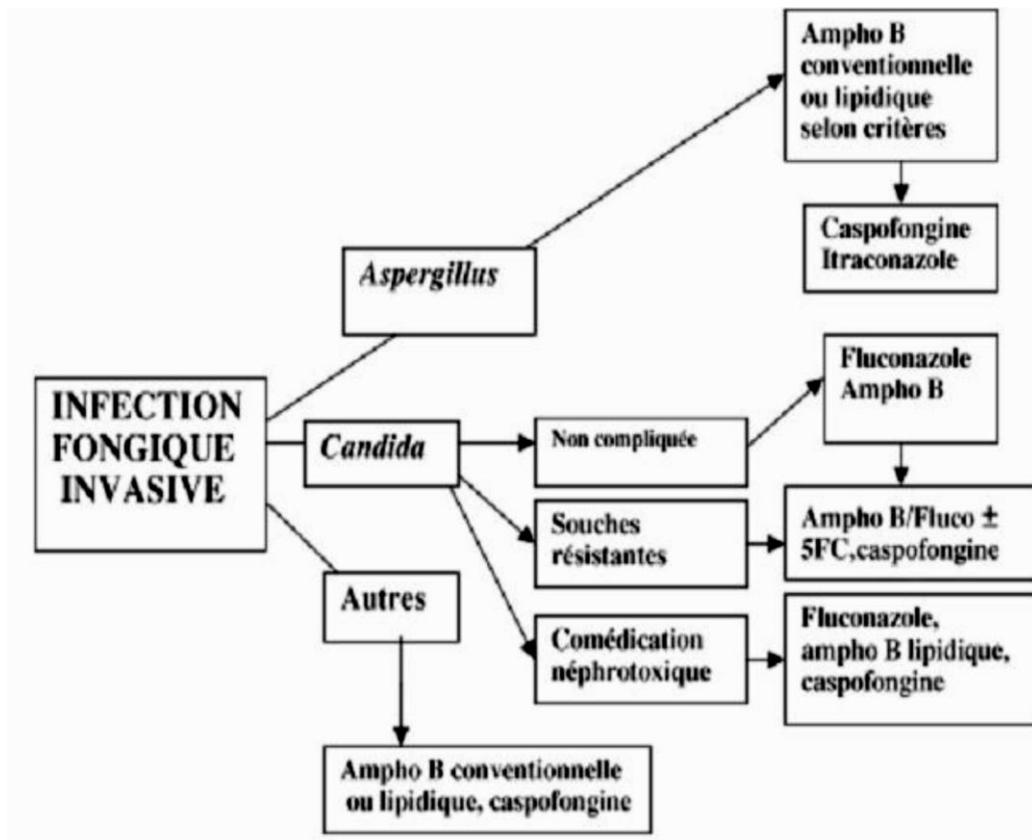


Figure 10: Traitement des infections fongiques

(Segal ,2009).

CHAPITRE II

ACTIVITE ANTIOXYDANTE

II. L'activité antioxydante

II.1. Définition des antioxydants

On définit un antioxydant comme une substance qui retarde ou empêche l'oxydation d'un substrat oxydable agissant avec des concentrations faibles (Asgarpanah et Kazemivash, 2012).

Les antioxydants protègent le corps humain avec ses cellules, les animaux et les plantes des altérations manifestées par les radicaux libres.

II.2. Mécanisme d'action des antioxydants

Les antioxydants agissent de différentes manières :

- Ils peuvent empêcher la formation directe des radicaux libres.
- Ils peuvent faire la liaison avec les radicaux libres et les détruire.
- Renforcer le système immunitaire de défense.
- Réparer les dommages résultants de radicaux libres.

(Lamina *et al.*, 2013).

II.3. Le système antioxydant

Pour contrôler la production permanente des espèces réactives, les organismes vivants possèdent des systèmes de défense qui les protègent contre les dommages des radicaux libres. Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes ou proviennent de l'alimentation ou la médication et sont donc exogènes.

II.3.1. Le système antioxydant endogène

II.3.1.1. Le système antioxydant enzymatique

Plusieurs enzymes principales sont présentes : La catalase, la glutathion peroxydase (GPx) et le superoxyde dismutase (SOD).

On peut trouver aussi :

II.3.1.1.a. Les peroxyredoxines (Prxs)

Enzymes dimériques avec une masse moléculaire d'environ 23 kDa. Caractérisés par la présence de résidus de cystéine, ils agissent en tant qu'antioxydants spécifiques. Ils sont aussi responsables de la dégradation enzymatique de H₂O₂.

II.3.1.1.b. Paraoxonase

La famille paraoxonase (PON) a récemment, été considérée comme une nouvelle classe d'enzymes antioxydantes, agissant contre les maladies notamment les maladies cardiovasculaires, le diabète et les maladies surtout associées à l'obésité.

Elle se voit à la surface des lipoprotéines de haute densité(HDL), PON1 protège les lipoprotéines de basse densité (LDL) du choc oxydatif, ce qui évite l'inflammation de la paroi artérielle dans les cellules (Savini *et al.*, 2013).

II.3.1.1.c. L'hème oxygénase-1(HO-1)

HO-1 est une enzyme antioxydante capable de réduire le choc oxydatif et l'inflammation. Elle est impliquée au métabolisme de l'hème. De nouvelles recherches ont montré le rôle bénéfique du HO-1 dans la protection vis-à-vis du diabète, de l'obésité et des maladies cardiovasculaires.

II.3.1.1.d. Thioredoxin(Trx)

Enzyme qui se trouve principalement sous la forme réduite dans le réticulum endoplasmique. Elle a un poids moléculaire de 12 kDa.

II.3.1.2. Les antioxydants endogènes non enzymatiques

Ce système comprend plusieurs molécules, tels que l'acide urique le glutathion et les protéines de stockage des métaux de transition (ferritine, transferrine, lactoferrine et céruloplasmine) (Savini *et al.*, 2013).

II.3.2. Le système antioxydant exogène

II.3.2.1. La vitamine E

Il s'agit d'un ensemble de composés phénoliques appelés tocophérols (α , β , γ , δ) ou tocols. Ils sont différents par la position du groupe méthyle sur le cycle aromatique. Le plus efficace biologiquement est l' α tocophérol.

La vitamine E se trouvent avec plus de 50% de dans les tissus adipeux. A l'aide de son caractère hydrophobe, la vitamine E pénètre dans les membranes biologiques riches en acides gras polyinsaturés et elle joue le rôle de protection contre la peroxydation lipidique due aux espèces réactives (Papas, 2008).

II.3.2.2. La vitamine C

Importante pour l'homme car elle joue le rôle de cofacteur enzymatique et d'un antioxydant (Kim *et al.*, 2013).

Pour le rôle de cofacteur enzymatique, la vitamine C permet la synthèse de la carnitine, du collagène, des catécholamines, assure le métabolisme des stéroïdes, de la tyrosine, du cholestérol, la formation de l'acide biliaire et la transformation de la dopamine en noradrénaline.

Pour le rôle d'antioxydant, la vitamine C assure la protection et le maintien des protéines, des lipides, de l'ADN, des enzymes et d'autres antioxydants dans leur forme normale par la réduction des ions métalliques et en piégeant les radicaux libres.

II.3.2.3. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes captent les peroxydes et les radicaux hydroxyles. Ils sont donc capables d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique. Les caroténoïdes ont aussi un rôle spécifique de protection contre les dommages causés par les rayons ultraviolets de la lumière solaire. Le β -carotène (provitamin A) est une substance liposoluble susceptible d'être transformé en vitamine A dans le corps (Sanders et Emery, 2003).

II.3.2.4. Les polyphénols

On définit les polyphénols comme composés antioxydants (Zhu *et al.*, 2012). Cette propriété est due aux groupes hydroxyles phénoliques (Hannan *et al.*, 2012). Ils sont considérés comme agents réducteurs, donateurs d'hydrogène et éliminateurs de l'oxygène singulet. Certains présentent des propriétés chélatrices de métaux et d'autres empêchent la production enzymatique des ROS (Jayasena *et al.*, 2013).

Les polyphénols sont des composés naturels, produits par plusieurs plantes. Ils ont un rôle important dans la protection des plantes contre les rayons ultraviolets, les agents pathogènes et les herbivores.

La production des polyphénols dans les plantes varie en fonction de plusieurs facteurs tels que l'état des cultures, la composition du sol, le degré de maturité et le génotype des plantes.

Les polyphénols comprennent une grande variété de molécules avec plusieurs groupes d'hydroxyles sur leurs cycles aromatiques.

Ils sont divisés en plusieurs classes, en fonction du nombre de cycles phénoliques le degré de maturité qui contiennent et les éléments qui se lient à ces cycles on peut noter : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les coumarines (Luthria *et al.*, 2006).

II.3.2.4.a. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des métabolites secondaires qui se trouvent dans les plantes surtout les plantes médicinales, dans les fruits, dans les légumes et les céréales. Ils sont nécessaires et jouent un rôle important dans la résistance des plantes aux agents pathogènes, dans leur croissance, dans la prévention du stress oxydatif, pour la couleur et les caractéristiques organoleptiques des plantes.

Ils sont produits sous forme de glycosides, d'esters, ou amides, mais rarement sous forme libre. La variation des acides phénoliques réside dans le nombre et l'emplacement du groupe hydroxyle sur le cycle aromatique. Ils ont deux structures principales acide hydroxycinnamique (dérivés hydroxylés de l'acide cinnamique) et acide hydroxy benzoïque (dérivés hydroxylé de l'acide benzoïque) (Khoddami *et al.*, 2013).

II.3.2.4.b. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le plus grand groupe des composés phénoliques dans les plantes supérieures avec plus de 6500 molécules basées sur un squelette de 15 atomes de carbones (Balasuriya et Rupasinghe, 2011).

On divise les flavonoïdes en six sous-groupes les flavones, les flavanones, flavan-3-ols, les flavonols, les isoflavones et les anthocyanes. Cette classification est basée sur des différences structurales qui font changer la molécule de base résultant de réactions de glycosylation, d'hydroxylation et d'alcalinisation (Khoddami *et al.* 2013 ; Balasuriya et Rupasinghe, 2011).

Six autres sous-groupes : flavans, isoflavanones, isoflavans, chalcones, auronnes et coumarines sont aussi mis parmi les flavonoïdes.

Chez les végétaux, Les flavonoïdes sont souvent produits dans des conditions anormales de stress comme une basse température, intensité lumineuse élevée, manque de nutriments et l'attaque des germes. Les flavonoïdes peuvent être responsables de la saveur et l'arôme des fruits et des fleurs, de leur couleur, et sont impliqués aussi dans les phénomènes physiologiques et biochimique des plantes tels que l'attraction des insectes, la défense contre les herbivores, la protection contre les ultras violets et la symbiose.

Dans les cellules eucaryotes, les flavonoïdes sont responsables de plusieurs fonctions .Il sont anticancéreux, antimicrobiens, anti-leishmanioses, antiviraux, protection contre les radiations, anti-inflammatoires, antiallergiques, antioxydants.et antidiabétiques (Figure 11). Les flavonoïdes ne sont pas toxiques.

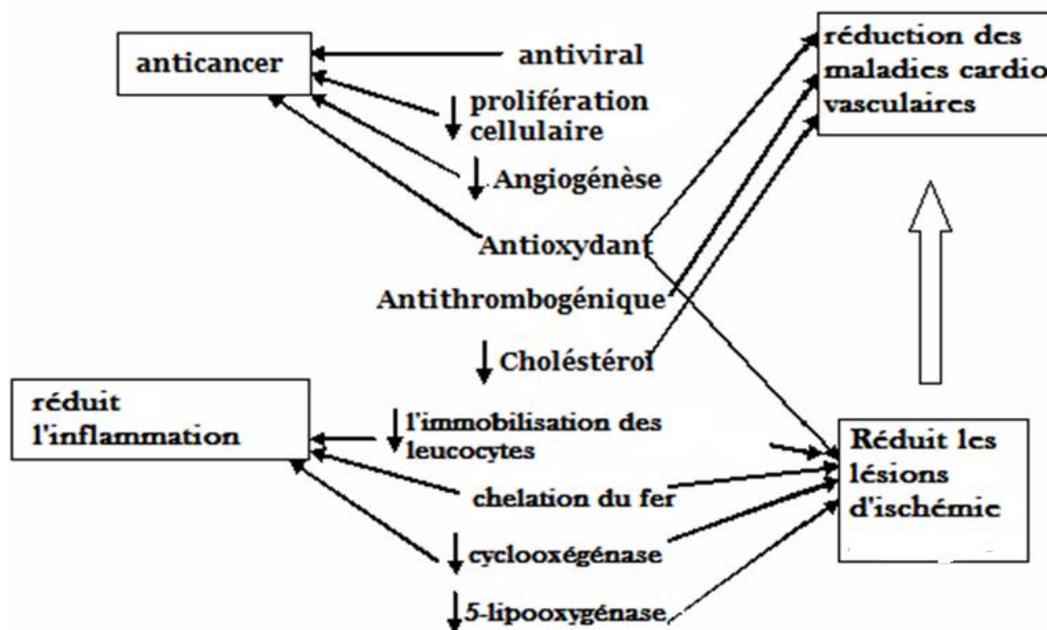


Figure 11: Liens indiquant l'effet des flavonoïdes sur les différentes maladies

(Tapas *et al.*, 2008).

II.3.2.4.c. Les tanins

Les tanins végétaux ont des poids moléculaires entre 500 et 3000, ils sont des composés phénoliques solubles dans l'eau. Ils sont capables aussi de précipiter la gélatine, les alcaloïdes, et les autres protéines (Sereme *et al.*, 2010).

On classe les tanins en tanins hydrolysables et non hydrolysable ou condensés.

II.3.2.4.d. Quelques activités des polyphénols

Les polyphénols sont connus par des propriétés biologiques bénéfiques telles que l'effet antimicrobien, antioxydant, antiallergique, anti-thrombotique, anti-inflammatoire, anti-carcinogène, antiulcéreux, et antimutagène. Les polyphénols ont également des propriétés aussi contre les maladies neurodégénératives cardiovasculaires, le diabète et les divers types de cancer. Chaque polyphénol possède un rôle physiologique différent, selon son métabolisme, sa constitution chimique, et sa disponibilité biologique (Savini *et al.*, 2013).

II.3.2.4.e. La biodisponibilité des polyphénols

In vitro Les polyphénols sont connus comme antioxydants, mais in vivo, ce rôle n'est pas confirmé du fait qu'il n'y a pas de bios marqueurs.

Les composés phénoliques sont rapidement métabolisés dans l'organisme humain. Leur métabolisme se fait par une voie commune : la majorité des polyphénols se trouvent dans les aliments sous forme d'esters, glycosides, ou des polymères qui ne peuvent être absorbés sous leur forme primaire. Cependant les aglycones peuvent être absorbés par l'intestin grêle. Ces produits seront hydrolysés par les enzymes ou par la flore intestinale avant leur absorption. Au cours de cette dernière, les polyphénols se conjuguent dans l'intestin grêle et ensuite dans le foie, ce mécanisme comprend principalement différentes opérations comme glucuronidation, méthylation et sulfatation. Ce qui permet d'augmenter le caractère hydrophile des polyphénols et aide leur élimination.

Les polyphénols qui se trouvent dans le corps sont des dérivés conjugués liés à l'albumine. Ils sont sécrétés par la voie biliaire dans le duodénum et dans l'intestin où ils sont soumis à l'action des enzymes bactériennes en particulier glucuronidase. Ce cycle entéro-hépatique peut aider à une meilleure réabsorption et une longue présence des polyphénols dans le corps (Manach *et al.*, 2004).

Après consommation de 50mg d'un composé phénolique unique, la concentration maximale des composés phénoliques ne peut dépasser rarement 1ng dans le plasma. Il n'y a aucune preuve qui peut confirmer l'accumulation à long terme des métabolites solubles dans l'eau, même si on consomme des doses élevées de polyphénols plusieurs fois.

II.3.3. Les antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques sont des produits qui empêchent l'oxydation des lipides et utilisés dans l'industrie alimentaire pour une meilleure conservation durant le stockage et le transport prolongé.

Les antioxydants synthétiques les plus utilisés sont le butylhydroxytoluène(BHT), le propylgallate(PG), le butylhydroxyanisole (BHA), et le gallate d'octyle (OG) et le tert-butyl-hydroquinone (TBHQ).

Ces antioxydants synthétiques sont connus par des effets contre la santé surtout le BHT et le BHA qui sont soupçonnés d'être carcinogènes et aussi responsables de lésions du foie. TBHQ est interdit dans certains pays Européens et au Japon (Roby *et al.*, 2013).

CHAPITRE III

ETUDE DES PLANTES

III. Etude de plantes

III.1 Rappels sur la phytothérapie

La phytothérapie dérive du grec Phuton et Therapeuïen qui veut dire savoir se soigner et l'art de se soigner par les plantes, c'est aussi l'art de connaître les secrets des plantes médicinales. On appelle la phytothérapie la "médecine douce", cette expression peut se confondre dans l'esprit des gens avec "sans danger". Ce n'est pas toujours le cas car la phytothérapie peut être dangereuse selon les plantes et les doses. On doit parler alors de "médecine traditionnelle"(Salle, 1991).

La pharmacognosie, une science qui s'intéresse aux substances, aux plantes et matières premières et permet une connaissance scientifique des substances naturelles de notre environnement qui ont été choisies au fil des années dans un but thérapeutique et avec des tests cliniques dans la médecine.

Elle a pour but l'étude :

- de la structure chimique, les contrôles de qualité et la biosynthèse des molécules.
- de leurs propriétés pharmacologiques et toxicologiques.
- des dénominations internationales des matières.
- des applications en thérapeutique humaine.
- des médicaments qui en dérivent (Wichtl et Anton, 1999).

Le travail à effectuer reste important et souvent difficile car la connaissance de l'activité de ces nombreuses molécules, de leur métabolisme et de leur biodisponibilité, est un peu différent par rapport aux remèdes déjà connus (Fauron et Roux, 1989).

La phytothérapie constitue une branche sensible qui doit définir la composition, le contrôle de la fabrication et aussi la dispensation. On note deux cents plantes uniquement utilisées et indiquées sur les vingt mille plantes répertoriées dans :

- Troubles digestifs, troubles respiratoires et insomnie
- Maux bénins, fatigue passagère, rhume...
- Préventif.

- Réduire la prise de médicaments. (Sauf pour les maladies cardiovasculaires, le diabète, le cancer....) (Fauron et Roux ,1989).

III.2. Les huiles essentielles

III.2.1. Définition

Les huiles essentielles sont des essences aromatiques concentrées de plantes se trouvent au niveau des feuilles, des fleurs, des graines et des racines des plantes. Elles se trouvent aussi dans la résine, l'écorce et le bois des arbres (Leslev,2005).

les Arabes furent les premiers qui ont inventé le principe de la distillation des plantes il y a plus de mille ans, ce principe a permis d'extraire les huiles essentielles.

Ces « huiles » diffèrent des huiles végétales extraites de certains fruits comme (amandes douces, huile d'olive... etc) (Anne, 2003).

Les huiles essentielles sont des produits odorants et concentrés, Ils sont obtenus par entraînement à la vapeur d'eau à partir de plantes, c'est le principe de l'hydro distillation ou expression (pression à froid) (Oussalah *et al.*, 2007).

III.2.2 Certaines propriétés des huiles essentielles

Antimicrobiennes

Les huiles essentielles ont une activité antimicrobienne considérable avec un spectre d'action inhibant la croissance des levures, des bactéries et des moisissures .Cette activité antimicrobienne dépend de leur composition chimique, et surtout de la nature de leurs composés volatils (Oussalah *et al.*, 2007).

Conservation d'aliments

Différentes espèces d'herbes et d'épices sont connues depuis longtemps avec des effets antimicrobiens et ont été utilisées dans la conservation et pour augmenter la durée de vie des aliments. Ainsi, les huiles essentielles et leurs composants, utilisés actuellement comme arômes et additifs alimentaires possèdent aussi des activités de conservation alimentaires (Oussalah *et al.*, 2007).

III.2.3. Mode d'action

Les huiles essentielles empêchent la multiplication des bactéries, la sporulation et la production de leurs toxines.

Chez les moisissures, elles stoppent l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines

Pour les levures, elles perturbent la biomasse et la production des pseudomycéliums en inhibant la germination des spores (Oussalah *et al.*, 2007).

III.2.4. Précautions d'emploi

L'huile essentielle ne doit jamais être utilisée pure en application externe, surtout sur le visage car cela peut provoquer des rougeurs et des irritations. La dilution est le plus souvent de 1%.

On peut imbiber un morceau de sucre de quelques gouttes pour l'usage interne (Anne , 2003).Les huiles essentielles doivent être utilisées donc avec prudence. L'usage interne, est prescrit par un spécialiste. Durant la grossesse, certaines huiles sont à éviter et d'autres sont même interdites (Leslev,2005).

III.3. La Mélisse (*Melissa officinalis* L.)

III.3.1. Classification

Règne	Végétal
Ordre	<i>Lamiales</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Famille	<i>Lamiacées</i>
Classe	<i>Eudicotylédones</i>
Sous-classe	<i>Astéridées,</i>
Genre	<i>Melissa</i>
Espèce	<i>Melissa officinalis</i>

(Quezel et Santa, 1962-1963)

On note trois espèces : *officinalis*, *inodora* et *altissima*. L'espèce *officinalis* est la plus utilisée en thérapeutique (Carnat *et al.*, 1998).

Nom botanique : *Melissa officinalis* L (Figure 12).

Nom français : Mélisse officinale

Nom anglais : Lemon balm



Figure 12: *Melissa officinalis* L.

(Kothe, 2007).

III.3.2. Description botanique

Très recherchée par les abeilles, le nom de la Mélisse officinale (*Melissa officinalis*) vient du grec *melissophullon* qui signifie « feuille à abeilles ». C'est une plante médicinale et aromatique (Kothe, 2007).

La Mélisse possède une tige carrée mesurant le plus souvent entre 30 et 80 centimètres de haut, ramifiée, dressée et poussant en touffes (Figure 13) (Thoby, 2009).

C'est une plante également herbacée vivace de la famille des *Lamiacées* avec des feuilles à l'odeur et la saveur citronnées (Kothe, 2007).

Le fruit est un tétrakène contenant de petites graines brunes, foncées et luisantes.

La *Mélisse officinale* peut parfois, notamment si elle est cueillie à l'état sauvage, être confondue avec d'autres plantes (Wichtl et Anton, 2003 ; Babulka, 2005).



Figure 13: Feuilles et fleurs de Mélisse (Photo : Adimi, 2014)

III.3.3. Habitat

On rencontre la Mélisse à l'état sauvage dans l'Amérique du nord, le sud de l'Europe et en Asie mineure dans des endroits tels que un bois, le bord d'une haie, ou un lieu non cultivé et frais (Wichtl et Anton, 2003).

On la cultive aux Etats-Unis, en Europe occidentale et centrale (OMS, 1999a). Plante d'origine méditerranéenne, rencontrée en Algérie, elle pousse dans les lieux chauds.

III.3.4. Culture et récolte

Après la deuxième année de culture, on peut obtenir la première récolte normale (Wichtl et Anton, 2003). Durant la première année, le producteur ne peut avoir que 25 % du rendement normal. On ramasse les feuilles et les tiges avant la floraison c'est-à-dire fin juin à début juillet. Une deuxième récolte peut se faire fin août à début septembre. Autrefois, le ramassage se faisait à la faucille mais aujourd'hui on utilise des récolteuses mécaniques, surtout lorsque la surface de récolte est grande. Le séchage de la plante se fait directement après la fin de la cueillette.

III.3.5 Historique de la Mélisse

L'extrait sec de feuilles de Mélisse (*Melissa officinalis*) ou les feuilles de Mélisse séchées sont utilisées dans les médicaments ou les compléments alimentaires. L'huile essentielle extraite peut aussi être employée.

On connaît la Mélisse depuis la Grèce antique. Les feuilles de cette plante ont été utilisées par Théophraste (372 - 287 av. J.-C.) et Hippocrate (460 – 377 av. J.-C.), dans la digestion et pour diminuer la nervosité des dépressifs (Wichtl et Anton, 2003).

On produisait l'Eau *de mélisse des Carmes Boyer*® depuis 1611. Il s'agit d'une solution à base d'alcool plus de la Mélisse et avec aussi neuf épices et treize autres plantes.

Cette solution présente d'innombrables vertus comme faciliter la digestion et apaiser le mal des transports, diminuer le stress et la fatigue.

Plusieurs médicaments aujourd'hui contiennent de la *Mélisse officinale* qui peuvent être administrés par voie orale.

Traditionnellement, on utilise la Mélisse dans le traitement symptomatique des troubles digestifs (digestion lente, ballonnement épigastrique et flatulences) et dans le traitement symptomatique des états neurotoniques (troubles mineurs du sommeil) (AFSSaPS, 1998).

Melissa officinalis fait partie de la liste des 34 plantes sorties du monopole pharmaceutique à la suite du décret 79-480 du 15 juin 1979. Inscrite aussi à la Pharmacopée française pour ses feuilles et ses sommités fleuries.

III.3.6 Parties utilisées de la plante

On utilise les parties aériennes, feuilles et sommités fleuries fraîches ou séchées (Figure 14).



Figure 14: Parties aériennes séchées de la Mélisse (Iserin, 2001).

III.3.7 Composition

Les principaux constituants des feuilles de Mélisse sont :

L'huile essentielle (HE) (jusqu'à 0,8 %), contenant des aldéhydes monoterpéniques à odeur citronnée (géranial, néral et citronellal), des dérivés hydroxycoumariniques comme l'esculétine, des dérivés de l'acide hydroxycinnamique (4 à 7 %) aussi appelés «tanins des Lamiacées», dont le principal est l'acide rosmarinique (AR), des acides triterpéniques (acides ursolique et oléanolique) et des flavonoïdes (hétérosides de lutéoline, d'apigénine, de quercétine, de kaempférol)

La Pharmacopée européenne exige que la feuille de Mélisse séchée doive contenir au minimum 4 % de dérivés hydroxycinnamiques totaux exprimés en l'acide rosmarinique. Ce composé phénolique est indiqué pour le traitement des affections cutanées comme l'herpès labial (*Herpès simplex*) grâce à ses propriétés anti oxydantes et antivirales. La *Mélisse* officinale constitue une source naturelle majeure d'AR par sa teneur élevée (4–7 % des feuilles sèches) par comparaison aux autres lamiacées (Wichtl et Anton, 2003).

III.3.8 Usages traditionnels

- **Usages traditionnels** Cette plante est utilisée pour guérir les blessures, calmer les dents et apaiser les palpitations. Elle a un effet bénéfique sur le moral. Son utilisation accroît la longévité.

- **Plante relaxante :** La Mélisse est une plante relaxante en cas de nervosité d'anxiété, d'irritabilité et de dépression légère. Elle apaise les palpitations cardiaques d'origine nerveuse et elle diminue l'émotivité .On recommande La Mélisse lorsque l'anxiété provoque des troubles digestifs tels que les ballonnements, les indigestions, les coliques, les nausées et l'acidité.

- **Herpès :** La Mélisse diminue la fréquence du virus et élimine ses éruptions.

- **Une plante hormonale :** La Mélisse calme l'hyperexcitabilité due aux problèmes de la thyroïde.

- **Autres usages :** On emploie la Mélisse pour soigner les piqûres d'insectes, les coupures et dans la fièvre.

III.3.9 Principaux effets

- Antiviral
- Tonique nerveux
- Antispasmodique
- Relaxant

- Favorise l'évacuation des gaz
- Stimule la transpiration (Wichtl et Anton, 2003).

III.3.10 Posologie de la Mélisse

III.3.10.a. Usage interne

Troubles nerveux et digestifs

Parties aériennes séchées : Prendre de 1,5 g à 4,5 g, de 1 à 3 fois par jour.

Infusion : Infuser de 1,5 g à 4,5 g de parties aériennes séchées dans 150 ml d'eau bouillante et prendre de 1 à 3 fois par jour.

Teinture (1:5 dans l'éthanol à 45 %) : Prendre de 2 ml à 6 ml, 3 fois par jour.

Extrait liquide (1:1 dans l'éthanol à 45 %) : Prendre de 2 ml à 4 ml, 3 fois par jour.

III.3.10.b. Usage externe

Insomnie, nervosité, agitation

On réalise un massage doux des bras avec quelques gouttes d'huile essentielle. On peut aussi mélanger 10 gouttes d'huile essentielle avec un peu de savon liquide et verser dans un bain chaud.

Herpès labial

On utilise une crème ou une lotion contenant 1 % d'extrait aqueux lyophilisé (70:1), de 2 à 4 fois par jour, jusqu'à la disparition des lésions. On peut aussi utiliser des compresses avec l'infusion.

Blessures mineures, névralgies

On applique de 2 à 4 fois par jour sur la zone touchée d'un mélange de 5 goutte d'huile essentielle avec 1 cuillère à thé d'huile d'olive (Iserin, 2001).

III.3.11 Etudes scientifiques réalisées sur la Mélisse

Depuis le temps ancien, on utilisait la Mélisse pour troubles mineurs du sommeil, la nervosité et les troubles gastro-intestinaux comme les douleurs abdominales et les flatulences mais d'une façon empirique (Babulka, 2005).

L'utilisation des feuilles sèches de *Melissa officinalis*, intactes ou sous forme de poudre, de teinture éthanoïque 45% et d'extraits éthanoïques 45% sec ou liquide pour ces usages traditionnels a été reconnue par le Comité des médicaments à base de plantes (HMPC ou Herbal Medicinal Products Committee) de l'Agence Européenne du médicament (EMA ou European Medicine Agency). Cependant, l'HMPC ne parle pas d'utilisations scientifiquement réalisées.

III.3.11.a. Antalgique dans les douleurs d'origine digestive

On peut soulager les douleurs abdominales par *Melissa officinalis* qui possède une propriété antalgique propre à elle. Cela est dû à un composé antispasmodique associé à une stimulation de la digestion par un effet cholérétique.

III.3.11.a .1. Effet antispasmodique de la Mélisse

Si on expose les acétylcholinestérases *in vitro* à un extrait hydro-éthanoïque (éthanol 45 % v/v) de Mélisse, on note après dix minutes que la Mélisse présente un effet inhibiteur des acétylcholinestérases équivalent à $1,72 \pm 0,16 \mu\text{g}$ de physostigmine/mg (PHY/mg).

Cela se traduit par une diminution de l'hydrolyse de l'acétylcholine par les acétylcholinestérases.

Mais une partie de cet extrait est plus efficace avec une activité équivalent à $25,36 \pm 1,63 \mu\text{g}$ PHY/mg. Cela est dû la présence de l'acide rosmarinique et deux de ses dérivés. (Dastmalchi *et al.*, 2008).

La Mélisse possède des propriétés spasmolytiques car l'huile essentielle inhibe les contractions d'iléon de rat. Cette activité est liée à la présence de citral (Sadraei *et al.*, 2003).

On peut donc utiliser la Mélisse pour calmer les troubles gastro-intestinaux d'origine spasmodique.

III.3.11.b. Effets sur le système nerveux central

III.3.11.b.1. Effet anxiolytique

Dans une étude de 2009, Awad et son équipe ont montré sur des cerveaux de rat qu'un extrait de Mélisse possédait une activité inhibitrice de la GABA-T *in vitro*, CI50 = 0,35mg/ml. Cette activité serait due à l'acide rosmarinique, à l'acide ursolique et à l'acide oléanolique (Awad *et al.*, 2009). Une étude *in vivo* serait nécessaire pour mieux confirmer ce travail.

III.3.11.b.2. Effet antidépresseur

On a montré qu'un extrait aqueux de Mélisse chez la souris présente une activité apparentée à une activité antidépressive chez l'homme avec un traitement par imipramine (Dorosz *et al.*, 2011).

Si on prend comme exemple le test de la nage forcée et qui a permis de permettre d'évaluer les effets des traitements antidépresseurs sur la souris.

Une activité antidépressive d'un produit se caractérisera dans ce test par une augmentation de l'activité locomotrice de la souris (temps de nage et escalade).

L'étude d'Emamghoreishi (2009) montre que 25 mg/kg d'extrait aqueux de Mélisse administrés par voie intra-péritonéale réduisent de 46 % l'immobilité de la souris, augmentent de 170 % les tentatives de fuite sans modifier le nombre de fois où la souris nage (Emamghoreishi et Talebienpour, 2009).

III.3.11.b.3. Sédatif et inducteur du sommeil

Un extrait aqueux de Mélisse et un extrait méthanolique présentent des effets sédatif et inducteur du sommeil.

III.3.11.c. Intérêt chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer et les maladies neurodégénératives

Melissa officinalis possède des propriétés cholinergiques qui peuvent aider les personnes souffrant de la maladie de Parkinson et de la maladie d'Alzheimer cette dernière qui résulte d'une baisse générale de la transmission cholinergique au niveau central. On a administré un extrait liquide hydro-alcoolique de Mélisse (éthanol 45%) et standardisé à 500 µg/ml de citral chez des patients atteints de la maladie d'Alzheimer à un stade légèrement avancé. Pendant quatre mois à raison 60 gouttes de cet extrait par jour. Comme résultat encourageant, une amélioration des performances cognitives des sujets a été détectée (Lopez *et al.*, 2009).

III.3.11.d. Effet antioxydant

La Mélisse présente des propriétés antioxydantes importantes (Dastmalchi *et al.*, 2008). Les antioxydants luttent contre le stress oxydatif provoqué par les rayonnements, ou les agents chimiques donc ils protègent les cellules. Certains sont endogènes synthétisés par les cellules. D'autres sont exogènes apportés par l'alimentation (Nadji, 2010).

Grâce à ses propriétés antioxydantes qui confèrent ainsi une protection cellulaire aux neurones On peut associer l'huile essentielle de Mélisse au traitement de la maladie d'Alzheimer (Bahtiyarca et Cosge, 2006).

III.3.11.e. Intérêt dans le traitement des hyperlipidémies

Les ROS interviennent dans le processus d'athérosclérose, c'est-à-dire dans la formation de plaques d'athéromes qui peuvent être à l'origine d'infarctus du myocarde ou d'accidents vasculaires cérébraux (AVC). L'organisme libère une molécule de défense antioxydante le glutathion (Nadji, 2010). Or, il se trouve que chez le rat hyperlipidémique sa production est fortement abaissée.

Bolkent et son groupe en (2005) ont réalisé une expérience et ils ont déduit qu'un extrait de Mélisse augmente la concentration du glutathion dans le sang et le foie du rat hyperlipidémique. Cette concentration est supérieure de 33% chez les rats hyperlipidémiques qui ont reçu l'extrait par rapport aux rats hyperlipidémiques n'ayant pas reçu l'extrait de la Mélisse. Le taux de peroxydation des lipides est diminué de 63% Chez les rats traités.

Cette étude a montré aussi qu'un extrait aqueux de feuilles de Mélisse permet une réduction du cholestérol et du taux de lipides sanguins chez le rat hyperlipidémique (Bolkent *et al.*, 2005).

Aucun médicament n'est disponible à l'heure actuelle pour traiter l'athérosclérose.

III.3.11.f. Virucide

III.3.11.f.1. Action sur le Virus d'Immunodéficience Humaine

III.3.11.f.1.1. Thérapeutiques existantes

Le nombre de personnes mourant du SIDA chaque année a été estimé à 1,8 millions par l'OMS (OMS, 2011a).

Actuellement, il n'y a aucun médicament capable de détruire le VIH. Cependant une trithérapie peut être utilisée pour éloigner le plus longtemps possible le stade SIDA. On dispose de plusieurs types d'antirétroviraux permettant de limiter la multiplication du virus : les inhibiteurs nucléotidiques de la transcriptase inverse, les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse, les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse, les inhibiteurs de protéase et les inhibiteurs de fusion. De plus, ces traitements présentent de nombreux effets indésirables (Talbert *et al.*, 2008).

III.3.11.f.1.2. Activité de la Mélisse sur le VIH

Plusieurs plantes de la famille des *Lamiaceae* y compris la Mélisse, présentent une activité sur le virion du VIH. En effet, l'efficacité d'un extrait aqueux de Mélisse a été étudiée, ce dernier inhibe le mécanisme de fusion et n'a pas d'effet que sur les particules virales libres, il est différent de celui de Fuzeon, qui est aussi un inhibiteur de fusion. L'extrait n'est cytotoxique qu'à des concentrations relativement haute par rapport à la CI50 (Geuenich *et al.*, 2008).

Il faut être très vigilant par rapport à ces résultats car il se peut donc qu'à l'échelle de l'organisme humain, ces effets ne soient pas observés. Ces essais ont été menés sur des modèles.

III.3.11.f.2. Action sur l'*Herpès simplex virus*

III.3.11.f.2.1. Thérapeutiques existantes

On emploie plusieurs remèdes contre l'*Herpes* qui sont l'Aciclovir, par voie orale ou locale et le Valaciclovir par voie orale uniquement (Talbert *et al.*, 2008).

L'Aciclovir et le Valaciclovir inhibent tous deux la synthèse de l'ADN viral (Katzung, 2006).

III.3.11.f.2.2. Activité de la Mélisse sur l'*Herpès simplex virus*

Sur des cellules rénales de singe on a testé l'activité anti-herpétique de l'huile essentielle de *Melissa officinalis* sur HSV de types 1 et 2.

Pour des concentrations inférieures à 0,002 %, il a été observé une inhibition de la formation de plaques virales de 98,8 % pour HSV-1 et 97,2 % pour HSV-2 (Schnitzler *et al.*, 2008) avec une très haute dilution (pour lesquelles la cytotoxicité est très faible).

Allahverdiyev et son équipe en 2004 ont montré l'efficacité de l'huile essentielle de Mélisse sur HSV 2 pour des concentrations non-cytotoxiques inférieures à 100 µg/ml (Allahverdiyev *et al.*, 2004).

L'huile essentielle empêche la pénétration du virus dans les cellules mais n'a aucune activité une fois le virus se trouve dans la cellule-hôte. (Schnitzler *et al.*, 2004). Donc, uniquement les particules virales libres d'HSV soient sensibles à la Mélisse.

En Allemagne, on vend un produit à base de Mélisse dans les traitements de l'herpès labial : Lomaherpan du laboratoire Lomapharm (Wichtl et Anton, 2003).

III.3.11.g. Phytosanitaire

On a toujours utilisé la Mélisse pour soigner l'être humain mais depuis quelques années, d'autres usages sont étudiés notamment dans le domaine des produits phytosanitaires.

III.3.11.h. Herbicide

Un extrait hydro-acétonique de *Melissa officinalis* inhibe la germination et la croissance du millet sanguin (*Digitaria sanguinalis* L.), du cresson (*Lepidium sativum* L.), de racines et de pousses de "queue de renard" (*Amaranthus caudatus*), de fléole des prés (*Phleum pratense* L.) et de laitue (*Lactuca sativa* L.) .

III.3.11.i. Insecticide

On a utilisé des parties aériennes de Mélisse pour préparer un extrait méthanolique qui a été testé sur un ver ravageur du cotonnier *Spodoptera littoralis*. Cet extrait concentré à 10 % possède une légère toxicité (62 % de mortalité) sur les larves de ce papillon avec une CL50 de 3,74 %.

Cela reste très inférieur aux effets observés avec un extrait méthanolique de Sauge, de Basilic et de Marjolaine dont les CL50 sont 0,47 %, 0,36 % et 0,47 %.

Cet extrait lutte contre l'insecte adulte mais n'empêche pas la transformation de la larve à l'insecte adulte. C'est donc une efficacité limitée.

III.3.12 Propriétés de l'huile essentielle de la Mélisse

La Mélisse possède une activité antibactérienne (*Shigella sp*) et antifongique (*Trichophyton sp*). Elle est anti-oxydante, capteur de radicaux libres (Mimica-Dukic *et al.*, 2004) et anti-tumorale (Allyne *et al.*, 2004).

La Mélisse est aussi antivirale vis-à-vis d'*Herpès virus* I et II. Elle réduit l'agitation dans la démence (Ballard *et al.*, 2002). Elle a un effet spasmolytique identique à la Papavérine (Sadraei *et al.*, 2003) .

On a utilisé la Mélisse en tisane avec d'autres plantes antispasmodiques (Verveine, Réglisse, Fenouil et Camomille) pour traiter les coliques des enfants (Weizman et Alkrinawi , 1993).

Pour le traitement des troubles du sommeil des résultats formidables ont été obtenus avec un extrait contenant de la Mélisse, de la Camomille, et du Fenouil (Savino et Cresi , 2005).

Un extrait associé à base de Mélisse et de Valériane est utilisé contre l'insomnie est efficace plus que le Triazolam (Dressing, et Riemann, 1992). La Mélisse agit aussi sur la qualité du sommeil chez des personnes ne présentant pas ce problème (Cerny et Schmid, 1999).

Cette même combinaison de plantes lutte contre les troubles du sommeil d'origine nerveuse chez les enfants de moins de 12 ans (Muller et Klement ,2006).

III.4 L'Origan (*Origanum vulgare* L.)

III.4.1 Classification

Règne	Végétal
Ordre	<i>Lamiales</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Famille	<i>Lamiacées</i>
Classe	<i>Eudicotylédones</i>
Sous-classe	<i>Astéridées,</i>
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Origanum vulgare</i>

(Quezel et Santa, 1962-1963)

Nom botanique : *Origanum vulgare* L.

Nom français : Origan vert, Origan de la Grèce, la Marjolaine

Nom anglais : Oregano

III.4.2 Définition- Description

L'Origan est une plante vivace à tiges rougeâtres et feuilles velues (kothe,2007). Il est à souche ligneuse et dressée de 30 à 70 cm de hauteur (Figure 15), herbacée aromatique, ses feuilles sont de 2 à 4 cm de long, opposées arrondies, ovales, vert foncées (Debuigne et Couplan, 2009).



Figure 15: *Origanum vulgare*

(Kothe,2007).

La plante donne des panicules ou corymbes épanouies, composés de fleurs (Figure 16) hermaphrodites tubulées de 2 à 4 mm de long, de Juillet à Octobre de couleur rose pâle à foncé ou blanche entourées de bractées foliacées vert teinté de pourpre (Julve,2013).

III.4.3 Récolte

Elle se fait lors de la floraison en été.



Figure 16 : Fleurs de l'Origan (Photo :Adimi ,2014)

III.4.4 Histoire-Tradition

Origanum vulgare est employé pour parfumer les pâtes et toute sortes de viandes et poissons (kothe,2007). Cette plante est aussi utilisée pour améliorer la digestion, la respiration et l'articulation traditionnellement. Il est d'origine du Bassin méditerranéen et d'Asie Centrale (Debuigne et Couplan,2009).

L'Origan est connu dès l'Antiquité comme produit à vertus médicinales (Iserin,2001).

Les Grecs et les Romains étaient certains de ses vertus aphrodisiaques (Jourdain,1997)

L'appellation « Origan » est née au XIIIème siècle, qui veut dire alors « Aime la montagne ». En relation avec une légende qui raconte que cette plante qui pousse dans les montagnes, a été créé par Vénus pour cicatriser les blessures des flèches de Cupidon.

Au XVIème siècle, on portait l'Origan sur soi pour se protéger de la peste. On redécouvre une autre fois l'huile d'Origan avec la médecine naturelle.

Cette huile est très connue aujourd'hui comme très efficace contre divers germes pathogènes suite à divers travaux scientifiques réalisés.

III.4.5 Habitat-culture

L'Origan est une plante herbacée qui aime les terrains calcaires bien drainés Elle aime aussi la chaleur et le soleil et redoute l'excès d'humidité (Iserin,2001).

Elle pousse spontanément sur les montagnes d'Europe ensoleillés et pierreuses. (Debuigne et Couplan,2009). Elle aime aussi les bordures des routes.

III.4.6 Parties utilisées

On utilise les parties aériennes et sommités

III.4.7 Composants principaux de la plante

- Huile essentielle formée du carvacrol majoritaire qui est un composé phénolique qui possède des propriétés anti-infectieuses à large spectre. Il est antibactérien, antiviral, antifongique et antiseptique très efficace.
- Flavonoïdes : hétérosides de lutéoline, d'apigénine et de naringénine

- Acides phénoliques
- Tanins

III.4.8 Principaux composants de l'huile essentielle

- Phénols terpéniques : carvacrol, thymol (Wolfgang, 2008)
- Alcools mono terpéniques : linalol, bornéol
- Hydrocarbures terpéniques : Gamma- terpinène, paraxylène, bêta- bisabolène, caryophyllène (Jourdain,1997)

III.4.9 Principales indications

➤ En usage interne

- Allège la congestion des poumons, des sinus et soulage la toux.
- Combat les infections virales et bactériennes.
- Soulage l'indigestion, les nausées, diarrhées et les gaz.
- Détend le système digestif et diminue les douleurs et les malaises.
- Augmente la puissance du système immunitaire.
- Peut prévenir et soigner rhumes et gripes.
- Aide à soigner la bronchite, sinusite, pneumonie et rhume des foins.
- Problèmes de peau.
- Guérit la peau sèche, les infections et piqûres d'insectes
- Réduit l'acné et débloque les pores.
- Combat les champignons sous les ongles des pieds et des mains
- Aide le traitement de psoriasis, eczéma et soulage les coups de Soleil.
(Raymond, 1984)
- Infections urinaires.
- Agit sur *Candida albicans* et les infections parasitaires.
- Traitement de la douleur, l'infection des dents, des gencives et abcès.
- Nettoie les dents (poudre d'Origan) et rafraîchit l'haleine (Debuigne et Coulplan,2009).
- Une infusion d'Origan après le repas facilite la digestion. Il ouvre l'appétit et possède une action bénéfique sur le foie.
- L'Origan stimule des règles et calme également les douleurs menstruelles.

- Les sommités fleuries de l'Origan sont indiquées dans l'asthénie et la fatigue nerveuse.
- En tisane, il agit aussi contre le rhume et la grippe. Il calme la toux sans entraver l'expectoration. Il a aussi un effet bénéfique sur l'emphysème pulmonaire. Il est employé d'une façon générale contre les douleurs spasmodiques, la fatigue et le stress

➤ **En usage externe**

- Il calme les piqures d'insectes et les démangeaisons. On peut chauffer ses sommités à la poêle et les appliquer en cataplasme épais sur la zone douloureuse
- **Sa lotion** employée pour la repousse des cheveux. .

Pour tous nos voyages L'huile d'Origan est une merveilleuse compagne (Raymond, 1984).

III.4.10 Mode d'action

L'huile d'Origan est connue pour ses propriétés anti-infectieuses, antivirales antifongique, antibactériennes et antiseptique. Cela est dû au carvacrol, un composé phénolique très efficace.

D'innombrables travaux in vitro ont montré que l'huile d'Origan et le carvacrol détruisent plusieurs bactéries et champignons.

Des recherches scientifiques ont été publiées sur les propriétés antimicrobiennes de l'huile d'Origan et ont montrées que l'huile d'Origan a inhibé 19 souches bactériennes sur un total de 25 bactéries étudiées, avec une forte activité contre 4 bactéries mais incapable uniquement de détruire 2 bactéries.

Le carvacrol possède des effets antifongiques contre *Candida albicans*. Si on provoque une candidose buccale chez des rats immunodéprimés, le carvacrol peut devenir un traitement efficace.

L'huile d'Origan peut détruire aussi des cellules de levure *Saccharomyces cerevisiae* et du *Staphylocoque* doré. Il est aussi efficace que la Streptomycine, la Pénicilline ou la Vancomycine suite à une recherche chez des souris.

On peut même l'utiliser pour résoudre le problème des résistances.

Il a été remarqué que l'huile d'Origan combat le *Coronavirus* humain et diminue sa croissance (Raymond, 1984).

III.4.11 Forme galénique disponible

On dispose de L'huile d'Origan qui peut être utilisé, aussi sous forme gélules. Chaque gélule contient 45 mg d'huile d'Origan standardisée qui donne 70 % de carvacrol, un composé phénolique connu pour ses propriétés anti-infectieuses à large spectre d'action.

III.4.12 Conseils d'utilisation

On peut prendre trois gélules par jour ou selon les conseils du phytothérapeute (Jourdain, 1997).

III.4.13 Précautions et contre-indications

Utilisé avec précaution

- Chez les cardiaques et les nerveux car à fortes doses l'Origan est un excitant.
- Chez les enfants et les femmes enceintes ou allaitantes.

Un emploi à court terme est recommandé

Évité un usage prolongé à forte dose, il est légèrement hépatotoxique.

Non recommandé chez les hypertendus (Iserin, 2001).

III .5 La Lavande (*Lavandula angustifolia* L.)

III.5.1 Classification

Règne	<i>végétal</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Famille	<i>Lamiacées</i>
Classe	<i>Eudicotylidones</i>
Sous classe	<i>Astéridées</i>
Genre	<i>Lavendula</i>
Espèce	<i>Lavendula angustifolia</i> L.

(Quezel et Santa,1962-1963)

Nom botanique : *Lavendula angustifolia* L.

Noms français : Lavande de montagne, Lavande fine, Lavande officinale et Lavande vraie

Noms anglais : Common Lavender, Dutch Lavender, English Lavender et True Lavender.

III.5.2 Description

La Lavande présente des feuilles lancéolées (Figure 17) et des fleurs très odorantes (Kothe,2007). Elle est très abondante sur les coteaux calcaires des montagnes. Sa tige est simple, non ramifiée, ses fleurs sont petites, d'un bleu violacé, à deux lèvres, réunies en denses épis terminaux. Les feuilles sont opposées, étroites et allongées, de couleur grisâtre. Toute la plante et surtout les inflorescences dégagent au froissement une délicieuse odeur aromatique (Jourdain ,2013).C'est un sous-arbrisseau vivace haut de 20 à 60 cm (Julve ,2013).



Figure 17 : *Lavandula angustifolia* L (Kothe,2007).

III.5.3 Habitat

On la rencontre sur les coteaux arides des montagnes : Algérie, Alpes, Corse, Sicile, Italie, Jura, Sardaigne, Espagne.....

III.5.4 La lavande à travers l’histoire

Les romains utilisaient la Lavande grâce à son parfum pour les bains et l'entretien du linge.

Dans presque toute la région méditerranéenne, on utilisait cette plante rangée au nombre des "plantes précieuses" par les naturalistes romains (citée en particulier par Pline).

Le terme "Lavande" n'était utilisé qu'au moyen âge, ce mot provient du verbe latin "lavare" qui signifie laver car on emploie la plante pour lutter contre les maladies infectieuses. Son parfum est associé à l'aspect thérapeutique, car on soupçonnait les mauvaises odeurs dans la propagation des maladies.

A partir du XIIIème siècle, la Lavande se rencontre dans de nombreux livres et textes suite à son utilisation thérapeutique sous forme d'huile essentielle soit à usage interne ou externe (épidémies de peste en Provence).

Dès le XIV^{ème} siècle, la cueillette de la Lavande apparait dans des textes relatifs à l'herboristerie .En 1371, en Bourgogne la Lavande existait déjà en culture.

III.5.5 Parties utilisées

Les sommités fleuries de la Lavande (Figure 18) présentent un intérêt thérapeutique important. Elles sont employées en phytothérapie.

En été de préférence le matin, on fait la cueillette des fleurs qui sont ensuite séchées.

On peut obtenir deux produits :

- La poudre totale cryobroyée : obtenue par broyage à froid
- L'huile essentielle : obtenue par distillation à la vapeur d'eau



Figure 18 : Fleurs de *Lavandula angustifolia*(Photo :Adimi ,2014)

III.5.6 Composition :

La vraie lavande contient le linalol et l'acétate de linalyle en composants majeurs, ces derniers sont contenus dans l'huile essentielle.

Elle peut renfermer de 0,50 à 0,70% d'huile essentielle et jusqu'à 3%.

L'huile essentielle est formée de plusieurs composants :

- Acétate de linalyle (40 à 50%)

- Linalol (30à 40%), en partie libre et en partie combinée avec les acides acétique et butyrique
- Acides-phénols
- Géraniol
- Bornéol
- Cinéol
- Pinène
- Ethylamylcétone (à qui on doit l'odeur de la Lavande)
- Flavonoïdes
- Coumarines
- Tanins

La Lavande est qualifiée par son huile essentielle qui est très pure et ses propres propriétés étant liées à la composition de cette huile essentielle. Il est donc nécessaire d'utiliser de la Lavande vraie (Holmes *et al.*, 2002).

III.5.7 Propriétés de la plante

La lavande n'est pas uniquement utilisée et cultivée pour la fabrication de parfums et cosmétiques, elle sert aussi à aromatiser des sauces et des soupes. On lui prête en outre des propriétés antiseptiques, sédatives, antidépressives et antispasmodiques (Kothe,2007).

La Lavande est indiquée dans le traitement de l'agitation et de l'anxiété grâce à son huile essentielle. Cette dernière fait l'objet d'un grand nombre de tests et d'essais cliniques soit par massage sur la peau soit diffusée dans l'air cela a permis de diminuer l'agressivité et l'agitation de personnes âgées souffrant de démences (Holmes *et al.*, 2002).

Des études ont indiqué que la Lavande minimise l'anxiété de personnes exposées au stress volontairement exposées ou non exemple : admission aux soins intensifs, un isolement volontaire (Motomura *et al.*, 2001) et une intervention médicale (Braden *et al.*, 2009).

On note également que lorsqu'on diffuse l'huile essentielle de la Lavande chez un dentiste cela diminue le stress des patients.

La Lavande se caractérise aussi par une activité anxiolytique dont le linalol est le composant responsable de cette activité (Umezu *et al.*, 2006). Il est aussi spasmolytique, anti-inflammatoire, antalgique, anti oxydant, sédatif, réduit le temps d'ouverture des canaux ioniques de la jonction neuromusculaire, inhibe la libération d'acétylcholine, hypothermisant, anticonvulsivant, anesthésique local et hypnotique (Gedney *et al.*, 2004). On a employé la Lavande chez des patients atteints de cancer en phase terminale en bain de pieds et au cours de traitements de réflexologie ce qui a permis de réduire leur fatigue.

La Lavande présente également une activité antibactérienne et antifongique (Larrondo *et al.*, 1995)

III.5.8 Propriétés de l'huile essentielle

L'huile de lavande a des propriétés antibactériennes efficace surtout sur des *Staphylocoques* résistants (Roller *et al.*, 2009),

- antifongique.
- antispasmodique

l'activité anti-infectieuse est due à une synergie entre les hydrocarbures terpéniques et le linalol, 1,8-cinéole (Sonboli *et al.*, 2006).

- anti-convulsivante
- Calmante
- hypnotique, (Elisabetsky *et al.*, 1999)

Effet anxiolytique marqué et sédatif même par inhalation (réduit le stress par diminution du cortisol circulant) (Shiina *et al.*, 2008).

- antalgique et anti-inflammatoire (Denner, 2009) .

- anesthésiante par voie locale (Ghelardini *et al.*, 1999).
- sympatholytique (hypotensive) (Duraffourd et Lapraz , 2002).
- antiallergique (Kim et Cho,1999) .

En usage prolongé, il faut faire attention aux effets gynécomasties chez le jeune garçon.

Comme conseil cette huile essentielle doit être toujours présente avec nous soit à la maison ou dans n'importe quel autre endroit. Elle doit toujours nous accompagner.

III.5.9 Préparations et usages

- **Infusion** : 15 à 30 g de sommités fleuries par litre d'eau, avec infusion 10 mn.
En cas d'indigestion, boire une demi-tasse d'infusion de Lavande 2 fois par jour, elle calme les troubles digestifs.
- **Massage** : masser avec 20 gouttes d'essence de Lavande diluée dans 2 cuillères d'huile d'amande douce. Elle agit contre la migraine.
- **Huile de Lavande** : Pour les piqûres d'insectes : faire macérer 3 jours au soleil une poignée de fleurs dans un litre d'huile d'olive. Passer et remettre des fleurs fraîches jusqu'à ce que l'huile soit très parfumée.

III.5.10 Effets indésirables de la Lavande

Risque de photosensibilisation (richesse en coumarines), ne pas exposer au soleil les parties du corps traitées par l'huile essentielle de lavande.

III.6 La Menthe poivrée (*Mentha piperita* L.)

III.6.1 Classification

Règne	<i>végétal</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Famille	<i>Lamiacées</i>
Classe	<i>Eudicotylidones</i>
Sous classe	<i>Astéridées</i>
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>Mentha piperita</i>

(Quezel et Santa,1962-1963)

Nom botanique : *Mentha piperita* L.

Nom Français : Menthe poivrée

Nom anglais :Mint

III.6.2 Description

La Menthe poivrée ou *Mentha piperita* est une plante vivace à forte odeur poivrée et aromatique (Kothe,2007).

C'est une plante hybride et herbacée appartenant à la famille des Lamiacées (Jourdain,1997).

La famille des Lamiacées contient plusieurs espèces de Menthe, sauvages ou cultivées qui sont généralement utilisées pour des raisons médicinales ou aromatiques (pour la préparation du thé par exemple).

En phytothérapie, La Menthe poivrée est l'espèce la plus utilisée (Vogel,2013).

On appelle la Menthe poivrée une plante "hybride" car elle est obtenue d'un croisement entre deux espèces de Menthe. Comme résultats de ce croisement, il y a plusieurs formes et variétés de Menthe poivrée.

Le nom botanique de la Menthe poivrée est "*Mentha piperita*", elle porte aussi d'autres noms : Menthe sauvage, Menthe anglaise ou menthol

Le terme "*Mentha*" est relation avec la mythologie grecque où Proserpine (déesse, fille de Zeus et de Déméter) transformait Minthe qui était une nymphe de la mythologie par jalousie en fleur à l'odeur poivrée (Delachaux et Niestlé, 2008).

La Menthe poivrée est une plante à croissance rapide de 40 à 60cm de hauteur à tige de section carrée, légèrement velue et violacée.

Ses feuilles sont colorées en vert pâle parfois virant au bleu turquoise, en dessous. Sur le dessus, elles sont de couleur verte foncée (Figure 19). Elles sont opposées, simples, ovales et découpées en dents de scie.



Figure 19: *Mentha piperita* (Photo :Adimi,2014)

Les fleurs (Figure20) sont regroupées en épis au sommet de la plante et sont roses violacées.

Cette plante qui est stérile se caractérise par l'odeur du menthol. Elle s'accroît sous terre(Jourdain ,1997).



Figure 20: Fleurs de la Menthe poivrée

(Kothe,2007).

III.6.3 Histoire et Origine

Principalement consommée sous forme de thé, ses feuilles et ses fleurs sont également utilisées en naturothérapie (Kothe,2007).

La Menthe poivrée est obtenue par hybridation de deux types de Menthe : la Menthe verte (*Mentha spicata*) et la Menthe aquatique (*Mentha aquatica*).A l'heure actuelle, plusieurs variétés qui sont des hybrides sont cultivées dans le monde.

L'ancienne trace de cette espèce de Menthe s'est trouvée en Egypte et datait du 1^o millénaire avant JC. On a trouvé à l'intérieur des pyramides des feuilles de Menthe séchées (Vincent, 2000).

Les Hébreux et les Grecs l'utilisaient ensuite pour son odeur et elle servait dans la production des parfums. Par contre, la Menthe était utilisée comme aromate ou condiment chez les Romains qui ajoutaient ses feuilles aux sauces et aux vins (Bruneton, 2009).

En Europe occidentale, la Menthe poivrée était très connue durant XVIIIe siècle. On l'employait dans le traitement des affections respiratoires et du rhume (Delachaux et Niestlé, 2008).

Dans la pharmacopée européenne, la Menthe poivrée figure pour son huile essentielle et pour ses feuilles.

La Menthe occupe une place importante dans la phytothérapie digestive. Une étude scientifique réalisée en 1990 a déduit son efficacité dans la digestion en soulageant la digestion. Ce qui attire dans la Menthe est son odeur. On l'utilisait dans la production des bonbons, des pastilles, des sirops et des lotions.

La Menthe est appréciée par tout le monde, due à son odeur caractéristique. Elle est restait la plante de choix depuis plusieurs siècles.

III.6.4 Habitat / Culture / Récolte

On rencontre la Menthe poivrée dans les bois, auprès des cours d'eau et au bord des fossés .Elle pousse sur les sols de nature argileuse, calcaire, humides et frais.

La Menthe poivrée caractérise les régions tempérées et subtropicales. Elle se propage par des stolons (Figure 21).

On cultive la Menthe poivrée dans le monde entier mais dans certains pays comme l'Amérique du Sud et les pays tropicaux il y a peu d'espèces.

Elle est présente aussi en Amérique du Nord, en Europe et en Asie (Jourdain,1997).

Elle sert dans l'industrie à extraire l'huile essentielle qui est utilisée dans l'aromathérapie (Bruneton, 2009).



Figure 21: Culture sauvage (dans la nature) de *Mentha pipérta* (Iserin,2001).

Récolte

La récolte se fait en Juin et en Septembre surtout pour extraire l'huile essentielle (Vincent, 2000).

III.6.5 Composition

La Menthe fraîche est riche en fibres et formée essentiellement d'eau .Elle contient une grande quantité de vitamines y compris la vitamine B9, vitamine C avec un taux faible de vitamine B2 et une quantité importante en Fer et en calcium. Par contre, on note une quantité faible de Magnésium, Phosphore et Zinc.

On trouve également :

- **Huile essentielle** (jusqu'à 4% de la matière sèche)
 - 30% à 70% de menthol (alcool terpénique),
 - 8 à 10% de menthone (cétone terpénique),
 - 1 à 2% de menthofuranne,
 - d'autres composés minoritaires tels que menthène, pipéritone, pinène, phellandrène, terpinène, limonène et candinène.
- **Acide férulique, acide caféique, acide chlorogénique et acide fumarique**
- **Enzymes** : oxydase et peroxydase
- **Flavonoïdes** (jusqu'à 18% de la matière sèche) : ériocitrine, ériodictyol, lutéoline, diosmétine, menthoside : Activité anti-oxydante.
- **Tanins** (polyphénols) : Activité antibactérienne.
- **Acides-phénols** : Activité anti-oxydante
- **Triterpènes.**

III.6.6 Parties utilisées en phytothérapie

L'huile essentielle de la Menthe contenue dans ses feuilles est utilisée pour des raisons thérapeutiques. La floraison de la Menthe poivrée s'effectue en été, de juin à septembre.

Pour obtenir de l'huile essentielle, on fait la cueillette des parties aériennes (Figure 22) juste avant la floraison ensuite elles sont distillées (Vincent, 2000)

Pour produire les autres produits, on utilise les feuilles récoltées pendant la floraison qui sont ensuite séchées à l'abri de la lumière dans des endroits frais (Vincent, 2000).



Figure 22: Parties aériennes de la Menthe poivrée (Photo :Adimi ,2014)

III.6.7 Propriétés de la Menthe poivrée

Propriétés en usage interne

La Menthe poivrée est utilisée en usage interne comme calmant contre les colites, les ballonnements et les crampes d'estomac.

Elle possède aussi de nombreuses propriétés médicinales :

- Antispasmodique, cholérétique (provoque une hypersécrétion de la bile), eupeptique (= qui facilite la digestion), cholagogue (= qui facilite l'évacuation de la bile) et carminative (= qui provoque l'expulsion des gaz intestinaux).
- Antalgique
- Antiseptique intestinal et des voies respiratoires.
- Diurétique
- Décongestionnante prostatique
- Hypertensive et vasoconstrictrice (Jourdain ,1997).

Donc elle :

- Réduit certains symptômes, comme la colite spasmodique, les nausées et les vomissements

- Soulage l'intestin irritable, les troubles de la digestion et les spasmes gastro-intestinaux
- Traite les infections des voies respiratoires et l'hypotension et réduit le rhume, les céphalées et les vertiges
- Réduit la dyspepsie (douleurs abdominales), les flatulences et les ballonnements.

Donc on conclut que la Menthe est utilisée pour le traitement du syndrome du rhume et pour soulager la digestion. Il est intéressant donc de prendre une tasse de Menthe pour soulager son estomac après un repas lourd.

Propriétés en usage externe

La Menthe poivrée est traditionnellement utilisée en dermatologie pour traiter certaines irritations cutanées comme l'eczéma, l'urticaire les crevasses, et es gerçures.

On utilise la Menthe aussi pour soulager les douleurs musculaires et les douleurs névralgiques ou rhumatismales. Elle sert aussi pour éloigner les moustiques et les parasites (Jourdain ,1997).

Elle peut servir dans L'hygiène buccale pour traiter les douleurs de la bouche et de la gorge (utilisée en gargarismes).

III.6.8 Effets indésirables

On a déclaré des personnes qui présentent des allergies cutanées à la Menthe. Les personnes qui présentent un reflux gastro-œsophagien, l'huile essentielle de Menthe peut aussi causer des brûlures d'estomac (Girre ,1992).

III.6.9 Mise en garde dangers

La Menthe poivrée ne présente pas des effets secondaires avec une posologie correcte .Cependant certaines précautions doivent être respectées.

Le menthol à fortes doses par action sur le bulbe rachidien, peut être responsable d'hypertension et de mort (Inoue ,2001).

L'huile essentielle (Figure 23) qui provient des feuilles (véritable huile essentielle) à fortes doses peut causer des troubles gastro-intestinaux et des céphalées (Mimica-Dukic et Bozin ,2003).

L'huile essentielle qui provient des fleurs, présente des effets hépatotoxiques d  e à sa richesse en menthone et en menthofuranne (Grigoleit et Grigoleit , 2005).

III.6.10 Contre-indications de l'huile essentielle de menthe poivrée

- Ne pas appliquer près des yeux (irritations) et des voies respiratoires (mort par asphyxie).
- Ne pas administrer chez La femme enceinte, la femme allaitante et les bébés de moins de 30 mois.
- Déconseillée chez les enfants de moins de 6 ans.
- Contre-indiquée en cas de dommages hépatiques graves, en cas d'obstruction des voies biliaires et en cas d'inflammation de la vésicule biliaire (Jourdain,1997)



Figure 23: Huile essentielle de la Menthe poivrée « *Mentha piperita* »

(Iserin,2001)

III.6.11 Interactions médicamenteuses

La Menthe forme des qu  lates avec le fer ce qui dimunie l'absorption de cet élément contenu dans certains médicaments (exp fumafer ou tardyferon) ou dans des compléments alimentaires surtout pendant la grossesse .Cela peut conduire à une anémie ferriprive.

CHAPITRE IV

MATERIEL ET METHODES

IV.1. Activité antibactérienne

Ce travail concerne l'étude de l'activité antibactérienne des extraits des plantes sur la croissance d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus*.

IV.1.1. Reception des souches

Nous avons utilisé les souches suivantes :

- *Escherichia coli* (Figure24).
- *Staphylococcus aureus* (Figure25).

Ces souches nous ont été fournies par le laboratoire de bactériologie de l'hôpital de Sétif.



Figure 24 : *Escherichia coli*(Photo :Adimi,2014)



Figure 25 : *Staphylococcus aureus*(Photo :Adimi,2014)

Nous avons préparé des solutions mères des deux souches ensuite des dilutions ont été réalisées. Les conditions d'asepsie ont été respectées.

IV.1.2. Préparation des extraits frais de plantes

IV.1.2.1. Matériel utilisé

- La Mélisse fraîche ramenée de la région de Béni Aziz
- Les plantes : Mélisse sèche, Lavande sèche, Origan sèche et Menthe fraîche. (achetées de Sétif)
- L'eau distillée stérile
- Ethanol

IV.1.2.2. Mode opératoire

100g de chacune des quatre plantes (Mélisse, Lavande, Origan et Menthe) ont été rincé dans de l'alcool éthylique pour éliminer la flore de surface puis lavées avec de l'eau distillée.

Dans un mixeur, on commence le broyage séparément de chaque plante et on ajoute au fur et à mesure de l'eau distillée stérile jusqu'à épuisement de 500 ml pour chaque plante (In Adimi, 1990)

Sauf pour la Menthe la moitié de la quantité d'eau seulement a été rajoutée car cette plante se trouvait à l'état frais.

Nous avons fait passer ces mélanges à travers un passoir et les extraits sont ainsi obtenus (Figure26) auxquels une stérilisation de 120° C pendant 20 mn a été appliqué.



Figure 26: A, B et C : Préparation des extraits de plantes (Photo:Adimi,2014)

IV.1.2.3. La décoction

La décoction est une méthode d'extraction des principes actifs et/ou des arômes d'une préparation généralement végétale par dissolution dans l'eau bouillante.

IV.1.2.3.a Matériel nécessaire pour une décoction :

- Les plantes (Mélisse, Menthe, Origan, Lavande)
- Eau distillée stérile

IV.1.2.3.b. Préparation de la décoction

Les plantes sélectionnées sont lavées avec de l'eau distillée. Deux cuillères à café de chaque plantes (10 grammes) ont été mises dans des flacons contenant 100 ml d'eau distillée stériles.

On porte le mélange (eau plus plantes) à l'ébullition (Figure27). Dès l'apparition des premières bulles, on compte encore dix minutes et en laissant le mélange chauffer à feu vif.



Figure 27: Préparation des solutions décoctées (Photo :Adimi,2014)

IV.1.2.4. L'infusion

L'infusion est une préparation de plantes qui consiste à rajouter de l'eau chaude aux plantes pendant un temps très court de quelques minutes pour extraire les principes actifs ou aromatiques.

IV.1.2.4.a. Matériel nécessaire pour une infusion

- Doses des plantes (Mélisse, Menthe, Origan, Lavande)
- Eau distillée stérile

IV.1.2.4.b. Préparation de l'infusion

Après avoir pasteurisé une quantité d'eau dans des flacons (plus de 100 ml) dans l'autoclave à 80°, les plantes sélectionnées ont été lavées avec de l'eau distillée stérile et rajoutées (une cuillère pour chaque flacon=5 gramme) (Figure28).



Figure 28 : Les flacons des solutions infusées (Photo :Adimi,2014)

IV.1.3. Extraction des huiles essentielles

IV.1.3.1. Matériel

Pour faire l'extraction des huiles essentielles il faut (Figure 29) :

Les plantes

- ✓ Mélisse fraîche et sèche
- ✓ Lavande sèche
- ✓ Menthe fraîche
- ✓ Origan sec

Le montage d'extraction

IV.1.3.2. Mode opératoire

IV.1.3.2.a. Extraction de l'huile essentielle de la Lavande

15 g environ des fleurs de Lavande sèche ont été utilisées avec 300 ml d'eau distillée dans un ballon qui est placé sur un appareil électrique (un chauffe-ballon). Un thermomètre est placé en haut pour surveiller la température des vapeurs qui s'élèvent du ballon, qui contiennent des molécules d'eau et aussi toutes sortes de molécules dégagées des fleurs de Lavande. Ces vapeurs partent ensuite dans le tuyau qui traversent un réfrigérant à eau (de l'eau froide circule autour du tuyau pour le rafraichir) (Figure29).

Les vapeurs se refroidissent directement et repassent à l'état liquide. On obtient un mélange liquide complexe. Ce distillat coule donc peu à peu dans l'erenmeyer et qu'on va le récupérer.

A 90C° les premières gouttelettes d'hydro distillat commencent à apparaître et à 94C° la température est devenue stable.

On obtient assez de distillat pendant une heure et on arrête le chauffe-ballon. Ce distillat est une solution aqueuse qui contient l'huile essentielle de Lavande mélangée avec d'autres espèces chimiques.

On fait traverser l'huile essentielle de Lavande qui n'est pas très soluble dans l'eau dans une ampoule à décanter. On a additionné 10g de Na Cl et 10ml d'éther di éthylique et on a obtenu l'huile essentielle qui s'est séparée de la solution aqueuse, et a formé une deuxième phase (Figure30). (Un mélange hétérogène, avec une toute petite phase (3 millimètres d'épaisseur) au-dessus et une grosse phase (hydrolat).

On récupère la phase aqueuse et on emploie un rotavapor pour éliminer le restant de l'huile essentielle du solvant.

L'hydrolat et l'huile essentielle ont été gardés à l'abri de lumière et de la chaleur, après avoir été couverts avec du papier aluminium (Philippe, 2013).

IV.1.3.2.b. Extraction de l'huile essentielle de la Mélisse fraîche

Le même protocole que pour la Lavande a été utilisé juste on a utilisé 36 grammes de Mélisse pour 300ml d'eau stérile (Philippe, 2013).



Figure 29 : Montage pour l'extraction des huiles essentielles (Photo :Adimi ,2014)

IV.1.3.2.c. Extraction de l'huile essentielle de la Menthe

Le même protocole que pour la Lavande a été utilisé juste 100grammes de feuilles de Menthe fraîche ont été additionnées à 300ml d'eau distillée (Philippe, 2013).

IV.1.3.2.d. Extraction de l'huile essentielle de l'Origan

Le même protocole que pour la Lavande a été utilisé juste sauf 48 grammes de feuilles sèches d'Origan ont été utilisées avec 300 ml d'eau distillée (Philippe, 2013).

IV.1.3.2.e. Extraction de l'huile essentielle la Mélisse sèche

Le même protocole que pour la Mélisse fraîche (Philippe, 2013).



Figure 30: Décantation des Huiles essentielles (Photo :Adimi,2014)

IV.1.4. Préparation des extraits de la macération alcool

La macération est une technique qui a pour but d'extraire des composés solubles d'un solide en le laissant séjourner dans un liquide ou bien pour tirer le parfum ou la saveur dans un but de le conserver ou le décomposer.

On peut faire la macération dans une solution alcoolique (macération alcoolique), dans de l'huile, dans de l'eau et dans une saumure.

IV.1.4.1. Matériel nécessaire pour une macération

- Les plantes (Mélisse, Menthe, Origan, Lavande)

- Ethanol
- Eau distillée stérile

IV.1.4.2. Préparation de la macération hydro-éthanoïque

- 50 g de la Lavande
- 50 g de l'Origan
- 25 g de la Mélisse
- 12.5 g de la Menthe
- 200 ml eau / 200 ml éthanol pour la Lavande
- 200 ml eau / 200 ml éthanol pour l'Origan
- 100 ml eau / 100 ml éthanol pour la Mélisse
- 50 ml eau / 50 ml éthanol pour la Menthe

On a introduit les différentes plantes selon les doses indiquées à faire macérer dans le mélange (eau / éthanol), on laisse pendant 48 heures. On réalise ensuite une filtration sur papier filtre. Les filtrats obtenus sont alors évaporés à l'aide d'un rotavapor.

Les solutions obtenues sont alors séchées dans l'étuve à 50°C. Une conservation à 4 ° est faite (Biyiti *et al.*, 2004).

IV.1.5. Technique de mesure de la Densité Optique (DO) (La méthode de la spectrophotométrie)

La spectrophotométrie mesure l'absorbance ou la densité optique d'une substance donnée, généralement en solution. C'est une méthode quantitative et analytique. Au fur et à mesure l'échantillon est concentré, il absorbe la lumière dans les limites de proportionnalité énoncées par la loi de Béer-Lambert.

On mesure la densité optique des échantillons à l'aide d'un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de la substance à analyser.

IV.1.5.1. Matériel nécessaire pour une spectrophotométrie

- Spectrophotomètre : thermosectronic 634/04 / SN
- Les doses des plantes (Mélisse, Menthe, Origan, Lavande)

- Les souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*)

IV.1.5.2. Mode opératoire

IV.1.5.2.a. Préparation des extraits de plantes

On fait un séchage des plantes : Mélisse, Menthe, Lavande et Origan à 80°C puis un broyage est réalisé.

Une cuillère à soupe pleine (10grammes) de chaque plante a été rajoutée à 100ml d'eau distillée stérile. On laisse un temps de contact d'une demi-heure. On obtient ainsi quatre flacons différents des extraits de plantes .Un cinquième flacon est préparé avec uniquement du bouillon nutritif stérilisé (100ml) et un flacon témoin contenant de l'eau (100 ml).

Ces flacons ont été préparés en double du faite qu'ils seront utilisés pour les deux souches de bactéries.

IV.1.5.2.b. Ensemencement

On ensemence séparément les flacons déjà préparés avec 1 ml de la suspension d'*Escherichia coli* de 24 heures, à laquelle on a réalisé une dilution 1/10 dans de l'eau physiologique stérile.

Le même protocole a été suivi pour *Staphylococcus aureus*

La densité optique à 600nm a été prise pour chaque flacon selon un laps de temps bien défini(Figure31).



Figure 31: Lecture de la densité optique des échantillons (Photo :Adimi,2014)

IV.1.6. Action des différents extraits frais de plantes sur *Escherichia coli*

IV.1.6.1. Technique des puits :

La technique de bio –essai creuse des puits qui vont recevoir des quantités de extraits à tester à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé (Figure32).

IV.1.6.1.a. Matériel

- Suspension de germes
- Jus de plantes
- Boîtes de gélose Muller Hinton

IV.1.6.1.b. Mode opératoire

On réalise une dilution 1/10 dans de l'eau physiologique stérile d'une suspension d'*Escherichia coli* de 24 heures avec laquelle on ensemence cinq boîtes de gélose nutritive. Quatre vont recevoir 0,1 ml de jus à tester au niveau de leurs puits creusés avec un perçoir.

La cinquième boîte servira comme témoin. Une incubation à 37 ° C pendant 24 heures est appliquée pour toutes les boîtes (In Adimi, 1990).

IV.1.6.1.c. La lecture :

Après l'incubation, on mesure le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'une règle appliquée sur la boîte de Pétri si elle existe.



Figure 32: Boîte ensemencée avec *Escherichia coli* (Méthode des puits)
(Photo :Adimi L,2014)

Le même protocole est suivi pour la bactérie *Staphylococcus aureus*.

IV.1.6.2. Technique de l'aromatogramme pour *Escherichia coli*

La technique de l'aromatogramme vise à mettre à la surface d'un milieu gélosé des disques de papier filtre imprégnés d'extraits de plantes à tester préalablement ensemencé (Figure 33).

IV.1.6.2.a. Matériel

- Boites de gélose nutritive
- Souche d'*Escherichia coli*
- Extraits de plantes
- Disques de papier filtre stériles de 4mm de diamètre

IV.1.6.2.b. Mode opératoire

On ensemence cinq boites de gélose nutritive, à partir d'une suspension d'*Escherichia coli* de 24 heures diluée au 1/10 dans de l'eau physiologique.

IV.1.6.2.b.1. Préparation des disques

On imbibe des disques en papier avec 0, 1 ml d'extraits de plantes à tester. On les laisse sécher ensuite quelques minutes dans des boites fermées.

IV.1.6.2.b.2. Application des disques et incubation

Sur les boites de gélose nutritive déjà ensemencées, on applique les disques secs.

On laisse ces boites se reposer pour laisser diffuser les différents extraits de plantes pendant 30 mn à la température du laboratoire. Ensuite une incubation à 37°C pendant 24 heures est réalisée (Cohen, 2013).



Figure 33 : Méthode des disques (Photo :Adimi,2014)

Le même travail est réalisé pour la bactérie *Staphylococcus aureus*.

IV.1.6.2.b.3. La lecture

Après l'incubation, on mesure le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'une règle appliquée sur la boîte de Pétri si elle existe.

Remarque

Les mêmes techniques (puit et aromatoigramme) ont été aussi utilisées pour tester les différents produits de décoction et d'infusion et pour tester aussi les différentes huiles essentielles des différentes plantes et les produits de la macération alcoolique sur *Escherichia coli* et sur *Staphylococcus aureus* selon les procédures déjà détaillées.

IV.2. Activité antifongique

IV.2.1.Reception des souches fongiques

Les souches *Candida albicans* (Figure35) et *Aspergillus niger* (Figure36) ont été fournies par le laboratoire de mycologie de l'hôpital de Sétif.

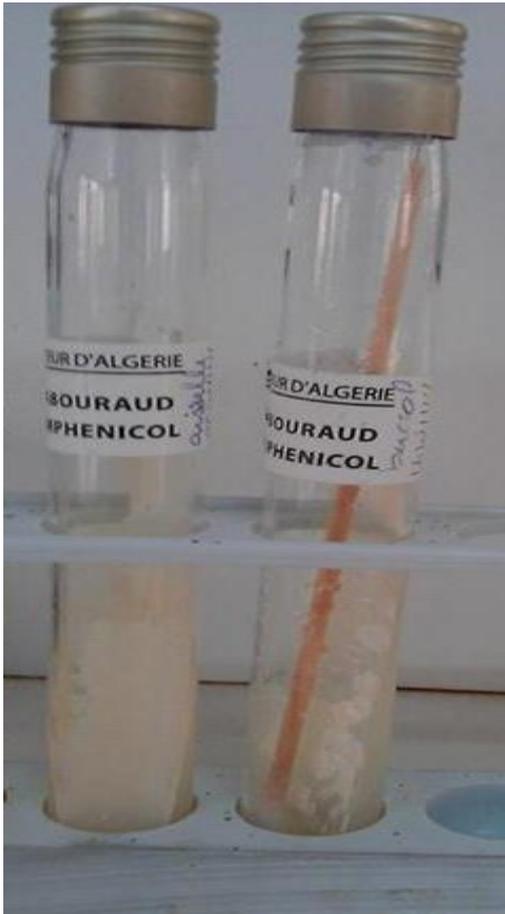


Figure 34: *Candida albicans*(Photo :Adimi,2014)



Figure 35 : *Aspergillus niger*(Photo :Adimi, 2014)

IV.2.2. Préparation des extraits des plantes

IV.2.2.1. Extraction des huiles essentielles

L'entraînement à la vapeur d'eau et hydro distillation sont des procédés d'extraction ou de séparation de certaines substances organiques (Figure36).

IV.2.2.1.a. Matériel

- Les plantes

Menthe sèche achetée de chez l'herboristerie à SETIF

Mélicse sèche de la région DEHAMCHA – AIN EL KEBIRA

Lavande sèche ramenée du jardin du CHU-SETIF

Origan sèche achetée de chez de l'herboristerie à SETIF

- Montage d'extraction

IV.2.2.1.b. Mode opératoire

IV.2.2.1.b.1 Extraction de l'huile essentielle de la Lavande

15 g environ des fleurs de Lavande sèche ont été utilisées avec 300 ml d'eau distillée, dans un ballon qui est placé sur un appareil électrique (un chauffe-ballon). Un thermomètre est placé en haut pour surveiller la température des vapeurs qui s'élèvent du ballon, qui contiennent des molécules d'eau et aussi toutes sortes de molécules dégagées des fleurs de Lavande. Ces vapeurs partent ensuite dans le tuyau, qui traversent un réfrigérant à eau (de l'eau froide circule autour du tuyau pour le rafraichir).

Les vapeurs se refroidissent directement et repassent à l'état liquide. On obtient un mélange liquide complexe. Ce distillat coule donc peu à peu dans l'erenmeyer et qu'on va le récupérer.

A 90C° les premières gouttelettes d'hydro distillat commencent à apparaitre et à 94C° la température est devenue stable.

On obtient assez de distillat pendant une heure et on arrête le chauffe-ballon. Ce distillat est une solution aqueuse qui contient l'huile essentielle de Lavande mélangée avec d'autres espèces chimiques.

On fait traverser l'huile essentielle de Lavande qui n'est pas très soluble dans l'eau dans une ampoule à décanter (Figure39). On a additionné 10g de Na Cl et 10ml d'éther diéthylique et on a obtenu l'huile essentielle qui s'est séparée de la solution aqueuse, et a formé une deuxième phase. (Un mélange hétérogène, avec une toute petite phase (3 millimètres d'épaisseur) au-dessus et une grosse phase (hydrolat).

On récupère la phase aqueuse et on emploie un rotavapor pour éliminer le restant de l'huile essentielle du solvant

L'hydrolat et l'huile essentielle ont été gardés à l'abri de lumière et de la chaleur, après avoir été couverts avec du papier aluminium (Philippe, 2013).

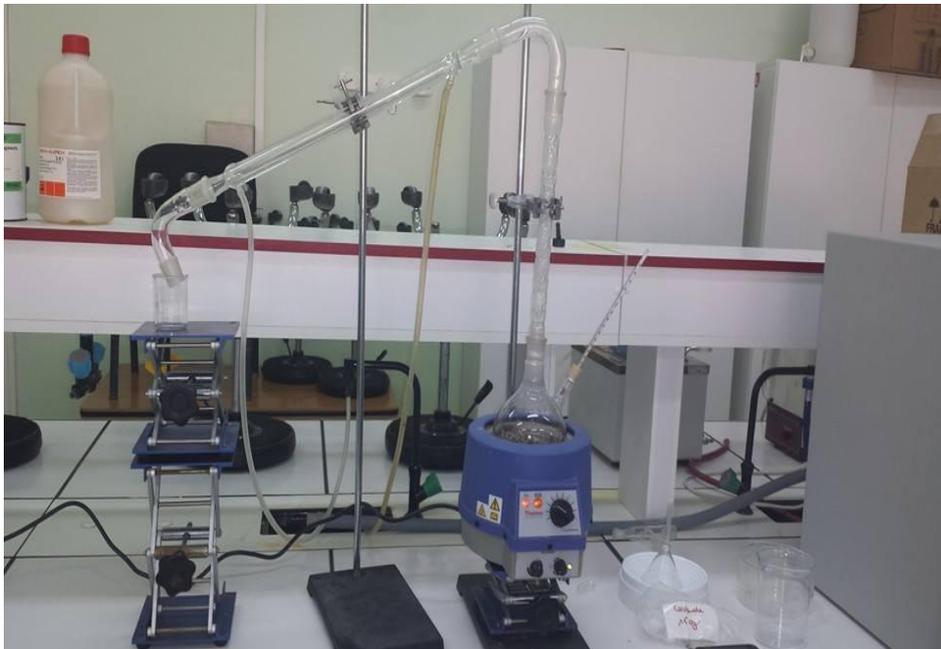


Figure36: Montage de l'hydro distillation utilisé (Photo :Adimi,2014)

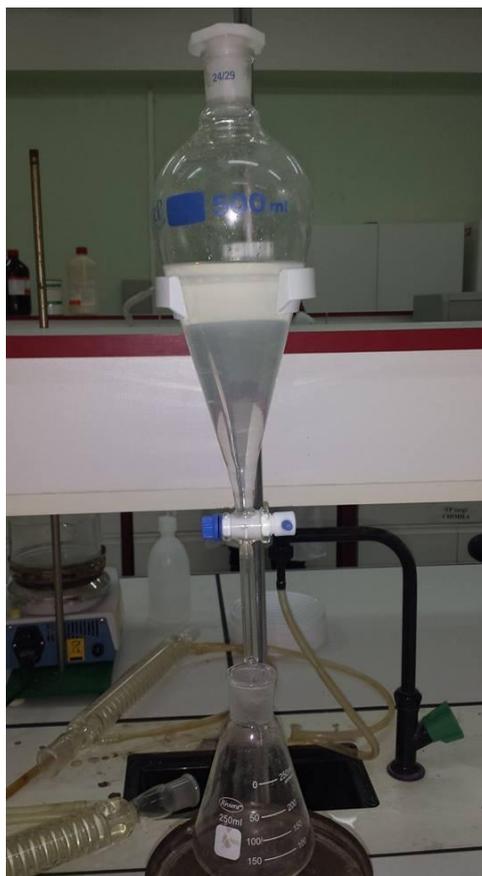


Figure37: Ampoule à décanter employée (Photo :Adimi,2014)

IV.2.2.1.b.2. Extraction de l'huile essentielle de la Mélisse

Le même protocole pour la Lavande a été utilisé sauf il faut peser 36 grammes de Mélisse pour 300ml d'eau stérile (Philippe, 2013).

IV.2.2.1.b.3. Extraction de l'huile essentielle de la Menthe

On pèse 50 grammes de feuilles de Menthe sèche et additionner 300ml d'eau distillée. On procède de la même manière pour autres les plantes (Philippe, 2013).

IV.2.2.1.b.4. Extraction de l'huile essentielle de l'Origan

On pèse 48 grammes de feuilles sèches d'Origan et les introduire dans un ballon avec 300 ml d'eau distillée selon toujours le même protocole déjà utilisé (Philippe, 2013).

IV.2.3. Technique des puits avec les huiles essentielles

Sur *Candida albicans*

IV.2.3.1. Matériel

Souche de *Candida albicans*

Huile essentielle des plantes

Milieu de Sabouraud

IV.2.3.2. Mode opératoire

On Réactive notre souche de *Candida albicans* en mettant une colonie dans un tube du bouillon nutritif (Sabouraud). On mélange ensuite 1 ml de la souche réactivée avec 9 ml d'eau distillée stérile.

On ensemence ensuite des boîtes de Pétri avec 100µL de cet échantillon. S'assurer que la surface de chaque boîte de Pétri est bien séchée.

On Creuse des puits sur chaque boîte (4 mm) qui seront remplis par la suite par les huiles essentielles de chaque plante.

L'incubation est à 37 C° durant 24 heures puis 48 heures.

On mesure les diamètres des zones d'inhibition. (In Adimi, 1990).

IV.2.4. Technique de l'aromatogramme (méthode des disques) avec les huiles essentielles Sur *Candida albicans*

La technique consiste à mettre à la surface d'un milieu de Sabouraud préalablement ensemencé des disques de papier filtres imprégnés de huile essentielle à tester de chaque plante (Figure39).

IV.2.4.1 Matériel

Huile essentielle des plantes

Souche de *Candidas albicans*

IV.2.4.2 Mode opératoire

IV.2.4.2.a. Ensemencement

On réalise une dilution 1/10 dans de l'eau physiologique stérile d'une suspension du *Candida albicans*, avec laquelle on ensemence cinq boîtes de Sabouraud (Figure38).



Figure 38: L'ensemencement (Photo :Adimi,2014).

IV.2.4.2.b. Préparation des disques :

A l'aide d'une pince stérile, on dépose des disques stériles dans des boîtes de Pétri également stériles et on les imbibe avec 0,1 ml de chaque huile essentielle

IV.2.4.2.c. Application des disques et incubation :

On applique les disques secs à l'aide de la pince sur les boîtes Sabouraud déjà ensemencées. On laisse ensuite ces boîtes pendant 30 mn à la température du laboratoire pour laisser diffuser les huiles essentielles. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures puis 48 heures. On mesure les diamètres des zones d'inhibition après 24 - 48 h si elle existe (Cohen, 2013).

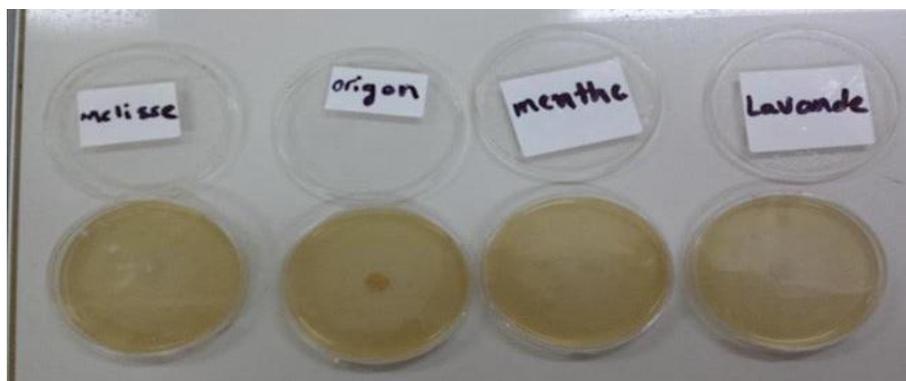


Figure 39: Technique de L'aromatogramme (Photo :Adimi,2014).

On procède de la même façon avec *Aspergillus niger*.

IV.2.5. Méthode de la macération hydro-éthanoïque

La méthode la plus utilisée dans l'extraction est celle qui emploie les solvants organiques volatiles. Les plus utilisés sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone.

IV.2.5.1. Mode opératoire

On fait un broyage des plantes sèches selon les pesées suivantes :

- 50 g de la Lavande.
- 50 g de l'Origan.
- 12.5 g de la Menthe.
- 25 g de la Mélisse
- On mesure les volumes de l'eau et de l'éthanol suivants :
 - 200 ml d'eau / 200 ml d'éthanol pour la Lavande.
 - 200 ml d'eau / 200 ml d'éthanol pour l'Origan.
 - 50 ml d'eau / 50 ml d'éthanol pour la Menthe.
 - 100 ml d'eau / 100 ml d'éthanol pour la Mélisse.

On mélange chaque plante broyée avec son volume correspondant d'eau-éthanol puis les laisser macérer 48 heures.

Ensuite, on filtre le mélange sur papier filtre.

Les filtrats obtenus sont évaporés à l'aide d'un rotavapor.

On sèche ensuite à l'étuve à 50°C.

En fin on conserve les solutions résultantes à 4°C (Biyiti *et al.*, 2004)

(Figure 40).



A



B



C



D

Figure 40 : A ,B,C et D :Etapes du procédé de la macération hydro-éthanoïque(Photo :Adimi,2014).

IV.2.6. Technique des puits avec les macérât sur *Candida albicans*

IV.2.6.1. Mode opératoire

On fait une réactivation de la souche de *Candida* (Figure 41).

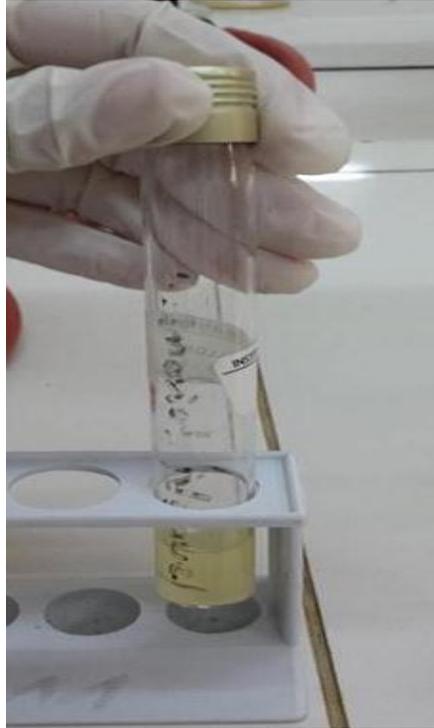


Figure41: Souche de *Candida albicans* réactivée dans le bouillon nutritif
(Photo :Adimi,2014).

On mélange 1 ml de la souche réactivée avec 9 ml d'eau distillée stérile. Avec 100 μ L de cet échantillon, on ensemence des boîtes gélosées.

S'assurer que la surface de chaque boîte de pétri est bien séchée. On creuse des puits dans chaque boîte (4mm) qui vont recevoir les macérât de chaque plante.

On laisse ces boîtes pendant 1 heure puis une incubation est réalisée à 37 C° pendant 24 heures puis 48 heures.

On mesure des diamètres des zones d'inhibition après 24 - 48 h.

Le même travail est effectué pour *Aspergillus niger*.

IV.2.7. Technique de l'aromatogramme (méthode des disques) avec les macérâts sur *Aspergillus niger*

La technique consiste à déposer à la surface d'un milieu de Sabouraud plus chloramphénicol préalablement ensemencé des disques de papier filtre imprégnés d'huile essentielle à tester de chaque plante.

IV.2.7.1. Matériel

- Souche d'*Aspergillus niger* diluée dans un 9 ml d'eau distillée stérile
- Macérâts des plantes
- Boites de Sabouraud + chloramphénicol

IV.2.7.2. Mode opératoire

On ensemence cinq boites de Sabouraud + chloramphénicol avec une suspension d'*Aspergillus niger* diluée.

IV.2.7.2.1. Préparation des disques

Déposer des disques stériles dans des boites de Pétri stériles, on imbibe ces disques avec les différents macérâts (0,1 ml).

On laisse ces disques sécher dans des boites fermées.

IV.2.7.2.2. Application des disques et incubation :

On applique les disques secs à sur les boites de pétri déjà ensemencées. On laisse ces boites pendant 30 mn à la température du laboratoire.

Incubation à 37°C pendant 24 heures.

Le même protocole a été suivi pour *Candida albicans*

IV.2.8. Technique de mesure la Densité Optique (DO) (La méthode de la spectrophotométrie)

La spectrophotométrie mesure l'absorbance ou la densité optique d'une substance donnée, généralement en solution. C'est une méthode quantitative et analytique. Au fur et à mesure l'échantillon est concentré, il absorbe la lumière dans les limites de proportionnalité énoncées par la loi de B er-Lambert.

On mesure la densité optique des échantillons à l'aide d'un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de la substance à analyser.

IV.2.8.1. Matériel nécessaire pour une spectrophotométrie

- Spectrophotomètre : thermostronic 634/04 / SN
- Les doses des plantes (Mélisse, Menthe, Origan, Lavande)
- Les souches fongiques (*Candida albicans* et *Aspergillus niger*)

IV.2.8.2. Mode opératoire

IV.2.8.2.a. Préparation des extraits de plantes

On fait un séchage des plantes : Mélisse, Menthe, Lavande et Origan   80 C puis un broyage est réalisé.

Une cuillère pleine de chaque plante (5grammes) a été rajoutée à 100ml d'eau distillée stérile. On laisse un temps de contact d'une demi-heure. On obtient ainsi quatre flacons différents d'extraits de plantes .Un cinquième flacon est préparé avec uniquement du bouillon nutritif stérilisé (100ml) et un flacon témoin contenant de l'eau (100 ml).

Ces flacons ont été préparés en double du faite qu'ils seront utilisés pour les deux souches fongiques (Figure 42).

IV.2.8.2.b. Ensemencement

On ensemence séparément les flacons déjà préparés avec 1 ml de la suspension de *Candida albicans* 24 heures, à laquelle on a réalisé une dilution 1/10 dans de l'eau physiologique stérile.

Le même protocole a été suivi pour *Aspergillus niger*



Figure 42: Préparation des filtrats des plantes (Photo :Adimi,2014).

IV.1.5.2.c. La lecture

On a obtenu quatre flacons contenant les différents extraits de plantes et ensemencés avec chaque germe à part, deux flacons de bouillons nutritifs, l'un est ensemencé avec *Candida albicans* et l'autre avec *Aspergillus niger* et deux autres contenant de l'eau qui vont servir de témoins.

La densité optique à 570 nm a été prise pour chaque flacon selon un laps de temps bien défini(Figure43).



Figure 43: Lecture des densités optiques pour les souches fongiques

(Photo :Adimi ,2014).

IV.3. Activité antioxydante

IV.3.1. Matériel

- *Lavandula angustifolia* du CHU de sétif
- *L'Origanum vulgare et Mentha piperita* ont été achetés de sétif
- *Mélissa officinallis* a été récoltée de la région de Beni Aziz-sétif.
- Solvants(Acétone, Ethanol).
- Hydroxyde d'ammonium (NH₄OH).
- Acide sulfurique.
- Agar-agar.
- Acide linoléique.
- Quercétine.
- β- carotène
- Chlorure ferrique (FeCl₃).

On a fait sécher à une température ambiante et à l'ombre les parties aériennes des plantes fraîches puis on les a stockées à l'abri de la lumière.

IV.3.3. Mode opératoire

IV.3.3.1. L'extraction par macération

L'extraction est une étape importante dans l'isolement des composés bioactifs des plantes. Au cours de l'extraction, les solvants diffusent dans le matériel végétal solide et solubilisent les composés qui ont une polarité similaire (Tiwari *et al.*, 2011 ; Mahmoudi *et al.*, 2013).

La séparation effective des composés bioactifs à partir d'une matrice végétale complexe est une procédure difficile (Khaldi *et al.*, 2012; Tiwari *et al.*, 2011).

On fait un broyage du matériel végétal (20 g) de chaque espèce ensuite on fait une extraction par macération dans l'éthanol pendant 48 heures avec renouvellement de solvant après 24 heures et agitation de temps en temps.

Une filtration sur papier filtre a été effectuée. Une évaporation à sec au moyen d'un évaporateur rotatif a été appliquée. Les filtrats sont évaporés le résidu sec est repris dans l'éthanol et gardé à 4°C (Stankovic, 2011).

IV.3.3.2. Screening phytochimique

IV.3.3.2.a. Les poly phénols

2 ml de chaque extrait des plantes sont mis dans un tube à essai puis on ajoute une goutte d'une solution alcoolique de chlorure ferrique 2%. Le test est dit positif par l'apparition d'une coloration bleue noirâtre ou verte plus ou moins foncée.

IV.3.3.2.b. Flavonoïdes

On traite 2 ml de chaque extrait avec 2 ml d'acide sulfurique et 2 ml de NH₄OH. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si la coloration s'accroît en présence de l'acide et vire au bleu violacé en milieu basique (Khaldi et al., 2012).

IV.3.3.3. Test De blanchissement du β - carotène

Ce test permet de mettre en évidence le pouvoir antioxydant des extraits de plantes. On utilise 1.125g d'agar puis on ajoute 150 ml d'eau distillée. Un chauffage est réalisé, la solution est refroidie à 50°C avant d'ajouter une émulsion de β -carotène / acide linoléique préalablement préparée par solubilisation de 7.5 mg de β -carotène dans 7.5 ml d'acétone et de 7.5 μ l d'acide linoléique dans 1,5 ml d'éthanol.

On agite à froid le produit obtenu puis on le distribue dans des boites de Pétri. On creuse des puits dans la gélose et différents volumes des extraits ou des témoins sont déposés.

On fait la lecture après 4 heures d'incubation à 45°C. On utilise la quercétine comme témoin positif et l'éthanol comme témoin négatif (In Belhattab, 2007).

CHAPITRE V

Résultats et Discussions

V.1. Activité antibactérienne

V.1.1. Aspect morphologique des bactéries

Le premier microorganisme observé au microscope présente une forme bâtonnet, une forme qui correspond bien à celle de la bactérie *Escherichia coli*.

La coloration Gram a permis déduire que la bactérie est Gram négative et colorée en rose.

La deuxième bactérie se présente sous forme de coques isolées, groupés ou en diplocoques. La coloration de Gram a montré que la bactérie est d'une couleur bleu violet donc Gram positive.

Tableau 1 : Résultats des observations macroscopiques concernant les deux bactéries.

Microorganismes	Morphologie des colonies
<i>Escherichia coli</i>	Colonies blanches opaques, de forme circulaire, de taille irrégulière, l'élévation est bossue surface brillante, et la consistance est gluante. (\varnothing =3-4 mm)(figure 45)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Petites colonies opaques rondes, les colonies sont lisses, rondes, bombées, brillantes. Elles se pigmentent habituellement en jaune doré (<i>aureus</i>), parfois en jaune citron, et parfois sont non pigmentées (\varnothing =2 mm)(Figure 44)



Figure 44: Colonies de *Staphylococcus aureus* (Photo :Adimi ,2014).

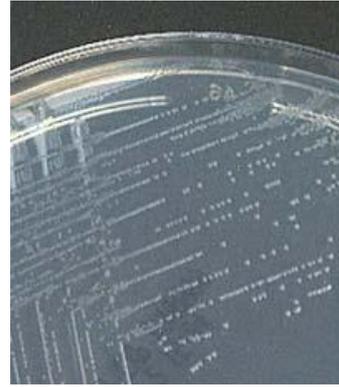


Figure 45: Colonies d'*Escherichia coli*(Photo :Adimi ,2014).

V.1.2. Les plantes

V.1.2.1 Préparation des extraits frais de plantes

Quatre jus de plantes ont été obtenus et conservés dans le réfrigérateur.

V.1.2.1.a. Action des différents extraits frais sur *Escherichia coli*

Les jus frais ne présentent aucun effet sur la bactérie *Escherichia coli* car on n'a pas observé de zone d'inhibition sauf pour l'Origan (méthode des disques), on a calculé une zone d'inhibition de 1cm de diamètre (Figure46).



Figure46: Zone d'inhibition pour *Escherichia coli* avec l'Origan (extrait frais)
(Photo :Adimi ,2014).

V.1.2.1.b. Action des différents extraits frais sur *Staphylococcus aureus*

Les jus frais ne présentent aucun effet sur la bactérie de *Staphylococcus aureus* car aucune zone d'inhibition n'a été observée.

V.1.2.2. Préparation des extraits à l'aide de la décoction

Avec les différentes plantes quatre solutions décoctées ont été préparées et conservées dans le réfrigérateur pour une courte durée (1h environ)

V.1.2.2.a. Action des différents extraits décoctés sur *Escherichia coli*

Uniquement avec la Menthe une zone d'inhibition de 2 cm a été observée (Figure47).



Figure 47: Zone d'inhibition d'*Escherichia coli* avec la Menthe (extrait décocté)
(Photo :Adimi ,2014).

V.1.2.2.b. Action des différents extraits décoctés sur *Staphylococcus aureus*

Avec la Menthe une zone d'inhibition de 6 cm a été observée (Figure 48).

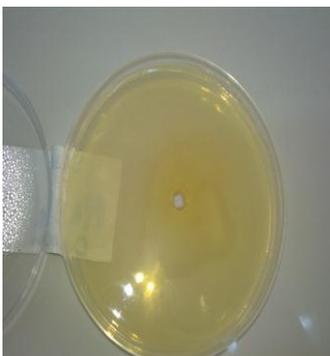


Figure 48: Zone d'inhibition avec la Menthe sur *Staphylococcus aureus* (extrait décocté) (Photo :Adimi ,2014).

Avec la Mélisse, une autre zone d'inhibition s'est manifestée et qui est de 7cm (Figure49)



Figure 49: Zone d'inhibition avec la Mélisse sur *Staphylococcus aureus* (extrait décocté) (Photo :Adimi ,2014).

V.1.2.3. Préparation des extraits à l'aide de l'infusion

Avec les différentes plantes, on a obtenu quatre solutions infusées et conservées dans le réfrigérateur pour une courte durée.

V.1.2.3.a. Action des différents extraits infusés sur *Escherichia coli*

Une zone d'inhibition de 5 mm a été observée avec la Mélisse (Figure 50).



Figure 50: Zone d'inhibition avec la Mélisse sur *Escherichia coli* (extrait infusé) (Photo :Adimi ,2014).

V.1.2.3.b. Action des différents extraits infusés sur *Staphylococcus aureus*

Pas de zone d'inhibition.

La chaleur fait altérer certains constituants des jus de plantes .Les plantes qui ont présenté des zones d'inhibition contiennent des composants thermorésistants.

V.1.2.4. Préparation des huiles essentielles

Avec les différentes plantes citées, On a obtenu les différentes huiles essentielles .La conservation a été réalisée à l'abri de la lumière et de la chaleur.

V.1.2.4.a. Action des différentes huiles essentielles sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*

V.1.2.4.a.a. Technique de l'aromatogramme

Les quatre plantes possèdent une activité antibactérienne sur les deux bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* en employant les huiles essentielles.

Les diamètres des zones d'inhibition varient de 6mm à 8mm pour *Escherichia coli*. Pour *Staphylococcus aureus* les diamètres des zones d'inhibition varient de 4 mm à 7 mm (Tableau.2).

Tableau 2: Action des différentes huiles essentielles sur la croissance d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (la technique de l'aromatogramme).

	<i>E coli</i>		<i>S aureus</i>	
	H .E	Hydrolat	H .E	Hydrolat
Mélisse fraîche	8mm	7mm	7mm	5mm
Mélisse sèche	4mm	4mm	5 mm	4mm
Origan	6mm	4mm	6mm	5 mm
Lavande	7 mm	4 mm	4 mm	4 mm
Menthe	6 mm	0mm	6 mm	0mm
Témoin	0mm	0mm	0mm	0mm

Les diamètres des zones d'inhibition avec les extraits de macération pour *Escherichia coli* varient de 5 mm à 50 mm et pour *Staphylococcus aureus* les diamètres des zones d'inhibition varient de 5 mm à 14 mm (Tableau.3).

Les hydrolats exercent aussi une activité inhibitrice ce qui montre que le principe actif est aussi présent au niveau de ces solutions.

La meilleure activité antibactérienne se présente avec la Mélisse, résultat qui a été déjà confirmée par le travail de Neda *et al.*, (2004) et Anicic *et al.*, (2005).

Le khi-deux de Pearson est de 0.94 pour les huiles essentielles et de 0.94 aussi pour l'hydrolat .Les résultats sont non significatifs.

Action sur *Escherichia coli*

D'après nos résultats obtenus l'inhibition est présente avec toutes les huiles essentielles.

Mimica-Dukic N et Bozin 2003 (Mimica-Dukic N et Bozin 2003) ont montré que la Mélisse est antibactérienne ce qui a été prouvé par notre travail. Par contre, la Mélisse fraîche présente les meilleurs résultats quant à l'action aux huiles essentielles. Avec une activité moindre nous classons nos plantes dans l'ordre suivant : la Lavande, l'Origan et la Menthe avec une activité inhibitrice de ce germe. Les hydrolats aussi assurent une inhibition ce qui explique que le principe actif existe dans ces solutions.

Action sur *Staphylococcus aureus*

La Mélisse fraîche est toujours la meilleure plante qui inhibe *Staphylococcus aureus* par rapport à la Mélisse sèche et par rapport aussi aux autres plantes. Nous avons classé les autres plantes par ordre décroissant comme suit la Menthe et l'Origan, la Mélisse sèche et en dernier la Lavande. Avec les hydrolats la Mélisse fraîche présente la même action avec l'Origan ensuite se classent la Mélisse sèche et la Lavande.

V.1.2.4.a.b. Technique des puits

L'activité antibactérienne se montre claire avec les quatre plantes sur les deux bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. En utilisant les huiles essentielles, des zones d'inhibition présentent des diamètres qui varient de 14mm à 24mm pour *Escherichia coli*. Pour *Staphylococcus aureus* les zones d'inhibition présentent des diamètres qui varient de 12 mm à 18 mm (Tableau. 3).

Tableau 3: Action des différentes huiles essentielles sur la croissance d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (Technique des puits) (zones d'inhibitions en mm).

Bactérie Plante	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Mélisse	24 mm	18mm
Lavande	18mm	12 mm
Menthe	14mm	14 mm
Origan	16 mm	15 mm
Témoin	00 mm	00 mm

Le khi-deux de Pearson est de 0.85 les résultats sont non significatifs.

V.1.2.5. Préparation des extraits de la macération alcoolique

Quatre solutions de la macération alcoolique ont été obtenues.

V.1.2.5.a. Action des différentes solutions de la macération alcoolique sur la croissance d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*

Pour *Escherichia coli* en utilisant la technique de puits l'inhibition varie de 50 mm jusqu'à 13 mm et en utilisant la technique de disques l'inhibition varie de 50 mm à 05 mm.

Pour *Staphylococcus aureus* en utilisant la technique de puits l'inhibition varie de 26 mm jusqu'à 06 mm et en utilisant la technique de disques l'inhibition varie de 14 mm à 05 mm (Tableau.4).

Tableau 4: Action des différentes solutions de la macération alcoolique sur la croissance d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* en utilisant la technique de l'aromatogramme et la technique de puits.

Germe	<i>E coli</i>		<i>S aureus</i>	
	Puits	Disques	Puits	Disques
Plantes				
Mélicse	50mm	50 mm	26mm	14 mm
Lavande	20mm	05mm	06mm	05mm
Origan	13mm	06 mm	16mm	07mm
Menthe	50 mm	40mm	24mm	13mm
Témoins	0mm	0mm	0mm	0mm

En ce qui concerne *Escherichia coli*, les meilleurs effets inhibiteurs se sont distingués avec la Menthe et la Mélicse suivis par l'Origan et vers la fin la Lavande (méthode de puits)

Pour *Staphylococcus aureus*, les meilleurs effets inhibiteurs se sont distingués aussi avec la Menthe et la Mélicse suivis par l'Origan et la Lavande (méthode de puits).

En ce qui concerne la méthode de disques, pour *Escherichia coli* la Mélicse est la meilleure plante antibactérienne suivie par la Lavande, l'Origan et la Menthe.

Pour *Staphylococcus aureus* la Mélisse est toujours la meilleure plante qui présente la meilleure activité inhibitrice avec la Menthe suivie par l'Origan et la Lavande.

On confirme bien les résultats de nombreux travaux qui ont été effectués dans ce domaine et qui ont montré que les extraits de la macération possèdent un effet antibactérien puissant. On cite les travaux de Tereza (Teresa *et al.* , 2007).

Le khi-deux de Pearson est de 0.05 (technique de puits) les résultats sont significatifs.

Le khi-deux de Pearson est de 0.04 (technique des disques) les résultats sont significatifs.

V.1.2.6. Préparation des jus pour la spectrophotométrie

Quatre flacons contenant les différents jus de plantes ont étéensemencés avec chaque bactérie à part .Deux autres flacons de bouillons nutritifs, l'un nous l'avonsensemencé ave *Escherichia coli* et l'autre avec *Staphylococcus aureus*. Deux autres flacons servaient comme témoins et contenant uniquement de l'eau.

On a calculé la densité optique pour chaque flacon selon un laps de temps bien défini.

V.1.2.6.a. Les différentes valeurs de l'évaluation de la densité optique pour *Escherichia coli*

V.1.2.6.a.1. Densité optique Lavande / *Escherichia coli*

Tableau 5: Evaluation de la densité optique de Lavande avec *Escherichia coli*.

Temps	T0 =13h	T1 = 14h30	T2 = 16h	T3 = 24h
DO	0,280	0,080	0,055	0,012

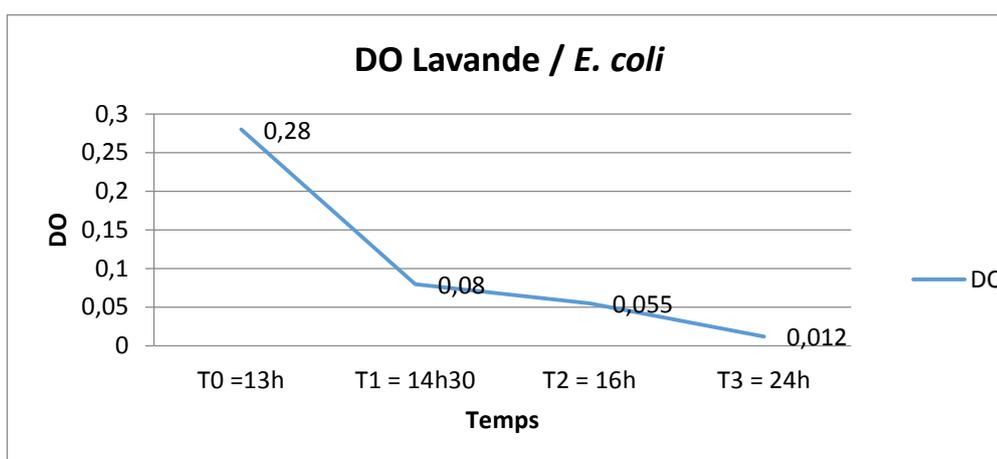


Figure 51: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant le jus de Lavande en fonction du temps pour *Escherichia coli*

V.1.2.6.a.2. Densité optique Origan / *Escherichia coli*

Tableau 6: Evaluation de la densité optique de l'Origan avec *Escherichia coli*.

temps	T0 =13h	T1= 14h30	T2 = 16h	T3 = 24h
DO	0,026	0,014	0,005	0

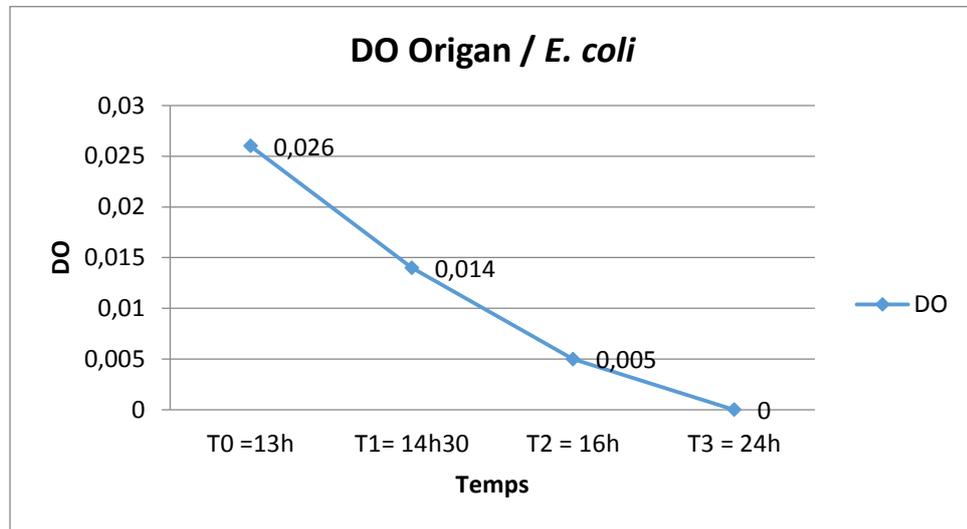


Figure 52: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant le jus de l'Origan en fonction du temps pour *Escherichia coli*.

V.1.2.6.a.3. Densité optique Mélisse / *Escherichia coli*

Tableau 7 : Evaluation de la densité optique de la Mélisse avec *Escherichia coli*.

Temps	T0 =13h	T1 = 14h30	T2 = 16h	T3 =
DO	0,900	0,017	0,016	0

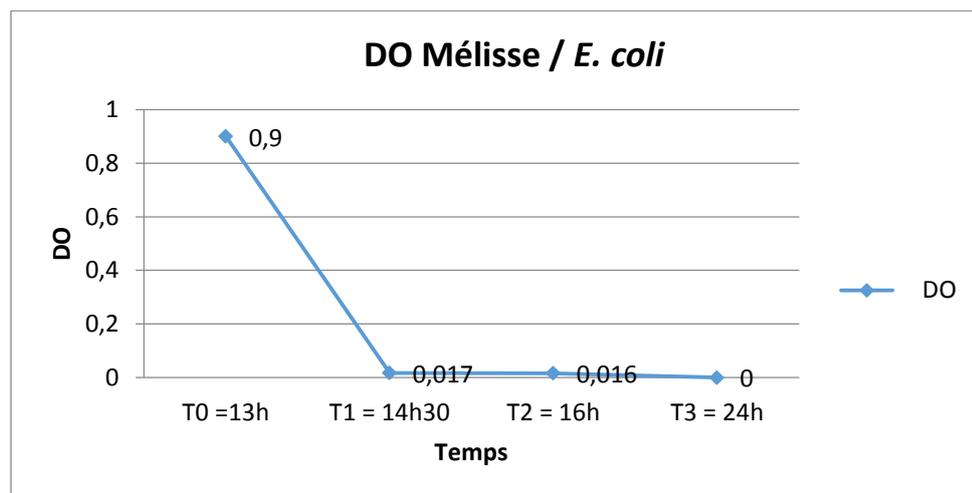


Figure 53: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant le jus de Mélisse en fonction du temps pour *Escherichia coli*.

V.1.2.6.a.4. Densité optique Menthe / *Escherichia coli*

Tableau 8 : Evaluation de la densité optique de la Menthe avec *Escherichia coli*.

temps	T0 =13h	T1 = 14h30	T2 = 16h	T3 = 24h
DO	0,250	0,190	0,056	0

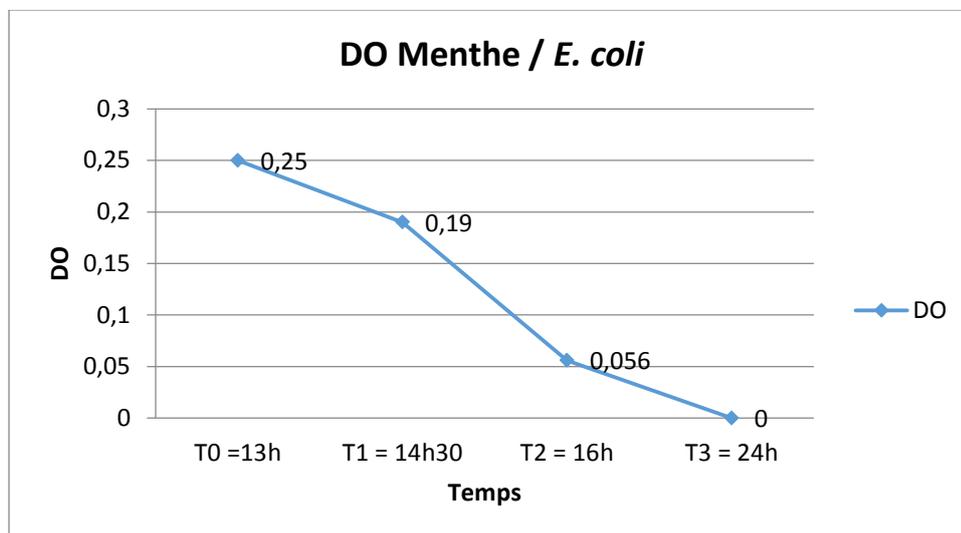


Figure 54: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant le jus de la Menthe en fonction du temps pour *Escherichia coli*.

V.1.2.6.a.5. Densité optique bouillon nutritif / *Escherichia coli*

Tableau 9 : Evaluation de la densité optique du bouillon nutritif avec *Escherichia coli*.

temps	T0 =13h	T1 = 14h30	T2 = 16h	T3 = 24h
DO	0,060	0,390	0,550	0,922

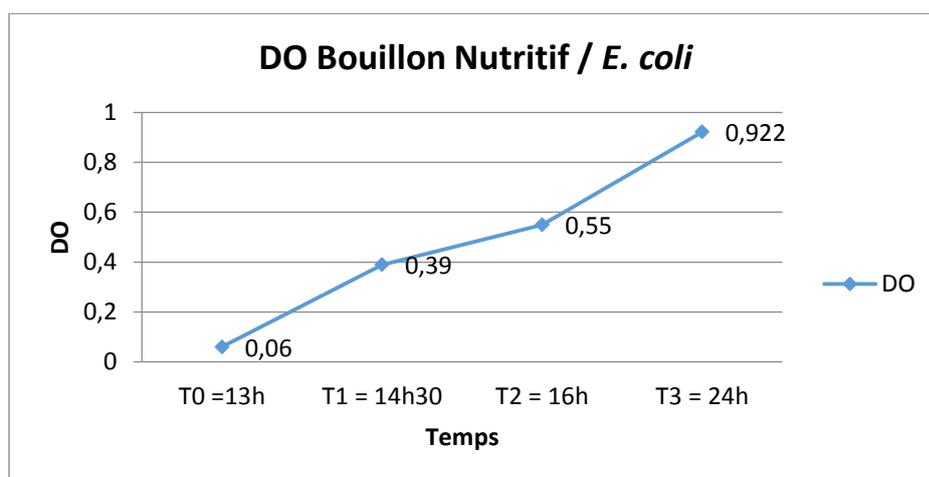


Figure 29: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant le bouillon nutritif en fonction du temps pour *Escherichia coli*.

V.1.2.6.a.6. Densité optique eau / *Escherichia coli*

Tableau 10: Evaluation de la densité optique de l'eau avec *Escherichia coli*.

temps	T0=13 h	T1=13 h	T2=16h	T3=24h
DO	0,0120	0,0090	0	0

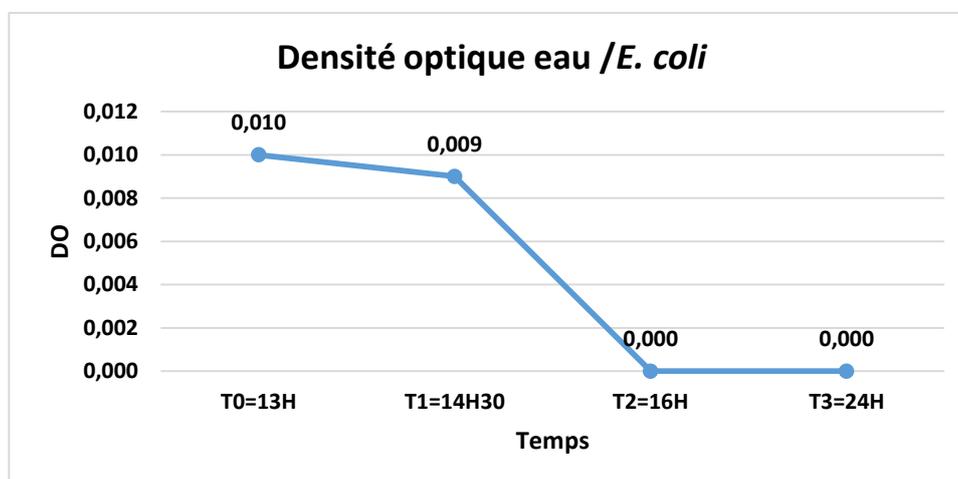


Figure 56: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant l'eau en fonction du temps pour *Escherichia coli*.

Le khi-deux de Pearson est de 0.99 pour les différentes valeurs de l'évaluation de l'absorbance et les résultats ne sont pas donc significatifs.

V.1.2.6.b. Les différentes valeurs de l'évaluation de la densité optique pour *Staphylococcus aureus*

V.1.2.6.b.1. Densité optique Lavande / *Staphylococcus aureus*

Tableau 11: Evaluation de la densité optique de Lavande avec *Staphylococcus aureus*.

temps	T0 =13h	T1 = 14h30	T2 = 16h	T3 = 24h
DO	0,175	0,026	0	0

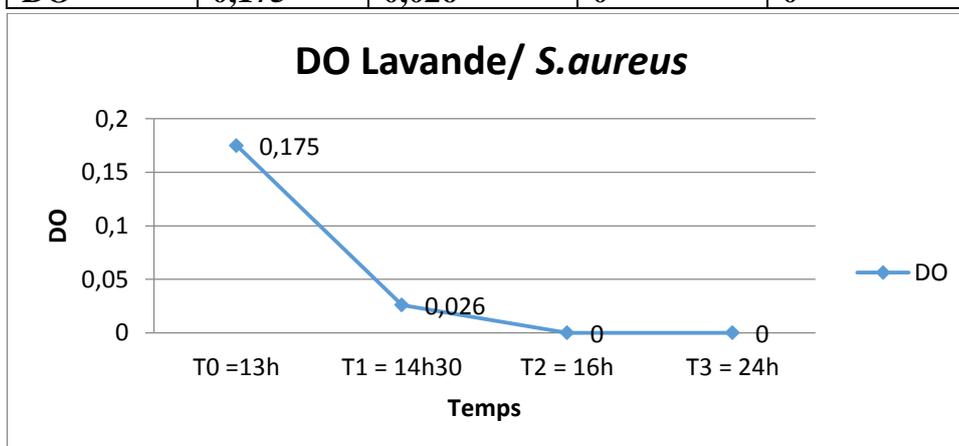


Figure 57: Représentation graphique de l'évolution de la densité optique en utilisant jus de Lavande en fonction du temps pour *Staphylococcus aureus*.

V.1.2.6.b.2. Densité optique Origan / *Staphylococcus aureus*

Tableau 12: Evaluation de la densité optique de l'Origan avec *Staphylococcus aureus*.

temps	T0 =13h	T1 = 14h30	T2 = 16h	T3 = 24h
DO	0,064	0,02	0,015	0

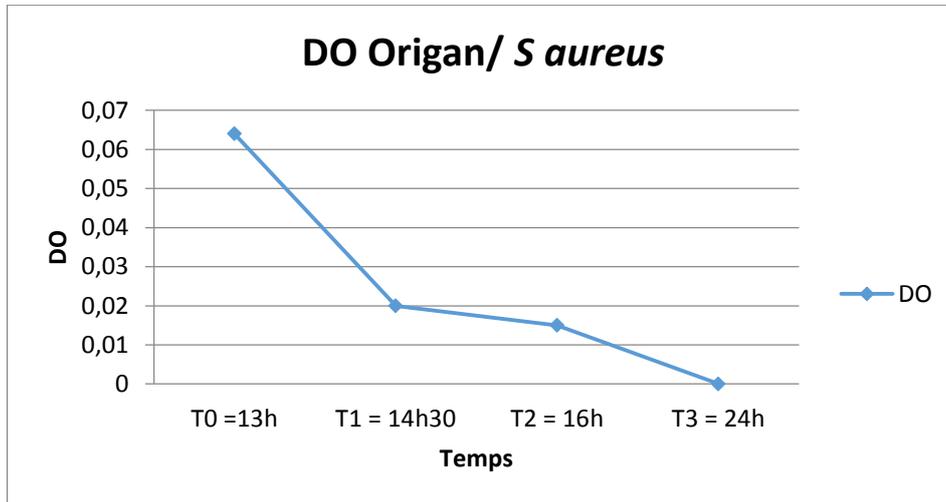


Figure 58: Représentation graphique de l'évolution de la densité optique en utilisant le jus de l'Origan en fonction du temps pour *Staphylococcus aureus*.

V.1.2.6.b.3. Densité optique Mélisse / *Staphylococcus aureus*

Tableau 13: Evaluation de la densité optique de la Mélisse avec *Staphylococcus aureus*.

temps	T0 =13h	T1 = 14h30	T2 = 16h	T3 = 24h
DO	0,016	0,015	0,005	0

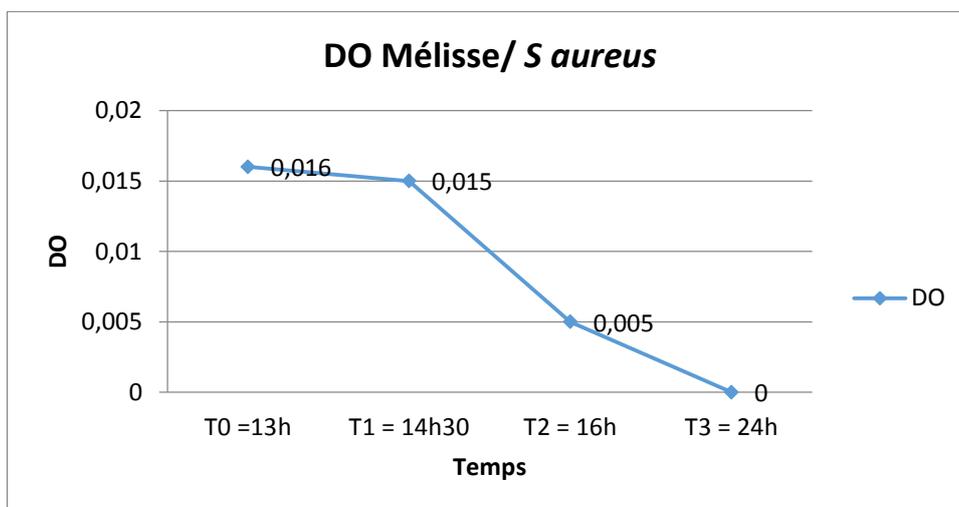


Figure 309: Représentation graphique de l'évolution de la densité optique en utilisant le jus de Mélisse en fonction du temps pour *Staphylococcus aureus*.

V.1.2.6.b.4. Densité optique Menthe / *S aureus*

Tableau 14: Evaluation de la densité optique de la Menthe avec *Staphylococcus aureus*.

temps	T0 =13h	T1 = 14h30	T2 = 16h	T3 = 24h
DO	0,067	0,056	0,042	0

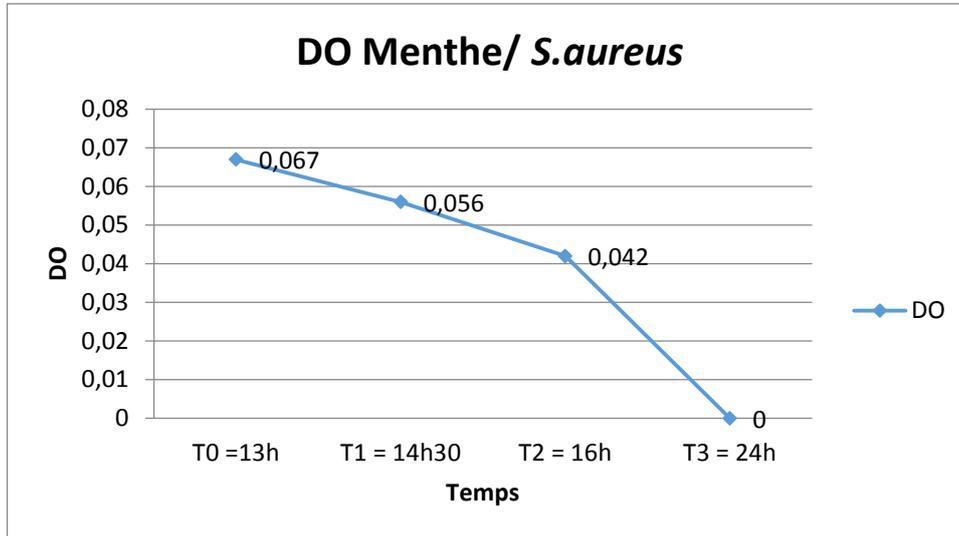


Figure 60: Représentation graphique de l'évolution de la densité optique en utilisant le jus de la Menthe en fonction du temps pour *Staphylococcus aureus*.

V.1.2.6.b.5. Densité optique bouillon nutritif / *Staphylococcus aureus*

Tableau 15: Evaluation de la densité optique du bouillon nutritif avec *Staphylococcus aureus*

temps	T0 =13h	T1 = 14h30	T2 = 16h	T3 = 24h
DO	0,002	0,005	0,039	0,819

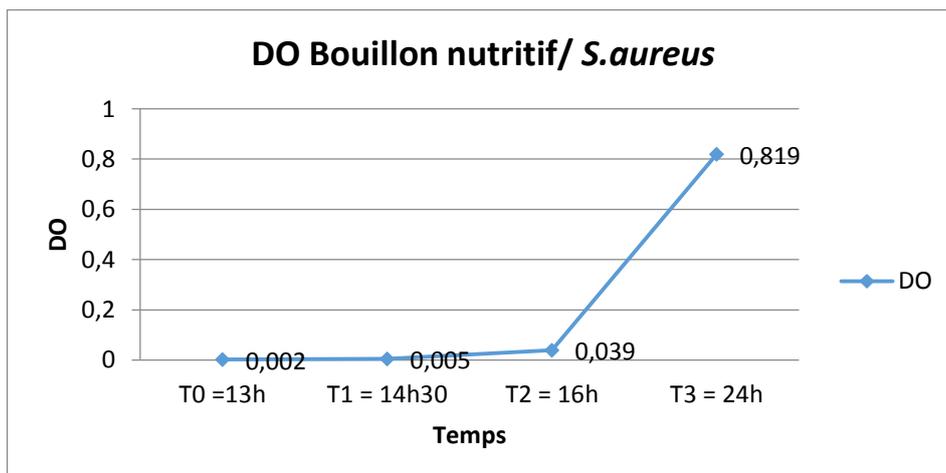


Figure 61: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant le bouillon nutritif en fonction du temps pour *Staphylococcus aureus*.

V.1.2.6.b.6. Densité optique eau / *Staphylococcus aureus*

Tableau 16: Evaluation de la densité optique de l'eau avec *Staphylococcus aureus*.

temps	T0 =13h	T1 = 14h30	T2 = 16h	T3 = 24h
DO	0,01	0,009	0	0

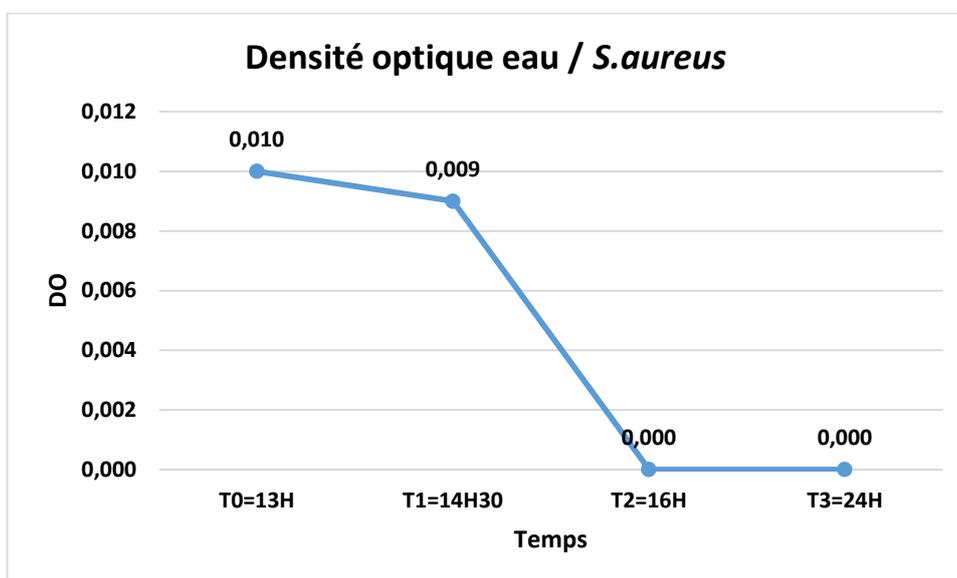


Figure 62: Représentation graphique de l'évolution de la densité optique en utilisant l'eau en fonction du temps pour de *Staphylococcus aureus*.

Après 24 heures d'incubation, on remarque que la concentration de la bactérie *Escherichia coli* soit au niveau de la Mélisse, Menthe, Lavande et Origan tend vers zéro. Donc ces plantes empêchent la croissance bactérienne. Cela a été confirmé par de nombreuses recherches y compris celles Mimica-Dukic et Bozin en 2003(Mimica-Dukic et Bozin ;2003).

La meilleure activité bactéricide a été observée avec la Mélisse, l'Origan et la Lavande. Pour *Staphylococcus aureus*, la même chose, après 24 heures d'incubation sa concentration au niveau des quatre plantes tend vers zéro. Ce qui montre que ces plantes empêchent la croissance bactérienne. La Lavande, la Mélisse et l'Origan présentent les meilleurs effets.

Les Figures (51, 52, 53et 54), montrent une diminution linéaire de la croissance d'*Escherichia coli* grâce à l'activité antibactérienne des différentes plantes utilisées.

On remarque aussi que la Mélisse exerce une activité antibactérienne remarquable qui s'est traduite par une ligne droite, ensuite une diminution qui tend vers zéro, plus que les autres plantes.

Cependant avec le bouillon nutritif (Figure 55), une augmentation de la croissance a été observée.

Une diminution de la croissance de la bactérie a été vite remarquée avec le témoin eau et tend rapidement vers zéro (Figure 56).

En ce qui concerne *Staphylococcus aureus*, les Figures (57, 58, 59 et 60) expliquent une diminution linéaire de sa croissance. Cela est due grâce aux plantes employées et à leur activité antibactérienne.

On a trouvé que l'Origan et la Lavande exercent la meilleure activité, un tel résultat a été déduit par la recherche Roller et son équipe (Roller *et al.*.,2009). Ensuite viennent s'installer l'activité de la Menthe et la Mélisse.

La figure 61 du bouillon nutritif donne une croissance forte de la bactérie.

Au contraire la figure 62 du témoin eau montre une diminution rapide de la croissance qui tend vers zéro.

Le khi-deux de Pearson est de 0.98 pour les différentes valeurs de l'évaluation de l'absorbance et les résultats sont non significatifs.

V.2. ACTIVITE ANTIFONGIQUE

V.2.1. Aspect morphologique des deux champignons

Tableau 17: Observation macroscopique des deux champignons.

Microorganismes	Sabouraud	Morphologie des colonies
<p><i>Candida albicans</i></p> 	++	des colonies blanches, crémeuses, brillantes, ne contenant que la forme levure
<p><i>Aspergillus niger</i></p> 	++	Colonies formées par un mycélium compact blanc à jaunâtre recouvert par une couche dense de conidiophores noirs (parfois bruns), à bordure blanche et revers incolore.

V.2.2. Les plantes

V.2.2.1. obtention des huiles essentielles

Les différentes huiles essentielles des différentes plantes ont été obtenues. On les a conservés à l'abri de la lumière et de la chaleur.

V.2.2.1.a. Action des différentes huiles essentielles sur *Candida albicans* et *Aspergillus niger* (Technique de l'aromatogramme (disques) et technique des puits)

Tableau 18 : Action des différentes huiles essentielles sur la croissance de *Candida albicans* et *Aspergillus niger* en utilisant la technique de l'aromatogramme et technique des puits.

Germes H.E	<i>Candida albicans</i>				<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>
	Disques		Puits		Disques	Puits
	24h	48 h	224 h	448 h	48 h	48h
Mélicse	16mm	16mm	07mm	00mm	Pas d'inhibition (colonies noires)	Pas d'inhibition (colonies noires)
Lavande	16 mm	16 mm	05mm	00mm	Pas d'inhibition (colonies blanchâtres)	Pas d'inhibition (colonies)
Origan	Sensibilité totale	Sensibilit é totale	09mm	00mm	Inhibition totale	Inhibition totale
Menthe	50mm	22mm	08mm	00mm	13 mm (colonies blanchâtres)	10 mm (colonies blanchâtres)

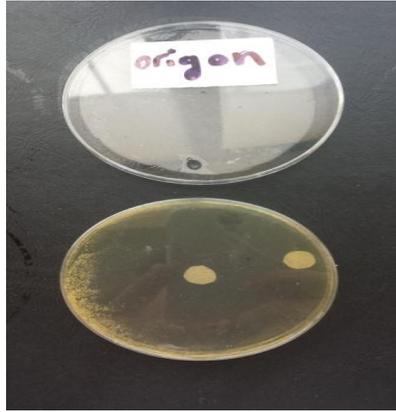


Figure 63: Zone d'inhibition due aux huiles essentielles de l'Origan sur *Candida albicans* (Technique des disques) (Adimi,2014).



Figure 64: Zone d'inhibition due aux huiles essentielles de la Menthe sur *Candida albicans* (Technique des disques) (Adimi,2014).



Figure 65: Zone d'inhibition due aux huiles essentielles de la Lavande sur *Candida albicans* (Technique des disques) (Adimi,2014).

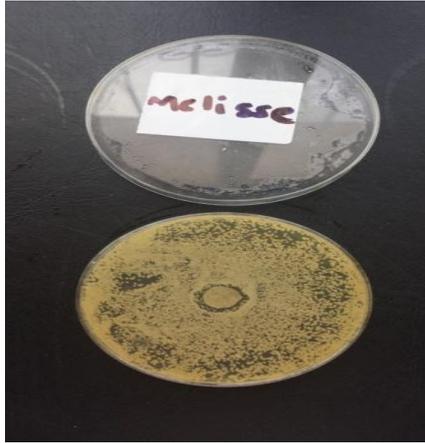


Figure 66: Zone d'inhibition due aux huiles essentielles de la Mélisse sur *Candida albicans* (Technique des disques) (Adimi,2014).



Figure 67 : Aucune inhibition avec l'eau (témoin) sur *Candida albicans* (technique des disques) (Adimi,2014).



Figure 68: Zone d'inhibition due aux huiles essentielles de l'Origan sur *Aspergillus niger*. (Technique des disques) (Adimi,2014).



Figure 69 : Zone d'inhibition due aux huiles essentielles de la Menthe sur *Aspergillus niger* (Technique des disques) (Adimi,2014).



Figure 70: Aucune inhibition avec les huiles essentielles de la Mélisse sur *Aspergillus niger* (Technique des disques) (Adimi,2014).



Figure 71 : Aucune inhibition avec les huiles essentielles de la Lavande sur *Aspergillus niger* (Technique des disques) (Adimi,2014).

Action sur *Candida albicans*

D'après les résultats obtenus, toutes les huiles essentielles présentent des effets d'inhibition

On a toujours considéré l'Origan comme un anti fongique puissant ce qui a été prouvé par notre travail (Figure 63).

La Menthe, la Mélisse, la Lavande assurent une inhibition de cette levure avec des résultats moindres (Figures 64,66 et 65).

Action sur *Aspergillus niger*

L'Origan nous a montré toujours un pouvoir anti fongique élevé par rapport aux autres plantes (Figure 68) ce qui a été déjà prouvé par Adam et son équipe (Adam *et al.*,1998)

Il est suivi par la Menthe (Figure69). La Mélisse et la Lavande n'ont aucun effet inhibiteur (Figures 70 et 71).

Avec les témoins il n'y avait pas de zone d'inhibition

Le khi-deux de Pearson est de 2.83 (technique des disques) et de 5.33 (technique des puits) et les résultats sont non significatifs.

V.2.2.2. obtention des extraits de la macération alcoolique

Quatre solutions de la macération alcoolique ont été obtenues.

V.2.2.2.a. Action des différentes solutions de la macération alcoolique sur *Candida albicans* et *Aspergillus niger* (Technique de l'aromatogramme (disques) et bio-essai (puits))

Tableau 19: Action des différentes solutions de la macération alcoolique sur la croissance d'*Candida albicans* et *Aspergillus niger* en utilisant la technique de l'aromatogramme (disques) et la technique des puits.

Germe Macérât	<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus niger</i>	
	Disques	Puits	Disques	Puits
Mélisse	48 h	48 h	48 h	48 h
	13 mm	11 mm	Pas d'inhibition	Inhibition légère (presque pas d'inhibition)
Lavande	12 mm	11 mm	Inhibition légère	Inhibition légère (presque pas d'inhibition)
Origan	20 mm	17 mm	Inhibition légère (colonies blanches)	Inhibition légère (presque pas d'inhibition)
Menthe	17 mm	17 mm	Pas d'inhibition	Inhibition légère (presque pas d'inhibition)

Action sur *Candida albicans*

L'Origan possède la meilleure capacité inhibitrice suivi par la menthe. Ce résultat a été déjà confirmé par les travaux de (Chami,2005 et Adam *et al.*,1998).

Action sur *Aspergillus niger*

L'Origan possède toujours la meilleure capacité inhibitrice suivi par la Lavande.

Les meilleurs résultats sont obtenus avec la méthode des disques

Le khi-deux de Pearson est de 0.9 (technique des disques) et de 0.99 (technique des puits)et les résultats sont non significatifs

V.2.2.3. Les différentes valeurs de l'évaluation de la densité optique pour *Candida albicans* et *Aspergillus niger*

V.2.2.3.a. Les différentes valeurs de l'évaluation de la densité optique pour *Candida albicans*

V.2.2.3.a.1 DO lavande / *Candida albicans*

Tableau 20: Evaluation de la densité optique de la Lavande avec *Candida albicans*.

Temps	T0 =12h	T1 = 13h30	T2 = 15h	T3 = 24h
DO	0,663	1.32	0.652	0,467

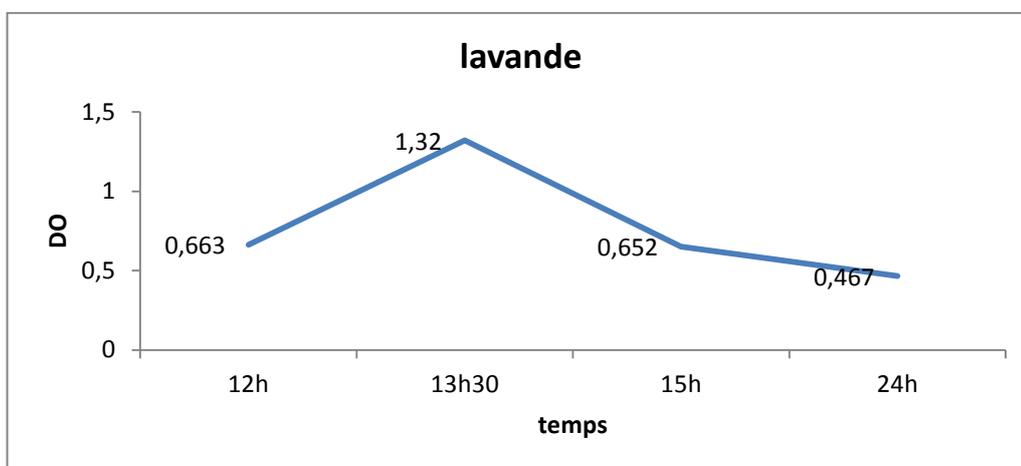


Figure 72: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant la lavande en fonction de temps pour *Candida albicans*.

V.2.2.3.a.2. DO Origan / *Candida albicans*

Tableau 21: Evaluation de la densité optique de l'Origan avec *Candida albicans*

Temps	T0 =12h	T1 = 13h30	T2 = 15h	T3 = 24h	T4=48h
DO	0,511	0,314	0,325	0,197	0

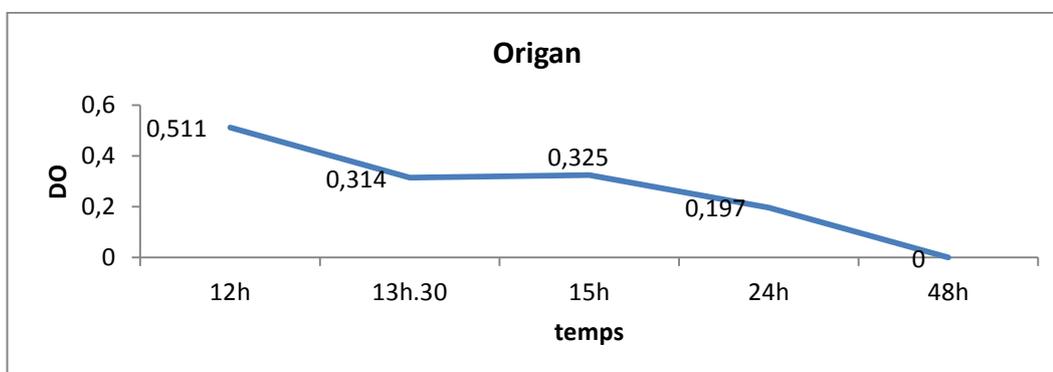


Figure73: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant l'Origan en fonction de temps pour *Candida albicans*.

V.2.2.3.a.3. DO Mélisse / *Candida albicans*

Tableau 22: Evaluation de la densité optique de la Mélisse avec *Candida albicans*

Temps	T0 =12h	T1 =13h30	T2 = 15h	T3 =24h	T4=48h
DO	0,130	0,109	0,014	0	0

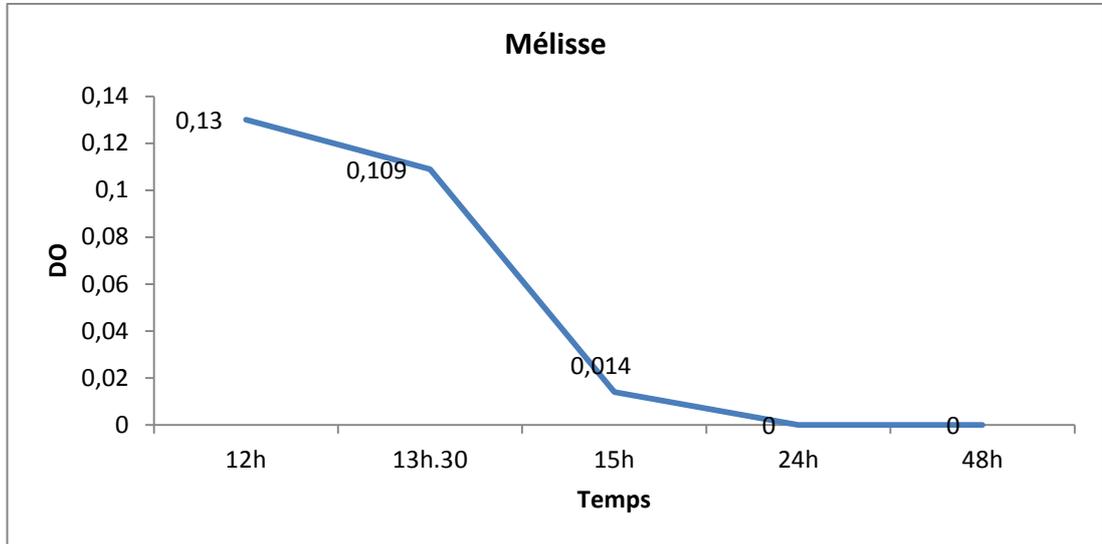


Figure 74: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant la Mélisse en fonction de temps pour *Candida albicans*.

V.2.2.3.a.4. DO Menthe / *Candida albicans*

Tableau 23: Evaluation de la densité optique de la Menthe avec *Candida albicans*

Temps	T0 =12h	T1 = 13h30	T2 = 15h	T3 = 24h	T4=48H
DO	0,136	0,123	0,080	0,309	0,515

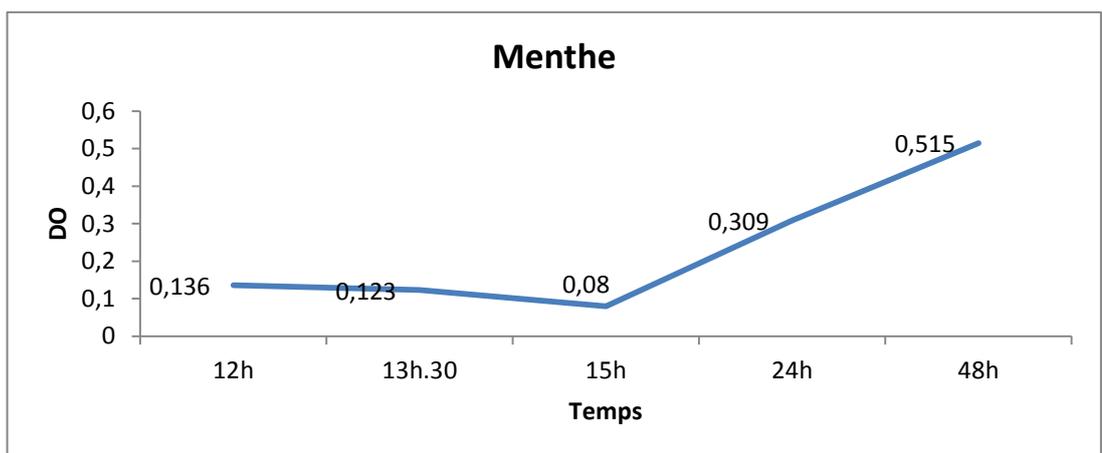


Figure 75: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant la Menthe en fonction de temps pour *Candida albicans*

V.2.2.3.a.5 DO Bouillon nutritif / *Candida albicans*

Tableau 24: Evaluation de la densité optique du bouillon nutritif avec *Candida albicans*

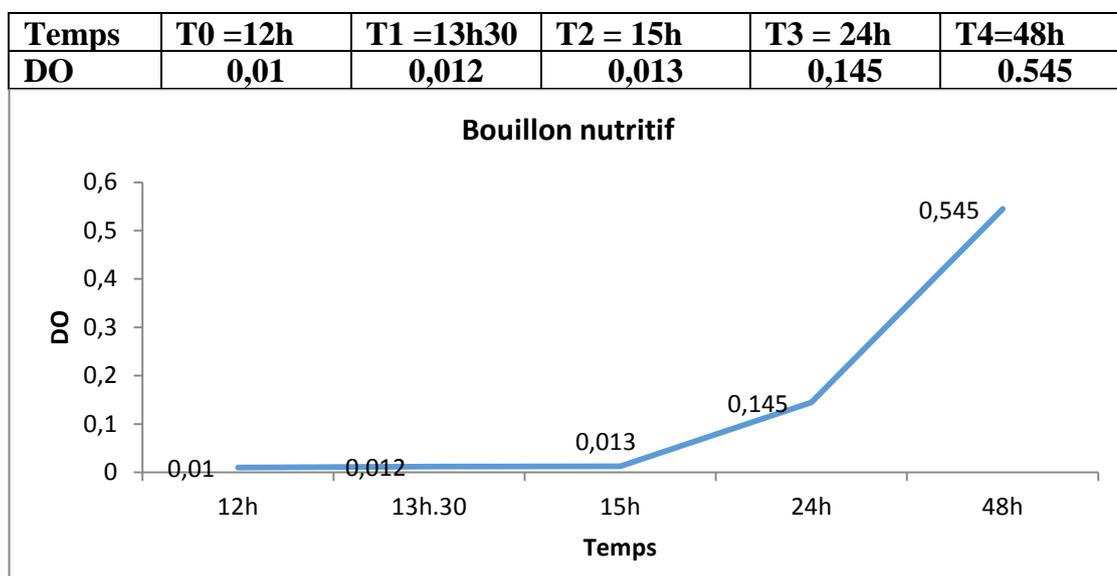


Figure 76: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant le bouillon nutritif en fonction de temps pour *Candida albicans*

V.2.2.3.a.6. DO eau/ *Candida albicans*

Tableau 25: Evaluation de la densité optique de l'eau avec *Candida albicans*

Temps	T0 =12h	T1 =13h30	T2 = 15h	T3 = 24h	T4=48h
DO	0,0020	0,0009	0,0000	0,0000	0,0000

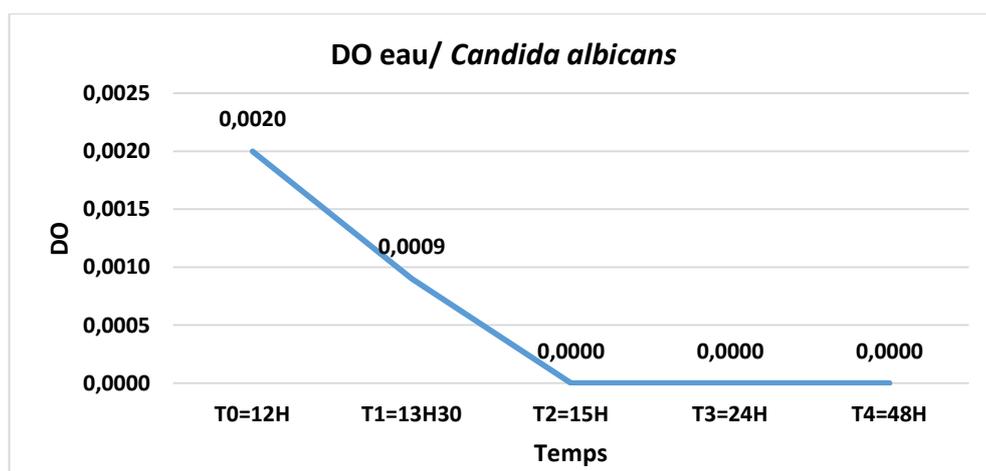


Figure 77: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant l'eau en fonction de temps pour *Candida albicans*

Le khi-deux de Pearson est de 0.1 et les résultats ne sont pas donc significatifs.

V.2.2.3.b. Les différentes valeurs de l'évaluation de la densité optique pour *Aspergillus niger*.

V.2.2.3.b.1. DO Mélisse / *Aspergillus niger*.

Tableau 26: Evaluation de la densité optique de la Mélisse pour *Aspergillus niger*.

Temps	mardi	mercredi	jeudi	Diman
DO	0,001	0,276	0,181	0,815

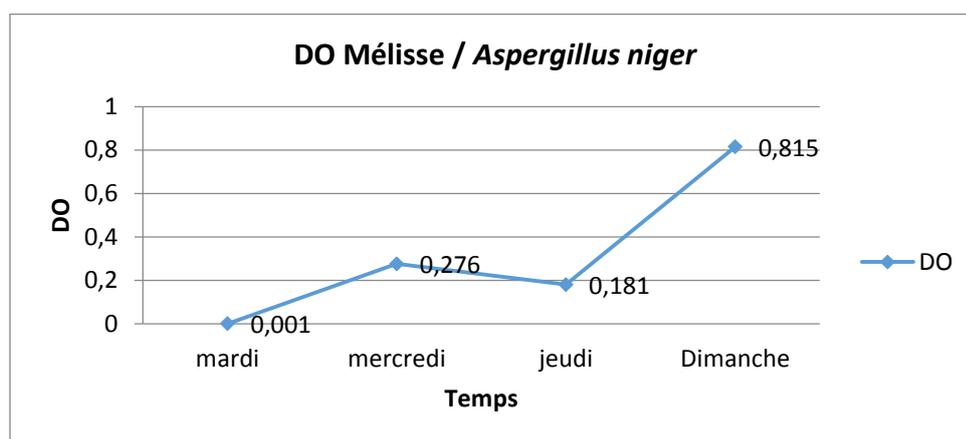


Figure 78: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant la Mélisse en fonction de temps pour *Aspergillus niger*.

V.2.2.3.b.2. DO Origan / *Aspergillus niger*

Tableau 27: Evaluation de la densité optique de l'Origan pour *Aspergillus niger*.

Tempps	mardi	mercredi	Jeudi	Dimanche
DO	0,038	0,595	0,345	0,245

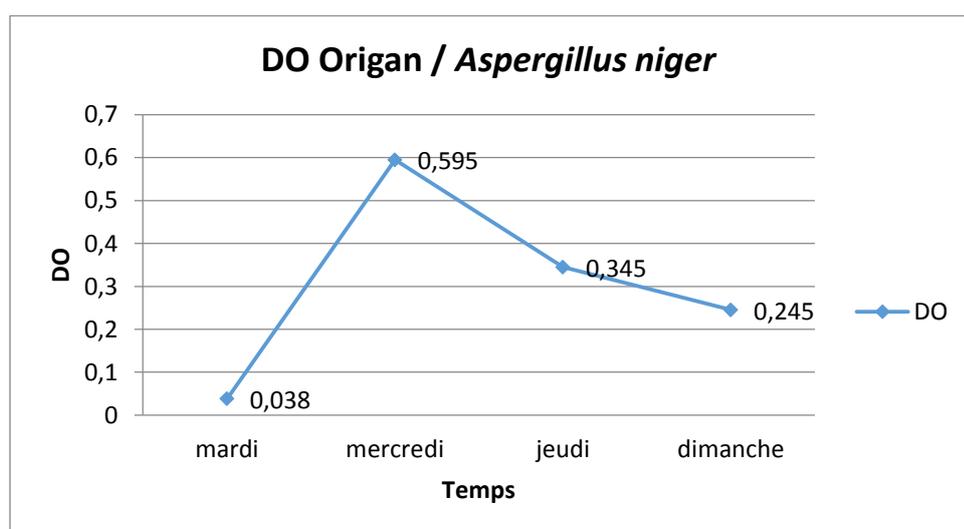


Figure 79: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant l'Origan en fonction de temps pour *Aspergillus niger*.

V.2.2.3.b.3. DO lavande / *Aspergillus niger*

Tableau 28: Evaluation de la densité optique de la Lavande pour *Aspergillus niger*.

Temps	mardi	mercredi	jeudi	Dimanche
DO	0,02	0,132	0,147	0,413

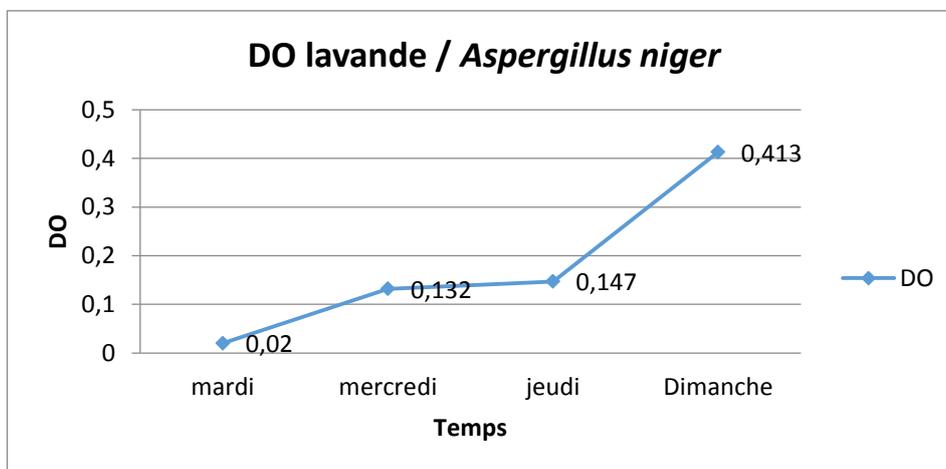


Figure 80: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant la Lavande en fonction de temps pour *Aspergillus niger*.

V.2.2.3.b.4. DO Menthe / *Aspergillus niger*

Tableau 29: Evaluation de la densité optique de la Menthe pour *Aspergillus niger*.

Temps	Mardi	Mercredi	Jeudi	Dimanche
DO	0,067	0,517	0,368	1,973

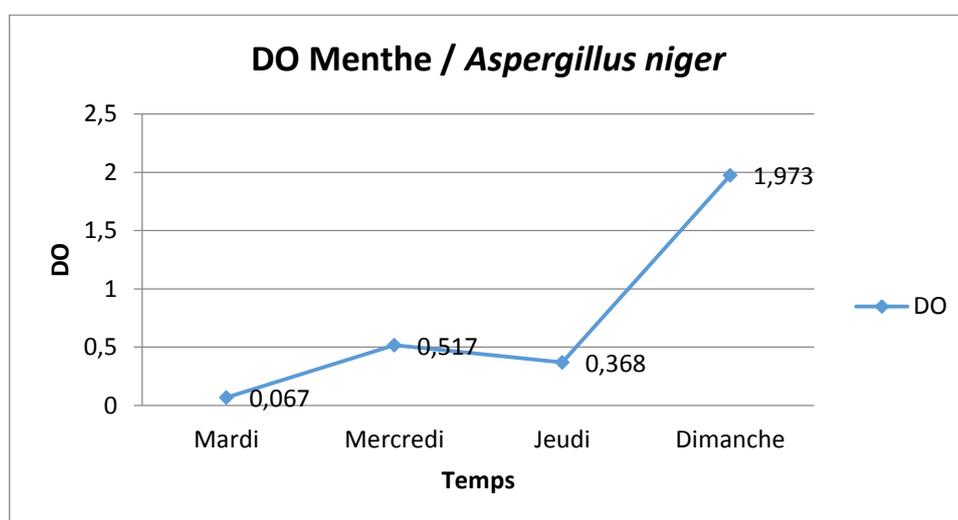


Figure 81: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant la Menthe en fonction de temps pour *Aspergillus niger*.

V.2.2.3.b.5. DO bouillon nutritif / *Aspergillus niger*.

Tableau 30: Evaluation de la densité optique du bouillon nutritif pour *Aspergillus niger*.

Temps	Mardi	Mercredi	Jeudi	Dimanche
DO	0,001	0,103	0,360	0,413

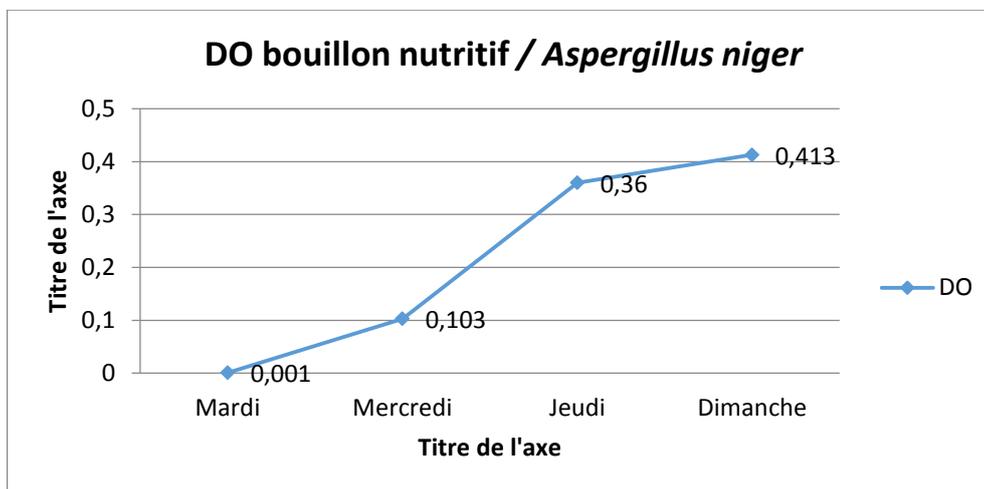


Figure 82: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant le bouillon nutritif en fonction de temps pour *Aspergillus niger*.

V.2.2.3.b.6. DO Eau/ *Aspergillus niger*.

Tableau 31: Evaluation de la densité optique de l'eau pour *Aspergillus niger*.

Temps	Mardi	Mercredi	Jeudi	Dimanche
DO	0,002	0,0009	0	0

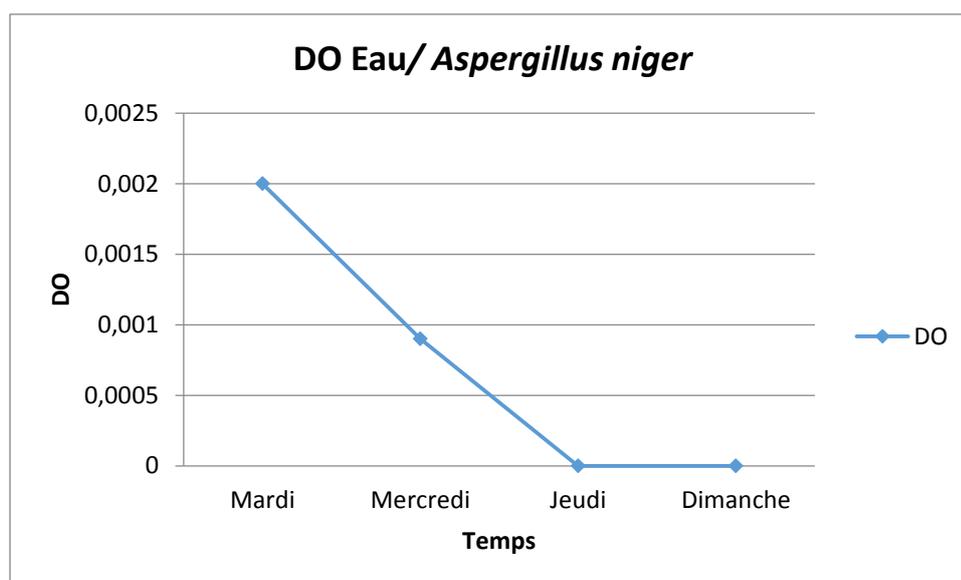


Figure 83: Représentation graphique de l'évaluation de la densité optique en utilisant l'eau en fonction de temps pour *Aspergillus niger*.

D'après notre travail, nous avons constaté que la croissance et la concentration de *Candida albicans* dans la Mélisse (Figure 78), et l'Origan (Figure 79), tendent vers le zéro après 48 heures d'incubation. Aucune croissance fongique n'a été observée.

La meilleure activité fongicide était obtenue avec la Mélisse et l'Origan.

Pour *Aspergillus niger*, sa concentration juste dans l'Origan tend vers le zéro ce qui montre une absence de la croissance fongicide après presque une semaine d'incubation. Les deux plantes Mélisse et l'Origan présentent les meilleures activités fongicides, ce qui a été confirmé par (Adam *et al.*, 1998 et Mimica-Dukic *et al.*, 2004).

Le khi-deux de Pearson est de 0.99 et les résultats sont non significatifs.

V.3. Activité Antioxydante

V.3.1. Rendement des extractions

Le rendement des extraits sont calculés par la formule suivante après extraction et élimination de toute trace de solvant

$$R\% = (M_1 / M_0) \times 100$$

Où M_0 : la masse de la matière végétale traitée

M_1 : La masse de l'extrait.

La lavande représente un rendement plus élevé (Tableau 32) que l'Origan puis La Mélisse et la Menthe.

Tableau 32: les rendements des extraits ($M_0= 20g$).

Extraits	Masse de l'extrait sec(g)	Rendement
<i>Melissa officinalis</i>	3.22	16.1 % (m/m)
<i>Origanum vulgare</i>	3.81	19.05 % (m/m)
<i>Lavandula angustifolia</i>	4.19	20.95 % (m/m)
<i>Mentha piperita</i>	3 .07	15.35 % (m/m)

V.3.2.Le screening phytochimique

Le screening phytochimique a été effectué sur les extraits éthanoliques de chaque plante (Mélisse Origan, Lavande et Menthe).

Deux tests ont été choisis pour la détection de deux genres de métabolites, Il s'agit de polyphénols et flavonoïdes dans tous les extraits (Tableau.33).

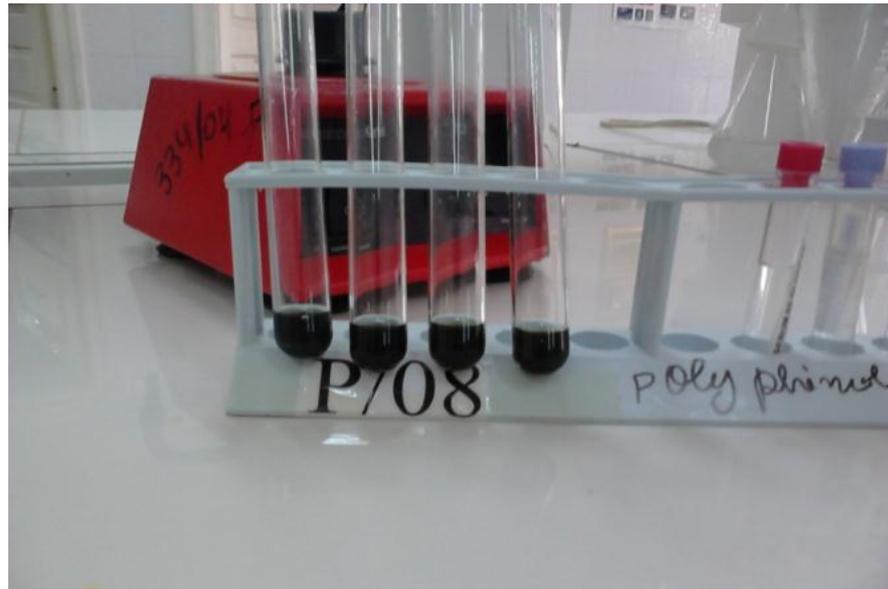


Figure 84: Screening phytochimique des extraits éthanoliques des plantes la Mélisse, l'Origan, La Lavande et la Menthe(pour la detection des polyphénols)
(Photo :Adimi,2014).



Figure 85: Screening phytochimique des extraits éthanoliques des plantes la Mélisse, l'Origan, La Lavande et la Menthe(pour la detection des flavonoides)
(Photo :Adimi ,2014).

Tableau 33: Mise en évidence des différents groupes chimiques dans les extraits

éthanoliques.

composées	Mélicse	Origan	Menthe	Lavande
polyphénols	+	+	+	+
flavonoïdes	+	+	+	+

- : Absence, +Présence

L'importance médicinale des plantes est en relation avec leur composition en éléments phytochimiques bioactifs qui induisent des effets sur le corps humain. On note parmi ces composants : les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tannins, les saponines, les coumarines, les stéroïdes, les anthraquinones, les terpènes et les stérols (Ulah *et al.*,2011).

V.3.3. Test de blanchissement du β - carotène

Tableau 34: diamètres de l'inhibition avec les différents volumes des extraits de plantes.

Volume d'extrait de plante (ul)	Diamètre de la couleur en mm
10 de Mélicse	9
10 de l'Origan	8
10 de la Menthe	Pas d'action
10 de la Lavande	Pas d'action
30 de Mélicse	9,8
30 de l'Origan	9,3
30 de la Menthe	2
30 de la Lavande	Pas d'action
30 de la quercétine	11
30 d'éthanol	Blanchissement total
50 de Mélicse	12
50 de l'Origan	11
50 de la Menthe	5
50 de la Lavande	Pas d'action
50 de la quercétine	13
50 d'éthanol	Blanchissement total

Nous avons utilisé les différents extraits de plantes (la Mélisse, l'Origan, la Menthe, la Lavande), un témoin positif qui est la quercétine et un témoin négatif qui est l'éthanol, un halo de couleur orange reste autour des puits. La surface de l'agar agar perd sa couleur orange suite à l'oxydation du β -carotène. Le diamètre des halos de conservation de la couleur orange est proportionnel au volume déposé.

Selon le tableau 32 les quatre plantes ont donné des masses inférieures à 5g/20g de plante en poudre en extraits sec éthanolique. La Lavande (20.95%) suivie par l'Origan (19.05%) ont donné les proportions les plus élevées.

La Mélisse a donné une proportion moyenne de (16.1%). La proportion la plus faible concerne la Menthe qui est de (15.35%).

Selon (Hafsé *et al.* 2013), ces variations peuvent être dues plusieurs facteurs y compris : l'espèce, la technique d'extraction, les facteurs climatiques, le milieu de récolte et la période de récolte.

Dans notre recherche qui vise de détecter quelques composés phytochimiques à travers un changement de couleur spécifique et des essais de solubilités des constituants.

Le screening nous a autorisés de trouver les différentes familles des composés existants dans les extraits éthanoliques des différentes plantes .Il a indiqué la présence des polyphénols et flavonoïdes dans toutes plantes .Ce qui a été déjà trouvé dans les recherches d'Ullah et son groupe (Ullah *et al.*, 2011).

Nous avons évalué l'activité antioxydante des extraits éthanoliques de la *Melissa officinalis*, *Origanum.vulgare*, *Mentha piperita* et *Lavandula angustifolia* par un test qualitatif du blanchissement de β - carotène.

C'est une méthode simple qui donne des résultats visuellement évidents (Tableau34).

Elle est employée pour un screening initial des différents extraits de plantes suite à leur pouvoir antioxydant (Belhattab, 2007).

Nos résultats montrent que les extraits éthanoliques de la Mélisse et de l'Origan (Figures 87 et 88) présentent un pouvoir antioxydant puissant qui peut être dû aux polyphénols. Par contre la Lavande ne présente aucune une activité (Figure 89). La Menthe nous a montré une activité faible (Figure 86).

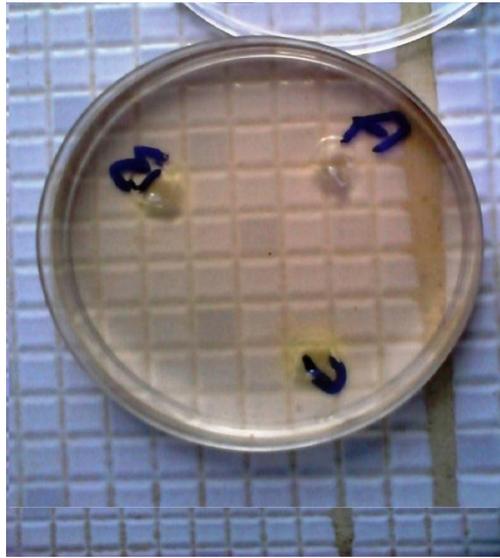


Figure 86 : Blanchissement du β -carotène manifesté par les extraits de La Menthe
(Photo :Adimi,2014).

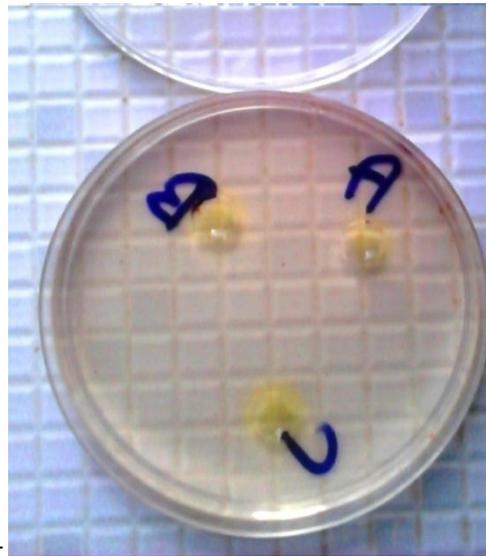


Figure 87 : Blanchissement du β -carotène manifesté par les extraits de La Mélisse
(Photo :Adimi,2014).



Figure 88: Blanchissement du β -carotène manifesté par les extraits de L'Origan
(Photo :Adimi,2014).



Figure 89: Blanchissement du β -carotène manifesté par les extraits de la Lavande
(Photo :Adimi,2014).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Depuis des siècles, la Mélisse est traditionnellement utilisée pour ses propriétés sédatives. Des études sont menées depuis des dizaines d'années afin d'établir si les propriétés de cette plante peuvent être argumentées scientifiquement. Il est donc désormais admis que de nombreux systèmes sont impliqués dans cette activité. La composition chimique de *Melissa officinalis* est très riche, et un nombre important de ses constituants ont été étudiés indépendamment dans le but de déterminer celui ou ceux qui seraient à l'origine de l'action pharmacologique. Plusieurs molécules, telles que le citral et l'acide rosmarinique, jouent un rôle majeur. Des actions anti-inflammatoires, antioxydantes, spasmolytiques, et surtout antimicrobiennes entre autres, ont aussi été démontrées. Des perspectives autres que thérapeutiques ont également été explorées notamment dans le domaine phytosanitaire.

La *Mélisse* a largement prouvé son efficacité. Cependant, il peut être difficile d'utiliser cette plante en thérapeutique car sa composition est extrêmement variable et dépend de nombreux facteurs dont le mode de culture, le lieu, la saison, etc. Or, il est nécessaire d'avoir une constance dans la composition des produits afin d'obtenir un résultat thérapeutique fiable. Peut-être serait-il plus judicieux d'avoir recours aux extraits aqueux, de préférence, car ils sont ceux qui se rapprochent le plus de l'utilisation traditionnelle et qui offrent donc un meilleur recul.

Une étude comparative été faite entre la Mélisse (*Melissa Officinalis*), la Lavande (*Lavandula angustifolia*), l'Origan (*Origanum Vulgar*), et la Menthe (*Mentha Piperita*). Afin de contribuer à la valorisation de l'activité antimicrobienne de la Mélisse, nous avons procédé à l'extraction des huiles essentielles, et macération alcool. Ces préparations ont été testées par la suite sur deux souches bactériennes et deux souches fongiques, Les résultats obtenus lors de cette étude ont montré une action et un degré de sensibilité variables des germes vis-à-vis de ces préparations.

La Mélisse (*Melissa Officinalis*) a révélé une forte activité bactérienne et une bonne activité antifongique sur la levure et une faible activité sur le champignon

L'activité antioxydante des extraits éthanoliques de *Melissa officinalis*, *Origanum vulgare*, *Mentha piperita*, *Lavandula angustifolia* a été évaluée : par un test qualitatif du blanchissement de β - carotène.

La méthode de diffusion du blanchiment du β - carotène dans l'agar est une méthode simple et les résultats sont visuellement évidents. Elle est utilisée pour un screening initial des différents extraits de plantes pour leur pouvoir antioxydant.

Notre objectif était pratiquement atteint mais il est loin d'être terminé. En effet, à la suite de ce travail, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées.

En fin, nous citerons quelques perspectives de la présente recherche:

- Rechercher les constituants bios actifs et efficaces de chaque plante.
- Préparer des médicaments à base de ces plantes.
- Tester ces médicaments in vitro et in vivo.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abigail, R., and Ramírez, Q.C., 2013 - Sashenka Bonilla Rojas E.E. Microbiología General. Après traduction espagnol –français

Adam, K., Sivropoulou, A., and Kokkini S., 1998- Antifungal activities of *Origanum vulgare subsp. Hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia* and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. *J Agric Food Chem* 46: 1739–1745

Adimi, L. Z., 1990 - Activité Antibactérienne de certaines plantes médicinales vis-à-vis d'*Escherichia coli*. Mémoire d'Ingénieur. Université de Sétif, Algérie 72 p.

Adimi, L. Z., 2001 - Etude cinétique de la production de ferments lactiques (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) sur un milieu à base de sous-produits de datte. Thèse de Magister. Université de Sétif, Algérie 77p.

Afssaps, 1998 - Les médicaments à base de plantes (avis aux fabricants) Les groupe de réflexion L'analyse du contenu de l'avis aux fabricants, Cahiers de l'Agence

Ajibesin, K.K., Ekpo, B.A., Bala, D. N., Essien, E. E., and Adesanya, S. A., 2008 - Ethnobotanical survey of Akwa Ibom State of Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology* 115, pp. 387– 408

Ali Delille, L., 2010 - Les plantes médicinales d'Algérie. 2eme édition. Berti Editions p 231.

Allahverdiyev, A., Duran, N., Ozguven, M., and Koltas, S., 2004 - Antiviral activity of the volatile oils of *Melissa officinalis* L. against Herpes simplex virus type-2. *Phytomedicine*. 11(7-8): 57-61 p.

Allyne, C.D. S., Cerli, R. G., and Daniela, S.A., 2004 - Celuta Sales Alviano, Arie Fitzgerald Blank, Péricles Barreto Alves. *Melissa officinalis* L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. Volume 56, Issue 5, pages 677–681.

Anderson, J. G., 1971- The Production of Conidiophores and Conidia by Newly Germinated Conidia of *Aspergillus niger* (Microcycle Conidiation) , *Journal of General Microbiology*. 69,n°2 . pp.185–197.

- Anicic, N.V., Dimitrijevic, S., Ristic, M.S., Petrovic, S.S. and Petrovic, S.D., 2005** - Antimicrobial activity of essential oil of *Melissa officinalis* L., *Lamiaceae*. *Hemijaska industrija*. 59, pp. 243-247 p.
- Anne, S., 2003** - *La phytothérapie se soigner par les plantes*, Groupe Eyrolles.
- Anthony, J.P., Fyfe, L. and Smith, H., 2005** - Plant active components - a resource for antiparasitic agents. *TRENDS in Parasitology* . 21(10)pp56-66.
- Ari, R., and Sezonov, G., 2008** - Les organismes Modèles. *Biologie et génétique d'Escherichia coli*. Berlin. 234-245.
- Asgarpanah, J., and Kazemivash, N., 2012** - Phytochemistry, pharmacology and medicinal properties of *Coriandrum sativum* L. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 6(31): 340-234 p.
- Awad, R., Muhammad, A., Durst, T., Trudeau, V.L., and Arnason, J.T., 2009** - Bioassay-guided fractionation of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) using an in vitro measure of GABA transaminase activity. *Phytother Res*. 23(8): 75-81 p.
- Babulka, P., 2005** - La Mélisse (*Melissa officinalis* L.)- *Phytothérapie*, 3, pp. 114-111.
- Bah, S., Diallo, D., Dembele, S., and Paulsen, B.S., 2006** - Ethnopharmacological survey of plants used for the treatment of schistosomiasis in Niono District, Mali. *Journal of Ethnopharmacology*, 105, pp. 387 – 399.
- Bahtiyarca, B.R., and Cosge, B., 2006** - The essential oil of lemon balm (*Melissa officinalis* L.), its components and using fields - *OMÜ Zir. Fak. Dergisi*, 21 (1) – pp. 116 - 121.
- Balasuriya, B. W. N., and Rupasinghe, H. P. V., 2011** - Plant flavonoids as angiotensin converting enzyme inhibitors in regulation of hypertension. *Functional Foods in Health and Disease* 5, pp. 172-188.
- Ballard, C.G., O'Brien, J.T., Reichelt, K., and Perry, E.K., 2002** - Aromatherapy as a safe and effective treatment for the management of agitation in severe dementia: the results of a double-blind, placebo-controlled trial with *Melissa*. *J Clin Psychiatry*. 63(7)pp53-58

- Belhattab, R., 2007** - Composition chimique et activité antioxydante, antifongique et aflatoxinogène d'extraits d'*Origanum glandulosum* Desf et *Marrubium vulgare* L.(Famille des Lamiaceae).Thèse de Doctorat d'état . Université de Sétif, Algérie .
- Bennett, R.J., and Johnson, A.D., 2005** - Mating in *Candida albicans* and the search for a sexual cycle. *Annu rev Microbiol.*59, pp.233-255.
- Biyiti,L.F., Meko'o, D. J. L., Tamze, V., and Amvam Zollo, P.H , 2004** - Recherche de l'Activité Antibactérienne de Quatre Plantes Médicinales Camerounaises.*Pharm.Méd.Trad.Afr.*13, pp.11-20.
- Bolkent,S.,Yanardag,R., Karabulut-Bulan, O., and Yesilyaprak, B., (2005).** Protective role of *Melissa officinalis* L. extract on liver of hyperlipidemic rats: a morphological and biochemical study - *J Ethnopharmacol*, 99 - pp. 391-398.
- Botton,B.,Breton,A.,Fevre,M.,Gauthier,S.,Guy,P.,Larpent,J.P.,Reymond,P.,Sanglier,J .J.,Vyssier,Y.,and Veau, P., 1990** - Moisissures Utiles Et Nuisibles. Importance industrielle. Masson. Paris. pp.108- 299.
- Botton,B.,Breton,A.,Fevre,M.,Gauthier,S.,Guy,P.,Larpent,J.P.,Reymond,P.,Sanglier,J .J.,Vyssier,Y.,and Veau,P.,1999**-Moisissures Utiles Et Nuisibles .Importance industrielle .Masson.Paris.P12-426.
- Bouchet, P.H.,Guignard,J.L.,and Villard, J., 1999** - Les champignons: Mycologie Fondamentale et Appliquée. Paris-Masson.194p.
- Braden, R., Reichow, S., and Halm, M.A., 2009** - *J Perianesth Nurs* The use of the essential oil lavandin to reduce preoperative anxiety in surgical patients, 24(6) 48-55p
- Bruneton, J., 2009** - *Menthe in : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 4^e éd., Tec et Doc, Paris, pp. 631-638.
- Calzada, F., Yépez-Mulia L., and Aguilar, A., 2006** - *In vitro* susceptibility of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* to plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology* **108**, pp. 367–370.
- Cambau, E., 2013** - Le Monde des bactéries 2: Le diagnostic bactériologique. Cours L3.Université de Paris7.

- Carnat, A. P., Carnat, A., Fraisse, D. and Lamaison, J. L., 1998** - *The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) tea* - Pharm Acta Helv, 72 , pp. 301-305.
- Cerny, A., and Schmid, K., 1999** - Tolerability and efficacy of valerian/lemon balm in healthy volunteers (a double-blind, placebo-controlled, multicentre study). *Fitoterapia*.70, pp. 221–228.
- Chami, F., 2005** - Evaluation in vitro de l'action antifongique des huiles essentielles d'Origan et de Girofle et de leurs composés majoritaires in vivo .-Thèse de doctorat Université Sidi Mohamed Ben Adb Allah ,Faculté des Sciences Dhar Mahrez ,Fes Tunisie
- Cohen, M., 2013** – Laboratoire d'analyse médicale.Maloine.3. Paris.
- Dastmalchi, K., Dorman, H.J.D., Oinonen, P.P., Darwis, Y., Laakso, I., and Hiltunen, R., 2008** - Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract - LWT, 41 - pp. 391–400.
- Debuigne, G., 1984** - Larousse des plantes qui guérissent .Edition Librairie Larousse. 254p.
- Debuigne, G., and Couplan, F., 2009** - Petit Larousse des plantes médicinales, paris, Larousse. 106-127 p 383.
- Delachaux, N and Niestlé, S.A., 2008** - 350 plantes médicinales les indispensables nature de Delachaux paris p 256
- Denner, S.S., 2009** - *Lavandula angustifolia* Miller: English lavender. Holist Nurs Pract. 23(1), pp. 57-64.
- Diallo, D., 2000** - **ethnopharmacological** survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four them: *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (mimosaceae), *Trichilia emetica* (Meliaceae). Thèse de doctorat Lausanne, Suisse, 221 P.
- Dorosz, P., Vital Durand ,D., and Le Jeune, C., 2011** - Guide pratique des médicaments - 30ème édition - Paris : Maloine - 1892 p.

- Dressing, H., and Riemann, D., 1992** - Insomnia: Are valerian/balm combinations of equal value to benzodiazepine ?(translated from German) *Therapiewoche*.42:pp. 726–736.
- Dumitrescu,O.,Boisset,S .,BAdiou,C .,Bes,M.,Benito,y.,Reverdy,M.E.,Vandenesch, F.,Etienne,J.,andLina, G ., 2007** - Effect of antibiotics on *Staphylococcus aureus* Producing Panton-Valentine Leukocidin.Antimicrobial Agent and chemotherapy. 9 ,pp. 100-115.
- Duraffourd, C., Lapraz J.C., 2002** - Traité de Phytothérapie clinique. Endobiogénie et Médecine. Ed. Masson. Paris.p864
- Elika., 2013** - www.elika.net.
- Elisabetsky, E., Brum, L.F., and Souza, D.O.,1999** - Anticonvulsant properties of linalool in glutamate-related seizure models. *Phytomedicine*. May;6(2):pp107-13.
- Emamghoreishi,M.,and Talebienpour,M.S., 2009** – Antidepressant effect of *Melissa officinalis* in the forced swimming test - *DARU J Pharm Sci*, 17 (1) - pp. 42-47
- Fauron, R., and Roux, D., 1989** - La phytothérapie en officine: de la vitrine au conseil. Paris: Ed. du Porphyre. 314p.
- Filho, A.A.S., Costa, E. S., Cunha, W.R., da Silva, M.L. A., Nanayakkara, N. P. D. and Bastos,J.K., 2008** - *In vitro* Antileishmanial and Antimalarial Activities of,Tetrahydrofuran Lignans isolated from *Nectandra megapotamica* (Lauraceae). *Phytother. Res.* **22**, pp. 1307–1310.
- Fritz, S. A., Garbutt, J., El Ward, A., Shannon, W., and Storch, G. A. ,2008** - Prevalence of and risk factors for community –acquired methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* colonization in children seen in a practise based research net work .*Pediatrics* 121(6) :1090-8-doi :10.1542 /
- Gedney, J.J., Glover, T.L., Fillingim, R.B., 2004** - Sensory and affective pain discrimination after inhalation of essential oils. *Psychosom Med*. Jul-Aug;66(4): pp.599-606
- Geuenich, S., Goffinet, C., Venzke,S., Nolkemper, S., Baumann, I., Plinkert, P., Reichling, J., and Keppler, O. T., 2008** - Aqueous extracts from peppermint, sage and lemon balm leaves display potent anti-HIV-1 activity by increasing the virion density - *Retrovirology*, 5 ,27p.

Ghelardini, C., Galeotti, N., Salvatore, G., and Mazzanti, G., 1999 - Local anaesthetic activity of the essential oil of *Lavandula angustifolia*. *Planta Med.* Dec;65(8):700-3

Girre, L.,1992 - La santé par les plantes.Rennes: Ouest-France, 221p.

Grigoleit,H.G., and Grigoleit, P., 2005 - Peppermint oil in irritable bowel syndrome. *Phytomedicin.*; 12(8)-601-6. Aug.

Hafsé, M., Benbrahim, K. F., AbderrahimSaidi, A. and Farah, A. ,2013 - Volatile Components and Antibacterial Profile of Essential Oils Extracted from Leaves and Twigs of *Pistacia lentiscus* L. *British Microbiology Research Journal* 3(4).

Hannan,A.,Karan,S.,and Chatterjee,T.K.A., 2012 - Comparative Study of in vitro Antioxydant Activity Of Different Extract Of Areca Seed Collected From *Areca catechu* Plant Grown In Assam.*International Journal Of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4(2):.pp. 420-427.

Herman, J. P., 2007- Genome sequencing and analysis of the versatile cell factory *Aspergillus niger* CBS 25(2), pp. 221–231.

Holmes, C., and Hopkins, V., 2002 - Lavender oil as a treatment for agitated behaviour in severe dementia: a placebo controlled study.*Int J Geriatr Psychiatry*;17 (4):305-8.

Inoue,T., Sugimoto,Y.,Masuda,H., Kamei,C., 2001 - *Effects of peppermint (Mentha piperita L.)extracts on experimental allergic rhinitis in rats.* *Biol Pharm Bull.*;24(1):pp92-5 .

Iranshahi, M., Arfa, P., Ramezani, M., Jaafari, M. R., Sadeghian, H., Bassarello, C., Piacente, S.,and Pizza, C., 2007 - Sesquiterpene coumarins from *Ferula szowitsiana* and in vitro antileishmanial activity of 7-prenyloxycoumarins against promastigotes. *Phytochemistry*, **68**, pp. 554–561.

Iserin, P.,2001 -Larousse des plantes médicinales Paris.Larousse, p. 6-8-110-115-116-242 .

Jayasena, T., Poljakb, A., Smytheb, G., Braidya N., Münchd G., Sachdeva P. , 2013 - The role of polyphenols in the modulation of sirtuins and other pathways involved in Alzheimer's disease.*Ageing Research.Reviews.*<http://dx.doi.org/10.1016/j.arr.2013.06.003>.mized controlled trials of flavonoid – rich food products. *Mol. Nutr. Food Res* 00: 1-12.

John, I.P., and Ailsa, D., 2009 - Hocking, Fungi and Food Spoilage, Springer, 2009-07-25 (ISBN) 9780387922072.

Jourdain,D., 1997 - Dictionnaire des plantes médicinales, Québec, Quebecor, P 120-122-136 .

Julve, P., 2013 - Tela Botanica Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France par Benoît Bock BDNFF (4)02

Kabir,M.A.,Hussain,M.A.,and Ahmad,Z. , 2012 - *Candida albicans* :A Model Organism for Studying Fungal Pathgens.ISRN Microbiology.p :53-86-94.

Katzung, B. G., 2006 - Pharmacologie fondamentale et clinique - 9ème édition - Padoue : Piccin Nuova Libreria - 1169 P.

Khaldi, A., Meddah, B., Moussaoui, A.,and Benmehdi, H., 2012 - Screening phytochimique et effet antifongique de certains extraits de plantes sur le développement in vitro des moisissures.

Khoddami, A., Wilkes, M. A., and Roberts, T. H., 2013 - Techniques for analysis of plant phenolic compounds. Molecules 18: 2328-2375.

Kim, H.M., and Cho, S.H., 1999 - Lavender oil inhibits immediate-type allergic reaction in mice and rats. J Pharm Pharmacol. Feb;51(2):221-6.

Kim, M. H., Bae, S., Kim, Y., Cho, C., Kim ,S. J., Kim, Y., Lee, S., Kim, H., Hwang, Y., Kang, J. S.and Lee, W. J., 2013 - Vitamin C prevents the stress-induced damages on the heart caused by the death of cardiomyocytes, through the down-regulation of the excessive production of catecholamine, TNF- α and ROS production in Gulo(-/-)Vit C-Insufficient.Free radical biology and medicine.

Kothe,H.W., 2007 - 1000 Plantes aromatiques et médicinales. Terres Editions.ISBN:978-2-35530-pp003-5.

Lamina, S., Ezema, C. I., Theresa, A. I., and Anthonia, E. U. ,2013 - Effects of free radicals and antioxidants on exercise performance. Oxidants and Antioxidants in Medical Science 2(2): pp.83-91.

Larrondo, J.V., Agut, M., and Calvo-Torras, M.A., 1995 - Antimicrobial activity of essences from labiates. Microbios.;82(332):171-2.

- Laverdière, M., 2006** - Progressive loss of echinocandin activity following prolonged use for treatment of *Candida albicans* oesophagitis. J Antimicrob Chemother. (57) pp.705-708.
- Lee, SH., Hava, D. L., Waldor, M.K., and Camilli, A.,1999-** Regulation and temporal expression patterns of *Vibrio cholerae* virulence genes during infection.J.M.S.12:3-5.
- Leslev, B., (2005).** Plantes aromatiques et médicinales. Paris, l'œil nature.pp. 112-197.
- Lopez,V.,Martin,S., Gomez-Serranillos, M. P., Carretero, M.E.,Jager, A. K., and Calvo, M.I., 2009** - Neuroprotective and neurological properties of *Melissa officinalis* - Neurochem Res, 34 - pp. 1955-1961.
- Luthria, D. L., Mukhopadhyay, S. and Krizek, D. T. 2006** - Content of total phenolics and phenolic acids in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation. Journal of Food Composition and Analysis 19:pp. 771-777.
- Mahmoudi, S., khali, M., and Mahmoudi, N., 2013** - Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Nature & Technologie 9:pp. 35-40.
- Manach, C.,Scalbert,A.,Morand,C.,and Jimenez,I., 2004** - Polyphenols:Foods soueces and bioavaibility . *Am J Clin Nutr* 79:pp.727-747.
- Marchal ,V., 2003** - DCEM1Service bactériologie faculté de médecine Pierre et Marie Curie, .pp.35-71.
- Mimica-Dukic, N., and Bozin, B., 2003** - Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha* species essential oils.Planta al. Med. 69(5):413-9 ;May.
- Mimica-Dukic, N., Bozin, B., Sokovic, M.,and Simin, N., 2004** - Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (*Lamiaceae*) essential oil. J Agric Food Chem. May 5; 52(9):248 pp5-9.
- Motomura, N., Sakurai, A., and Yotsuya, Y., 2001** - .Reduction of mental stress with lavender odorant.Percept Mot Skills. Dec;93(3):713-8.

- Muller, S.F., and Klement, S. A., 2006** - Combination of valerian and lemon balm is effective in the treatment of restlessness and dyssomnia in children. *Phytomedicine*. Jun;13(6):383-7
- Muthu, C., Ayyanar, M., Raja, N., and Ignacimuthu, S., 2006** - Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, **2:43**,10.1186/1746-4269-2-43.
- Mylottre, JM., McDermott, C and Spooone, JA. 1987** - Prospective Study of 114 consecutive episodes of *Staphylococcus aureus bacterimia*.Oxford Journals(Medecine and Health)Clinical Infectious Diseases.Volume 9 - 5 pp.891-907.
- Nadji, B., 2010** - Dérivés phénolique à activités antiathérogènes - Thèse de doctorat : Chimie - Biologie - Santé, Université de Toulouse - 244 p.
- Neda, M.D., Biljana, B., Marina,S., and Satana, S., 2004** - Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L (*Lamiaceae*) Essential oil.Agric.Food Chim. (52) pp. 2485-2489
- OMS 1999a** - WHO monographs on selected medicinal plants - Volume 2 - Genève : Organisation Mondiale de la Santé (OMS) P.357.
- OMS 2011a** - .Dix faits et chiffres sur le VIH/sida [En ligne] - <http://www.who.int/features/factfiles/hiv/fr/index.html> (consulté le 21 mars 2012).
- Oussalah,M., Caillet,S.,Saucier,L.,and Lacroix,M., 2007** - .Inhibitory effects ofselected plant essential oils on four pathogen bacteria growth: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 18 (5), pp.414-420.
- Papas, A. M., 2008** - Vitamin E: A new perspective. *Nutri news*. 9(1): pp1-7.
- Philippe, C., 2013** - .Manuel d'hydrodistillation. Sciences.com / fiches2d/fiche5/fiche5.php.
- Quezel, P .,and Santa, S., 1962/1963** - Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Vol.1-2.Paris, C,N,R,S. 1170p.
- Raper,K. B., and Fennel, D. I. , 1977** - The Genus *Aspergillus*.Krieyer Malabar. Florida, 68 p.
- Raymond, Dextreit.,(1984)**. la curve végétale,Paris, vivre en harmonie, P.48 .
- Ripert,C., 2013** - Mycologie médicale, Lavoisier.2013-04-23(ISBN 9782743064884).

Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K. A., and Khalel, K. I., 2013 - Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products* 43:pp.827-831.

Rodrigues, E.,2007 - Plants of restricted use indicated by three cultures in Brazil (Caboclo-river dweller, Indian and Quilombola).*Journal of Ethnopharmacology* (**111**) pp.295–302.

Roller, S., Ernest, N., and Buckle, J., 2009 - The antimicrobial activity of high-necrodane and other lavender oils on methicillin-sensitive and -resistant *Staphylococcus aureus* (MSSA and MRSA).*JAltComplement Med. Mar*;15(3):pp275-9.

Ruchika,S., Meenu K., Srivastava, P.S.X., and Qazi, G.N.,2009 - Approaches for refining heterologous protein production in filamentous fungi.*World Journal of Microbiology and Biotechnology* (25)pp. 2083-2094.

Sadraei, H., Ghannadi, A., Malekshahi, K., 2003 - Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on rat ileum contractions. *Fitoterapia. Jul*;74(5):pp445-52.

Salle, J.L.,(1991).Le totum en phytothérapie: approche de phyto-biothérapie. Paris: Frison-Roche. 239p.

Samson, R.A., Houbraken, J., Summerbell , R.C., Flannigan, B., Miller, J.D., 2001 - Common and important species of fungi and actinomycetes in indoor environments. In: *Microorganisms in Home and Indoor Work Environments*. New York: Taylor & Francis. pp. 287–292.

Sanders, T., and Emery, P., 2003 - Molecular basis of human nutrition. Ed: Taylor & Francis.pp:7,107.

Savini, I., Catani, M. V., Evangelista, D., Gasperi, V., and Avigliano, L., 2013 - Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. *Int. J. Mol. Sci.*(14) pp.10497-10538.

Savino, F., and Cresi, F., 2005 - A randomized double-blind placebo-controlled trial of a standardized extract of *Matricariae recutita*, *Foeniculum vulgare* and *Melissa officinalis* (ColiMil) in the treatment of breastfed colicky infants. *Phytother Res.* Apr;19(4):pp335-40.

Schenone, S., Brullo, C., Bruno, O., Bondavalli, F., Ranise, A., Filippelli, W., Rinaldi, B., Capuano, A., and Falcone, G., 2006 - New 1, 3, 4-thiadiazole derivatives endowed with analgesic and anti-inflammatory activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* (14) pp.1698–1705.

Schnitzler,P., Schuhmacher, A., Astani, A.,and Reichling, J.,2004 - *Melissa officinalis* oil affects infectivity of enveloped herpesviruses. *Phytomedicine*, (15)pp. 734-740.

Schuster, E., Dunn-Coleman, N., Frisvad, J.C., and VanDijck, P.w. 2002 - On the safety of *Aspergillus niger* .*App Microbiol Biotechnol* 59(4-5) :426.35 .Epub June 25.

Segal, B.H., 2009 - Aspergillosis. *N Eng Med* 360 :1870-1884Pub Med.

Sereme, A., Millogo-Rasolodimby, J., Guinko, S. and Nacro, M.; 2010 - Anatomie et concentration des tanins des plantes tanniferes du Burkina Faso. *Journal des Sciences*. 10 (2): pp.24-32.

Sheppard, D.C., Park, S., and Perlin, D. S., 2004 - Functional and structural diversity in the Als protein family of *Candida albicans* .*J Biol Chem.*; 279: 30480-9.PMID 15128742.

Shiina, Y., Funabashi, N., Lee, K., Toyoda, T., Sekine, T., Honjo, S., Hasegawa, R., Kawata, T., Wakatsuki, Y., Hayashi, S., Murakami, S., Koike, K., Daimon, M., and Komuro,I., 2008 - Relaxation effects of lavender aromatherapy improve coronary flow velocity reserve in healthy men evaluated by transthoracic Doppler echocardiography. *Int J Cardiol*. Sep 26;129(2):193-7.

Soliman, M. F.M.,and Ibrahim, M., M. 2005 -Antischistosomal action of atorvastatin alone and concurrently with medroxyprogesterone acetate on *Schistosoma haematobium* harboured in hamster: surface ultrastructure and parasitological study. *Acta Tropica*, (93) pp.1 – 9.

Sonboli, A., Babakhani, B., Mehrabian, A.R., 2006 - Antimicrobial activity of six constituents of essential oil from *Salvia*. *Z Naturforsch C*. Mar-Apr;61(3-4):160-4.

Stankovic,M..S., 2011 - Total phenolic content,flavonoid concentration and antioxydant activity of *Marrubium peregrinum* L.Extracts Kragujevac *Journal Science* (33) pp.63-72.

Talbert,M., Willoquet,G., and Gervais,R., 2008 - Guide Pharmaco : Pharmaciens et étudiants en pharmacie - 8ème édition - Rueil-Malmaison: Wolters Kluwer France- 1285

Tapas, A. R., Sakarkar, D. M., and Kakde, R. B., 2008 - Flavonoids as nutraceuticals: A review.Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 7(3):pp. 1089-1099

Teresa,M., Patrizia,P.,Carla, S., and Rita, A., (2007).Triterpen,antioxidant and antimicrobial compouds from *Melissa officinalis*.J.nat .Prod.pp.1889-1894.

Thoby,C., 2009 - La mélisse officinale, *Melissa officinalis* L.Thèse d'exercice : Pharmacie, Université de Nantes.(18) 136 p.

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G. and Kaur, H., 2011- Phytochemical screening and Extraction: A Review. Internationale Pharmaceutica Scientia 1(1): pp.98-106.

Tzung, K.W., 2001- Genomic evidence for a complete sexual cycle in *Candida albicans*.ProcNatlAcadSci USA 98: pp.3249-3253.

Ullah, N., Khurram, M., AliKhan, F., UmarKhayyam, S., Amin, M. U., Ullah, S., Najeeb, U.,Muhammad, S., Hussain, J., and Khan, M. A. 2011 - Estimation of phytochemicals and antimicrobial activities of *Mentha spicata* from southern districts of KPK. Journal of Applied Pharmaceutical Science 01(07):pp. 81-84.

Umezu, T., Nagano, K., Ito, H., Kosakai, K., Sakaniwa, M., and Morita, M., 2006 - Anticonflict effects of lavender oil and identification of its active constituents. Pharmacol Biochem Behav. Dec;85(4):713-21.

Vincent,R.,1999/2000 - Abécédaire de Phytothérapie. Le Livre de Poche p639.

Vogel, A., 2013 - Pionnier de la naturopathie. www.avogel.ca/fr/avogel-monde/

Weizman, Z., and Alkrinawi, S.,1993 - Efficacy of herbal tea preparation in infantile colic.*J Pediatr.* Apr;122(4):650-2

Wichtl,M., and Anton,R., 1999 - Plantes thérapeutiques: traditions, pratiques officinales, science et thérapeutique. Paris: Tec&Doc,636p.

Wolfgang,H., 2008 -350 plantes médicinales, Paris ,Délachaux et Niestlé SA, pp. 53-150.

Zepelin, M., Beggah, S., Boggian, K., Sanglard, D., and Monod, M., 1998 - The expression of the secreted aspartyl proteinases Sap4 to Sap6 from *Candida albicans* in murine macrophages » MolMicrobiol.(28) pp.543-554

Zhu, Q., Qian, Y., Zheng, Z. P., Lo., C., Chen, F., and Wang, M., 2012 - Natural polyphenols alleviated lipid peroxidation –induced modification on BSA .*Journal of functional foods*.j.jff.2012.11.006.

Sites d'internet :

- <http://fr.wikipedia.org/>
- http://fr.wikipedia.org/wiki/Lavandula_angustifolia
- <http://www.wikiphyto.org/wiki/Origan>
- <http://microcsb.net/IMG/pdf/doc1-6.pdf>Petit

ANNEXES

Définitions

- **Antibactérien** : qualifie tout ce qui sert à lutter contre les bactéries.
- **Anti fongique** : (antimycosique) est un médicament utilisé pour traiter les mycoses.
- **Anti-inflammatoire** : Soulage les inflammations
- **Antioxydant** : au cours des réactions chimiques qui se produisent dans notre corps, se forment des substances appelées « radicaux libres » qui peuvent endommager les cellules. Certains sels minéraux (le sélénium ou le zinc, par exemple) et certaines vitamines (C, E et bêta-carotènes) sont connus pour contribuer à neutraliser les radicaux libres : ce sont des antioxydants. Ils participaient également au renforcement de défenses immunitaires. Ils sont apportés en quantité suffisante par une alimentation équilibrée et riche en végétaux.
- **Anxiolytique** : qui diminue l'anxiété
- **Chloramphénicol** : Antibiotique bactériostatique de la famille des phénicolés. Cet antibiotique à large spectre interfère dans la synthèse protéique bactérienne.
- **Drogue (végétale)** : Les drogues végétales sont essentiellement des plantes, parties de plantes ou algues, champignons, lichens, entiers, fragmentés ou brisés, utilisés en l'état, soit le plus souvent sous forme desséchée, soit à l'état frais. [...] Les drogues végétales doivent être définies avec précision par la dénomination scientifique botanique selon le système binomial (genre, espèce, variété, auteur).
- **Huile essentielle** : "Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition" (DEQM, 2011).

- **Hyphes**: Structure filamenteuse d'un diamètre variant selon les espèces (d'environ 3 à 10 microns) faite de cellules mycétales juxtaposées. Les filaments peuvent être cloisonnés (septés) ou non (cellules coenocytiques).
- **Levure** : Champignon unicellulaire (à au moins un moment de son cycle de développement) se reproduisant par bourgeonnement ; les principales levures pathogènes en médecine humaine sont *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans*. *C. albicans* peut se présenter sous forme de blastoconidie (état commensal) ou sous forme filamenteuse (état parasitaire)
- **Médicament** : Art. 5111-1 du Code de la Santé publique – On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique .
- **Mycélium** : Ensemble de filaments.
- **Mycète** : Synonyme de champignon.
- **Phytothérapie** : traitement des pathologies par les plantes.
- **Sabouraud** : La gélose de Sabouraud constitue un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes. On y ajoute parfois des antibiotiques (gentamycine et chloramphénicol) pour inhiber la croissance des bactéries qui auraient contaminé le milieu.
- **Spasmolytique** : Fait baisser la tension et soulage les spasmes musculaires
- **Vivace** : se dit d'une plante dont le cycle est supérieur à deux ans et pouvant produire plusieurs floraisons.

Milieux et réactifs

BOUILLON NUTRITIF

Peptone.....	10g
Extrait de viande.....	5g
chlorure de sodium (facultative selon la formule).....	5g
PH	7,2

Eau physiologique : (= sérum physiologique)

Chlorure de sodium	8,5 g
Eau distillée	1L

GÉLOSE MUELLER-HINTON

Infusion de viande de bœuf.....	300ml
Peptone de caséine.....	17,5g
Agar.....	10g
pH.....	7,4

GÉLOSE SABOURAUD GLUCOSE

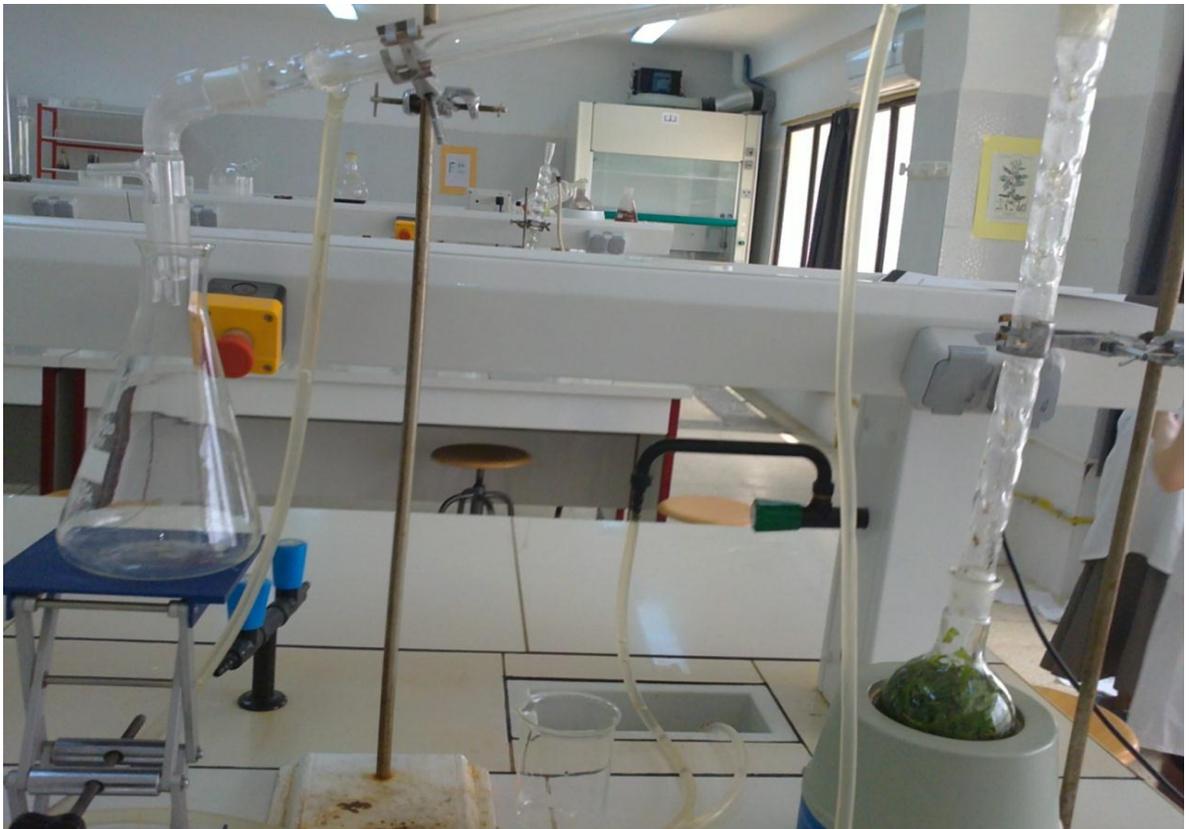
Neopeptone.....	10g
Glucose.....	40g
Agar.....	15g
Eau.....	1000ml
pH final.....	5,6

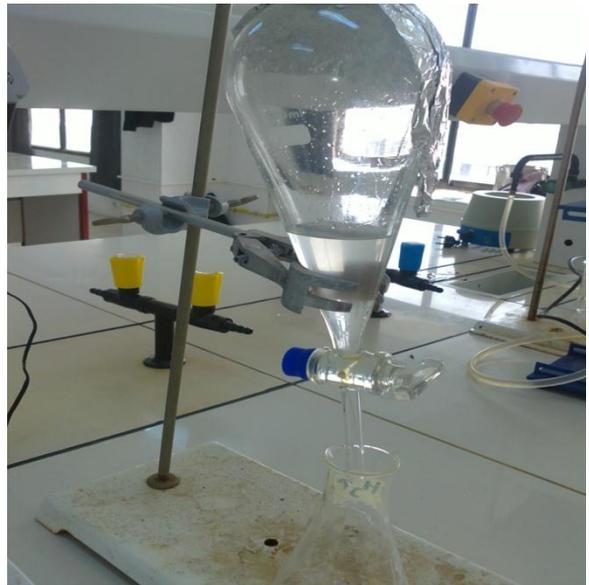
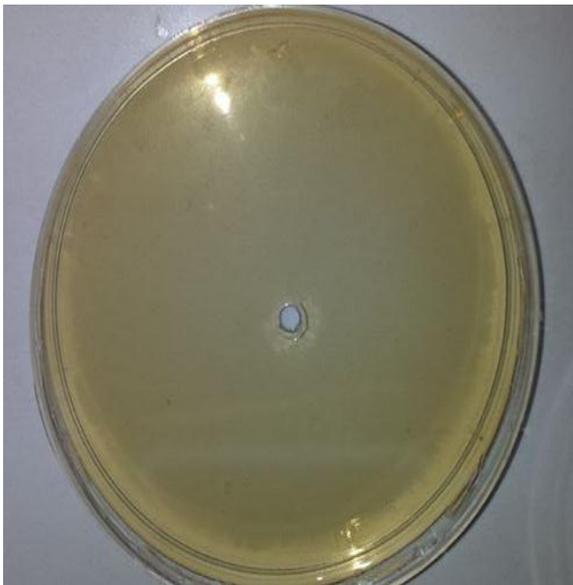
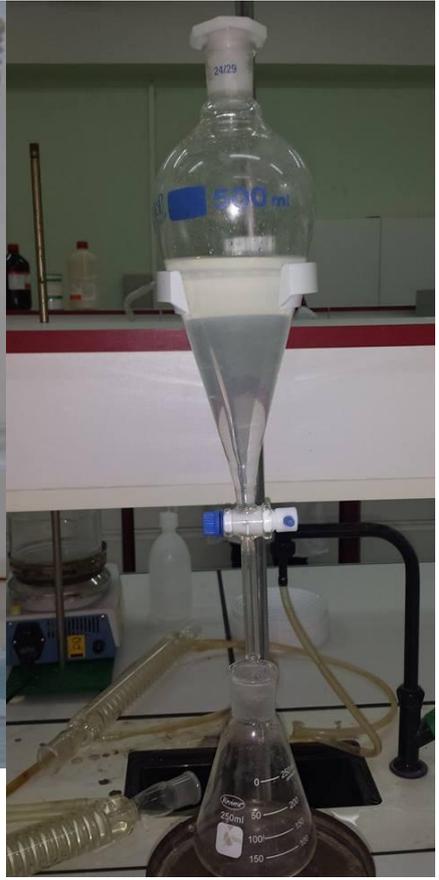
GÉLOSE SABOURAUD GLUCOSE MODIFIÉE + CHLORAMPHÉNICOL

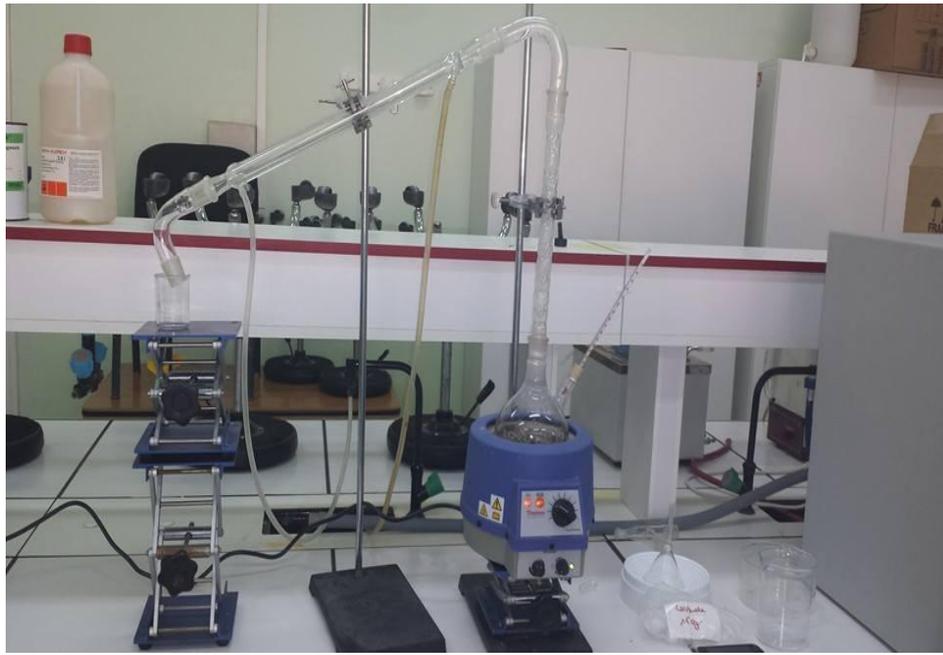
Neopeptone, Difco.....	10g
Glucose.....	20g
Agar.....	20g
Chloramphénicol (dilué dans 10 ml d'acétone).....	0,050g
Eau	1000ml
pH final.....	7,0

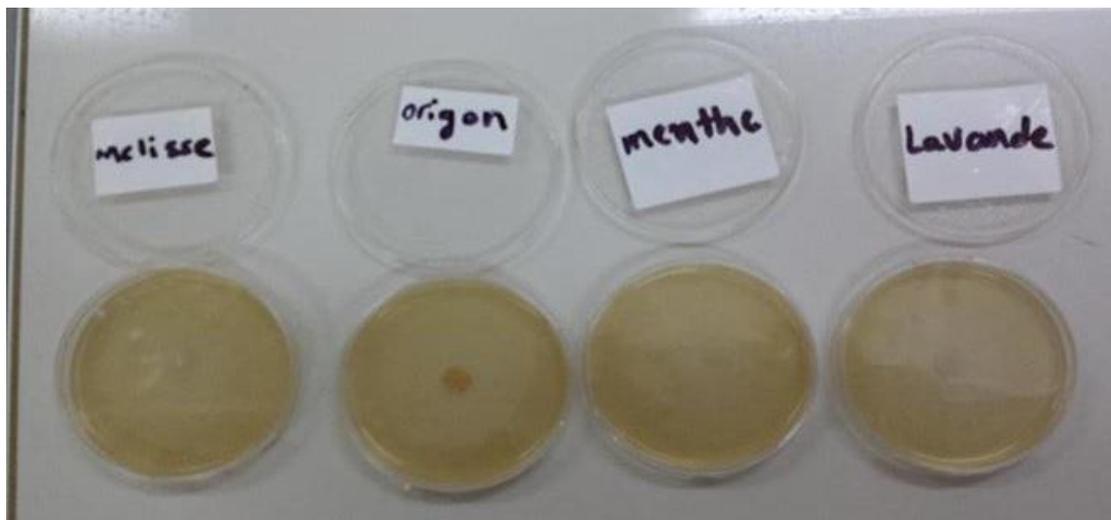
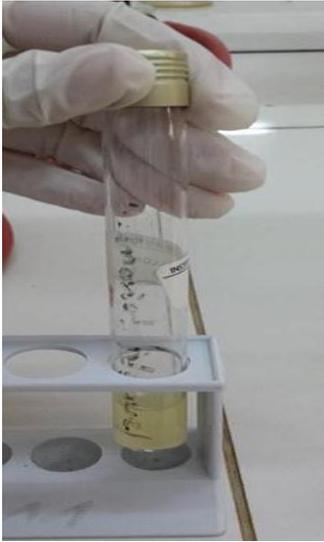
PHOTOTHEQUE (Adimi,2013,2014 et 2016)



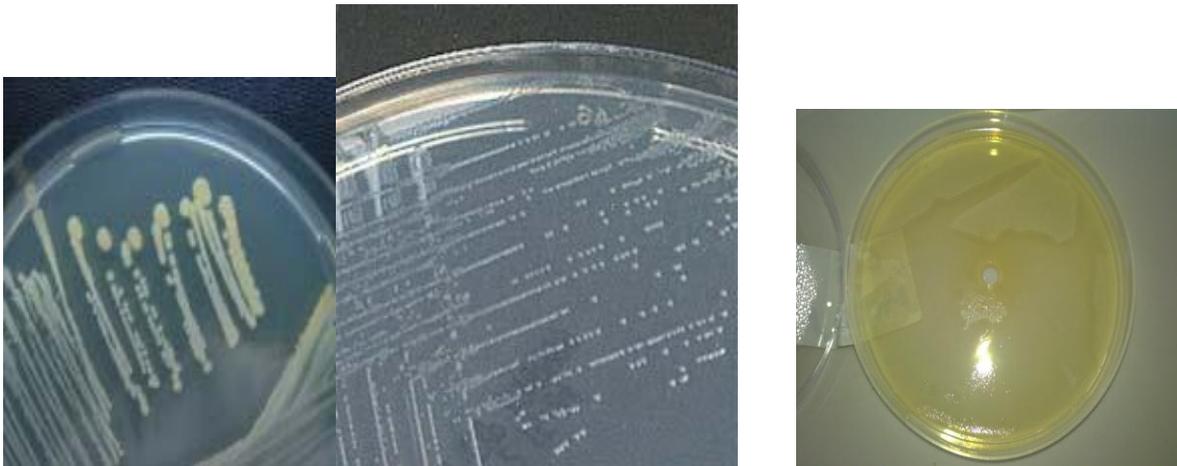


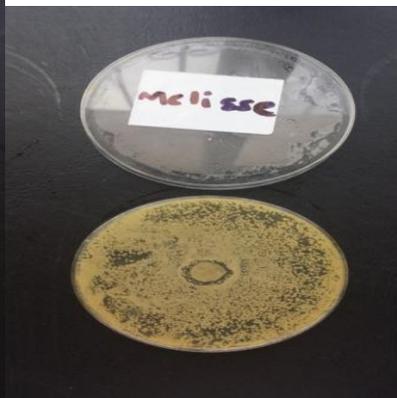
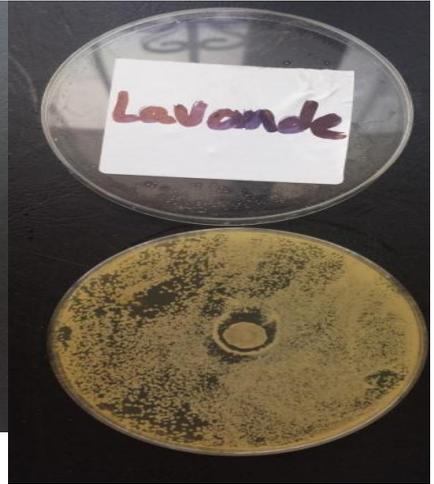
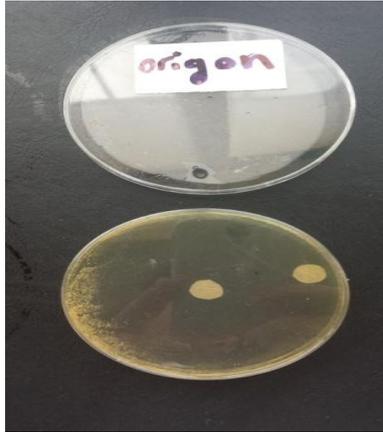




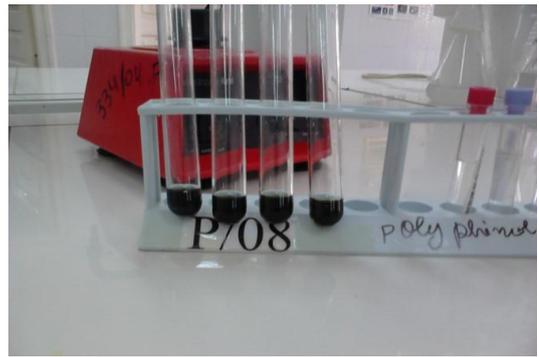












PRODUCTION SCIENTIFIQUE

COMPARATIVE STUDY: THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MELISSA IN RELATIONS TO OTHER PLANTS IN THE REGION OF SETIF, ALGERIA

Adimi L. Z.
Guechi A.
Laidoudi O.
Chelil S.
Kicheh I.

Laboratory of applied Microbiology, Faculty of nature and life sciences
University of Ferhat Abbas, Setif1, Algeria

Abstract

Antibacterial properties of essential oils, hydro ethanoicextracts, and aqueous bactericidal extracts of four medical plants, known for their therapeutic effects: *Melissa officinalis* , *Origanum vulgare* , *Lavandula angustifolia* and *Mentha piperita*. The last three are largely used in Algeria; however, *Melissa* appears to be less famous. The following work has been executed in a laboratory for the purpose of, yet again, revealing and confirming the benefits of *Melissa*, and comparing it to other plants. Two microorganisms have been used: *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Using the method of Aromatogram with essential oils, *Melissa* was active the most with zones of inhibition of 8 mm for *Escherichia coli* and 7 mm for *Staphylococcus aureus*. Applying the same method for hydro ethanoicextracts, *Melissa* was effective the most with a 50 mm zone of inhibition for *Escherichia coli*, followed by mint (40 mm zone of inhibition). As for *Staphylococcus aureus*, *Melissa* presented a 14 mm zone of inhibition, while mint displayed a zone of inhibition of 13 mm. Using the bioassay method with essential oils, *Melissa* has the best effect with a 40 mm zone of inhibition for *Escherichia coli* and 35mm for *Staphylococcus aureus*. Always with the same technique but with hydro ethanoicextracts, both *Melissa* and Mint presented the best inhibition value of 50 mm for *Escherichia coli*. As for *Staphylococcus aureus*, *Melissa* presented a 26 mm zone of inhibition, followed by mint with 24 mm. For the spectrophotometry technique, almost all four plants, with their aqueous extracts, presented an antibacterial activity for both bacteria. These results confirm the strong anti-

bacterial and bactericidal activity of the four plants, especially *Melissa*, and their diverse traditional use.

Keywords: *Melissa officinalis*, *Origanum vulgare*, *Lavandula angustifolia*, *Mentha piperita*, antibacterial activity, essential oils

Introduction

Today, according to the World Health Organization (WHO), nearly 80% of the population depend on traditional medicine for primary health care (Muthu and al., 2006).

In recent decades, there has been a growing interest in the study of medicinal plants and their traditional use in different parts of the world, because the important problems have accompanied the treatment of disease by conventional drugs, for examples: their inaccessibility especially because of their high costs, progressive resistance of the pathogen vis-à-vis the active substances and the manifestation of severe side effects or even toxic in some cases. (Bah and al., 2006). Hence the need for a valuation of traditional medicine.

Among the medicinal plants found balm that is consumed by humans since ancient times for its sedative and relaxing virtues antioxidants ... etc. But *Melissa* is a bit neglected by our community.

The aim of our work is to demonstrate and approve the antibacterial effects of balm and compared with three other plants in the Setif region, and are *Oregano*, *Lavender* and *Mint* (Table 1)

It is essential to test the oil and aqueous extracts of these ethanoic four plants in vitro on the growth of certain microorganisms and to deduce the best plant with its powerful bacterial effect.

Table 1: Studied medicinal plants

Botanical name	used Organs	Some uses
<i>Melissa officinalis</i>	Aerial parts (leaves)	Nervousness and sleep disturbances - Gastrointestinal disorders (Babulka.,2005) - Anti-herpes activity (Schnitzler and al., 2004)
<i>Origanum vulgare</i>	Aerial parts (leaves + flowers)	- Toned stomach - Expectorant and sedative - Antiseptic (Daniel., 1997)
<i>Lavandula angustifolia</i>	Aerial parts (leaves + Flowering tops)	- analgesic - anti-inflammatory - antibacterial (Umezu and al., 2006)
<i>Mentha piperita</i>	Aerial parts (leaves)	antispasmodic antiseptic (Girre., 1992)

Materials and methods

Plant Material

Plants {Table 1} were collected from the surroundings of County of Setif (village of Beni Aziz)

The botanical identification was carried out in the Botanical Laboratory of pharmacy department at the University of Ferhat Abbas 1.

Microorganisms

Employed Germs are responsible for several diseases for which our plants are frequently used. They were obtained from the laboratory of microbiology, pharmacy department at the University of Ferhat Abbas 1. Bacteria were maintained by subculture on agar media.

Obtaining essential oils

Essential oils of each plant were obtained by hydro distillation technique but with different amounts for each:

- Melissa ----- 36 g in 300 ml of distilled water
- The Oregano ----- 48 g in 300 ml of distilled water
- The lavender ----- 15 g in 300 ml of distilled water
- The ----- 48g mint in 300 ml of distilled water

Obtaining extracts of maceration

Plant extracts were obtained by maceration (48 hours) 100 g of 800 plants sprayed in ethanol-water mixture (V/V). The filtrate obtained on filter paper are then evaporated using a rotary evaporator. The resulting solutions were dried in an oven (50°).

The obtained residues were stored at 4° C with their use.

Plant juices preparation for spectrophotometry

Different plants, balm, mint, lavender and oregano, were ground and sterilized.

A teaspoon of each ground plant was added to 100ml of sterile distilled water. We allow to react for half an hour and then we filter. We thus obtained four vials. A fifth vial is prepared with only the sterilized nutrient stock (100ml) and which serve to compare and another as witness comprising only sterile distilled water.

Methods

Technique of aromagramme (Cohen, M., 2013)

The technique consists of deposit on the surface of an agar medium previously inoculated filter paper disks impregnated with essential oils and Maceras to be tested for each plant.

Modus operandi

From the suspension of the germ to be tested for 24 hours, we realize a 1/10 dilution in sterile Physiological water with which we seed five agar boxes.

Muller-Hinton in which we apply soaked disks each 1 ml of essential oil to be tested. The fifth box will serve as a witness.

These boxes are left for 30 minutes at laboratory temperature, and then incubated in an oven at 37° C for 24 hours. Same work was performed for the plant extracts.

Bioassay technique: bioassay (method of wells) (In Adimi., 1990)

The technique consists to dig wells to the surface of an agar medium previously inoculated. These wells will receive quantities of essential oils and macerates test.

Modus operandi

From the suspension germ to be tested for 24 hours, we realize a 1/10 dilution in sterile Physiological water to which is seeded five Muller-Hinton agar plates boxes, four will be drilled with the drill for wells in level of each well 1 ml of the essential oil to be tested is placed. The fifth box is not pierced and shall be a witness. All boxes shall be incubated at 37° C for 24. Same work was performed for the plant extracts.

Technical spectrophotometry

Spectrophotometry is a quantitative analytical method of measuring the absorbance or optical density of a given substance, typically in solution. Over the sample is concentrated, the more it absorbs light in the proportionality limits set by the Beer-Lambert law.

From the suspension of germ to be tested for 24 hours, 10¹ dilution is performed in sterile Physiological water with 1 ml of which different vials already prepared were separately seeded.

The vials are incubated at 37° C for 24 hours during which period the optical density measurements were made.

Results and discussion

Technique of aromagramme

Table 2: Action of various essential oils (E.O) on growth of *E. coli* and *S. aureus* (inhibition zones in mm).

Bacterium	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	E.O	Hydrolat	E.O	Hydrolat
Balm	8 mm	7 mm	7 mm	5 mm
Oregano	6 mm	4 mm	6 mm	5 mm
Lavender	7 mm	4 mm	4 mm	4 mm
Mint	6 mm	0 mm	6 mm	0 mm
Witness	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Table 3: Effect of different solutions of the alcoholic maceration on the growth of *E. coli* and *S. aureus* (inhibition zones in mm)

Bacterium Plant	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Balm	50 mm	14 mm
Lavender	5 mm	5 mm
Oregano	6 mm	7 mm
Mint	40 mm	13 mm
Witness	0 mm	0 mm

It is apparent that the four plants have antibacterial activity against two bacteria. With essential oils diameters of inhibition zones

Escherichia coli vary from 6 mm to 8 mm and for *Staphylococcus aureus*, the diameters of the inhibition zones vary from 4 mm to 7 mm. With maceration extracts, the diameters of zones of inhibition for *Escherichia coli* vary from 5 mm to 50 mm, and *Staphylococcus aureus*, the diameters of zones of inhibition vary from 5 mm to 14 mm.

Even with hydrolats inhibition effects totaled present which explains that the active ingredient is also present in these solutions.

Balm is as the best plant antibacterial activity which has already been confirmed by the work (Neda., M, D., and al 2004 and Anicic .,and al 2005)

Bioassay technique: bioassay (wells method)

It appears as though the four plants have antibacterial activity against two bacteria.

With Essential oils, the diameters of the inhibition zones for *Escherichia coli* vary from 14 mm to 24 mm, for *Staphylococcus aureus* the diameters of zones of inhibition vary from 12 mm to 18 mm(Tab 4). With maceration extracts, the diameters of inhibition zones for *Escherichia coli* vary from 13 mm to 50 mm, and for *Staphylococcus aureus*, the diameters of the zones of inhibition vary from 16 mm to 30 mm(Tab 5).

The extracts of balm macerating have the best antibacterial activity which has already been confirmed (Teresa M and a1., 2007)

By comparing the two techniques, bioassay provides greatest inhibition diameters.

Table 4: Effect of various essential oils on growth of *E. coli* and *S. aureus* (inhibition zones in mm)

Bacterium Plant	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Balm	24 mm	18 mm
Lavender	18 mm	12 mm
Mint	14 mm	14 mm
Oregano	16 mm	15 mm
Witness	0 mm	0 mm

Table 5: Action of different solutions of alcoholic maceration on the growth of *E. coli* and *S. aureus* (inhibition zones in mm)

Bacterium Plant	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Balm	50 mm	26 mm
Lavender	20 mm	6 mm
Oregano	13 mm	16 mm
Mint	50 mm	24 mm
Witness	0 mm	0 mm

Technical of spectrophotometry

We noticed

Concerning *E. coli* Oregano, Balm, Lavender and Mint have a bactericide activity with the optical density's values which are :0,014,0,017,0,08 and 0,190 after 1 hour 30 minutes of incubation (Tab 6)

Table 6 Different values of the evaluation of the optical density for *E. coli*

Time (hours) Do of Plant	T=13	T= 1430	T=16	T=24
Balm	0.900	0.017	0.016	0
Lavender	0.280	0.080	0.055	0.012
Oregano	0.026	0.014	0.005	0
Mint	0.250	0.190	0.056	0
Nutritive stock	0.060	0.390	0.550	0.922
Distilled water	0.120	0.090	0	0

Concerning *S. aureus*

A bactericide activity was noticed with the optical density's values for Balm ,Oregano, Lavender and Mint which are 0,015,0,02,0,026 and 0,056 after 1 hour 30 minutes of incubation

The Lavender's bactericide activity occurs only after three hours of incubation(Tab 7)

Table 7 : Different values of the evaluation of the optical density of *S. aureus*

Time (hours) Do of Plant	T=13	T= 1430	T=16	T=24
Balm	0.016	0.015	0.005	0
Lavender	0.175	0.026	0	0
Oregano	0.064	0.02	0.015	0
Mint	0.067	0.056	0.042	0
Nutritive stock	0.002	0.005	0.039	0.819
Distilled water	0.01	0.009	0	0

It appears that the four plants exhibit bactericide activity after 24 hours incubation is for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.(Tab 6 and Tab 7)

Conclusion

This preliminary work has helped to highlight the antibacterial properties of essential oils, extracts of maceration and bactericides of aqueous extracts of four medicinal plants.

The results reveal the presence of antibacterial and bactericides active ingredients in each plant, which explains their traditional use in several infections compared, balm has the best antibacterial effect in the first two techniques.

References:

- ADIMI L Z, (1990): Activité antibactérienne de certaines plantes médicinales vis-à-vis d'*Escherichia coli* .Thèse d'ingénieurat contrôle de qualité et analyse, Université Ferhat Abbas de Sétif (p72).
- ANICIC NV, DIMITRIJEVIC S, RISTIC MS, PETROVIC S S ,PETROVIC SD,(2005) Antimicrobialactivity of essentiel oil of *Melissa officinalis L.,Lamiaceae*. Hemijskaindustija, (vol 59) (N9/10) 243-247.
- BABULKA P (2005): La mélisse (*Melissa officinalis L.*), Phytothérapie, 3 - p. 114-117.
- BAH S, DIALLO D., DEMBELE S, PAULSEN BS, (2006) Ethnopharmacological survey of plants used for the treatment of schistosomiasis in Niono District, Mali. Journal of Ethnopharmacology, 105, 387–399.
- COHEN M, (2013) : Laboratoire d'analyse médicale, Paris.
- DANIEL JOURDAIN, (1997): Dictionnaire des plantes médicinales, Québec, Quebecor, P 120-122-136.
- GIRRE L,(1992) : La santé par les plantes. Rennes : Ouest-France, 221p.

- MUTHU C, AYYANAR M, RAJA N, IGNACIMUTHU S,(2006) : Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 2:43, 10.1186/1746-4269-2-43.,2006.
- NEDA M D, BILJANA B, MARINA S, SATANA S,(2004) : Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L (Lamiaceae) Essential oil. J.Agric.FoodChim ., 52, 2485-2489.
- SCHNITZLER P,SCHUHMACHER A,ASTANI A,REICHLING J,(2004) *Melissa officinalis* oil affects infectivity of enveloped herpesviruses. Phytomedicine,(2004 May Volume 15, Issue 9- 734-740 de Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M, Simin N. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) essential oil. J Agric Food Chem. 5; 52(9):2485-9
- TERESA M, PATRIZIA P, CARLA S, RITA A,(2007) Triterpen,antioxidant and antimicrobial compouds from *Melissa officinalis*. J.nat .Prod., 70, 1889-1894.
- UMEZU T, NAGANO K, ITO H, KOSAKAI K, SAKANIWA M, MORITA M.(2006 Dec) Anticonflit effects of lavender oil and identification of its active constituents. Pharmacol Biochem Bhav ;85(4):713-21

ملخص

ان الهدف الرئيسي من هذا البحث هو مساهمة دراسة فعالية مضاد للبكتيريا، مضاد للفطريات والنشاط المضاد للأوكسدة لنبتة طبية تعرف باسم الترناجان المنتشرة في منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط ولكنها للأسف مجهولة في بلادنا ومن ثم مقارنتها مع بعض النباتات الطبية المستعملة في منطقتنا بسطيف وهي نبتة الخزامة، الزعتر والنعناع.

في الجزء الأول أجرينا اختبارات لتأكيد فعالية مضاد للبكتيريا، مضاد للفطريات ومضاد للأوكسدة الخاص بنبتة الترناجان. لقد تم اختبار اثنين من البكتيريا الأولى هي بكتيريا *Escherichia coli* سالبة الجرام المتعايشة مع الانسان ولكن يمكن أن تصبح في ظروف معينة ممرضة ، والثانية هي بكتيريا *Staphylococcus aureus* هي عبارة ايضا عن بكتيريا تنتمي إلى الفلور الطبيعية ويمكن أن تسبب المرض في ظروف معينة.

أثنان من الفطريات تم أيضا استعمالهما: *Candida albicans* وهي خميرة خيطية تنتمي الى الفلور الطبيعية وقد تسبب عدة أمراض و *Aspergillus niger* وهو نوع من الفطريات الخيطية يسبب بعض الامراض واهما ما يصيب الجهاز التنفسي عند الانسان.

أظهرت نبتة الترناجان نشاط مضاد للبكتيريا قوي على كلى النوعين من البكتيريا التي شملتها الدراسة و قوة مضادة للفطريات وخاصة *Candida albicans*.

ان فحص مركبات الفينول اثبت مستويات عالية من مركب البوليفي نول عند الترناجان ويحتوي أيضا مركب الفلافونويد.

وخلال اختبار تبييض الكروتين تاكدنا أن نبتة الترناجان تحتوي على مضاد للأوكسدة هام جدا . في الجزء الثاني أجرينا دراسة مقارنة بين الترناجان والنباتات الأخرى وهي الخزامة، الزعتر والنعناع أعطت هذه المقارنة لنبتة الترناجان مكانا بارزا بالنسبة لطاقتها المضادة للبكتيريا والفطريات وقيمتها كمضاد للأوكسدة.

الكلمات المفتاحية: *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Candida albicans*، *Aspergillus niger*، Aromatogramme، Spectrophotométrie، الاختبار البيولوجي الترناجان، الزعتر، النعناع، الخزامة، مضاد الأوكسدة، مضاد للبكتيريا ومضاد للفطريات.

RESUME

L'objectif principal de ce travail était de chercher et confirmer l'activité antibactérienne, antifongique et antioxydante d'une plante médicinale la Mélisse, une plante très connue dans le bassin méditerranéen mais malheureusement ignorée dans notre pays. Et ensuite la comparer avec d'autres plantes médicinales de notre région de Sétif : l'Origan, la Lavande et la Menthe.

Dans une première partie nous avons procédé à des tests pour confirmer le pouvoir antibactérien, antifongique et antioxydant de la Mélisse.

Deux fameuses bactéries ont été testées, il s'agit d'*Escherichia coli*, une bactérie à Gram négatif qui est commensale mais peut devenir pathogène dans certaines circonstances et la deuxième est *Staphylococcus aureus* qui est une bactérie appartenant à la flore normale et peut devenir aussi pathogène dans les conditions favorables.

Deux champignons ont été aussi utilisés, la levure *Candida albicans*, une levure filamenteuse de la flore normale .Elle peut être responsable de la candidose.

Aspergillus niger est un champignon filamenteux qui peut être responsable aussi de mycoses pulmonaires chez l'homme.

La Mélisse a révélé une très forte activité antibactérienne sur les deux types de bactéries étudiées. Elle a montré aussi un pouvoir antifongique surtout sur *Candida albicans*.

Le dosage des composés phénoliques a indiqué la présence de teneurs considérables en polyphénols chez la Mélisse et elle contient aussi les flavonoïdes. La Mélisse possède aussi un pouvoir antioxydant important qui a été montré par le test de blanchissement de carotène.

Dans la deuxième partie, on a procédé à une étude comparative entre la Mélisse et les autres plantes : l'Origan, la Lavande et la Menthe. Cette comparaison a bien montré que la Mélisse occupe une importante place quant à sa capacité antibactérienne, antifongique et antioxydante .

Mots clés : Mélisse, Lavande, Origan, Menthe, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, Aromatogramme, Bio-essai, Spectrophotométrie, pouvoir antioxydant.

ABSTRACT

The principal object of this work was to research and confirm the antibacterial, anti-fungal, and antioxidant activity of a medical plant called "Melissa", a very well known plant in the Mediterranean basin, but not very much in Algeria. Additionally, and in this study, Melissa has been compared to other medical plants (Lavender, Oregano, Mint) widely used in the region of Setif .

Two famous bacterias have been used: *Escherichia coli*, with a gram-negative. It is commensal, but it could become pathological in certain circumstances. The second bacteria is *Staphylococcus aureus*, which belongs to the normal flora. however, and in some conditions, it could become pathological as well.

Two fungi have also been used: *Candida albicans*, a filamentous yeast of the normal flora. It can cause candidiasis. *Aspergillus niger*, a filamentous fungus, which can be responsible for pulmonary fungal infections in men.

Melissa has shown a very strong antibacterial activity with both types of bacteria. It has also displayed an antifungal ability against *Candida albicans*.

The dosage of the phenolic compounds has indicated a presence of considerable levels of polyphenols in Melissa. It also contains flavonoids. Additionally, Melissa has a very important antioxidant ability, which has been confirmed with the bleaching of carotene test.

In a second part, a comparative study has been preceded between Melissa and other plants: Lavender, Mint, and Oregano. This comparison has offered Melissa a very prominent place due to its antibacterial, antifungal, and antioxidant capacity.

Key words: *Melissa*, Lavender, Mint, Oregano, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, aromatogram, bioassay, spectrophotometry, antioxidant ability.