

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République algérienne démocratique et populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب  
Université –Ain Témouchent- Belhadj Bouchaib  
Faculté des Sciences et de Technologie  
Département de Biologie



Projet de Fin d'Etudes  
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Biochimie  
Domaine : science de la nature et de la vie  
Filière : Biologie  
Spécialité : Biochimie

Thème

**Évaluation de l'effet combiné des huiles essentielles et des antibiotiques sur la croissance bactérienne pour une potentielle synergie thérapeutique.**

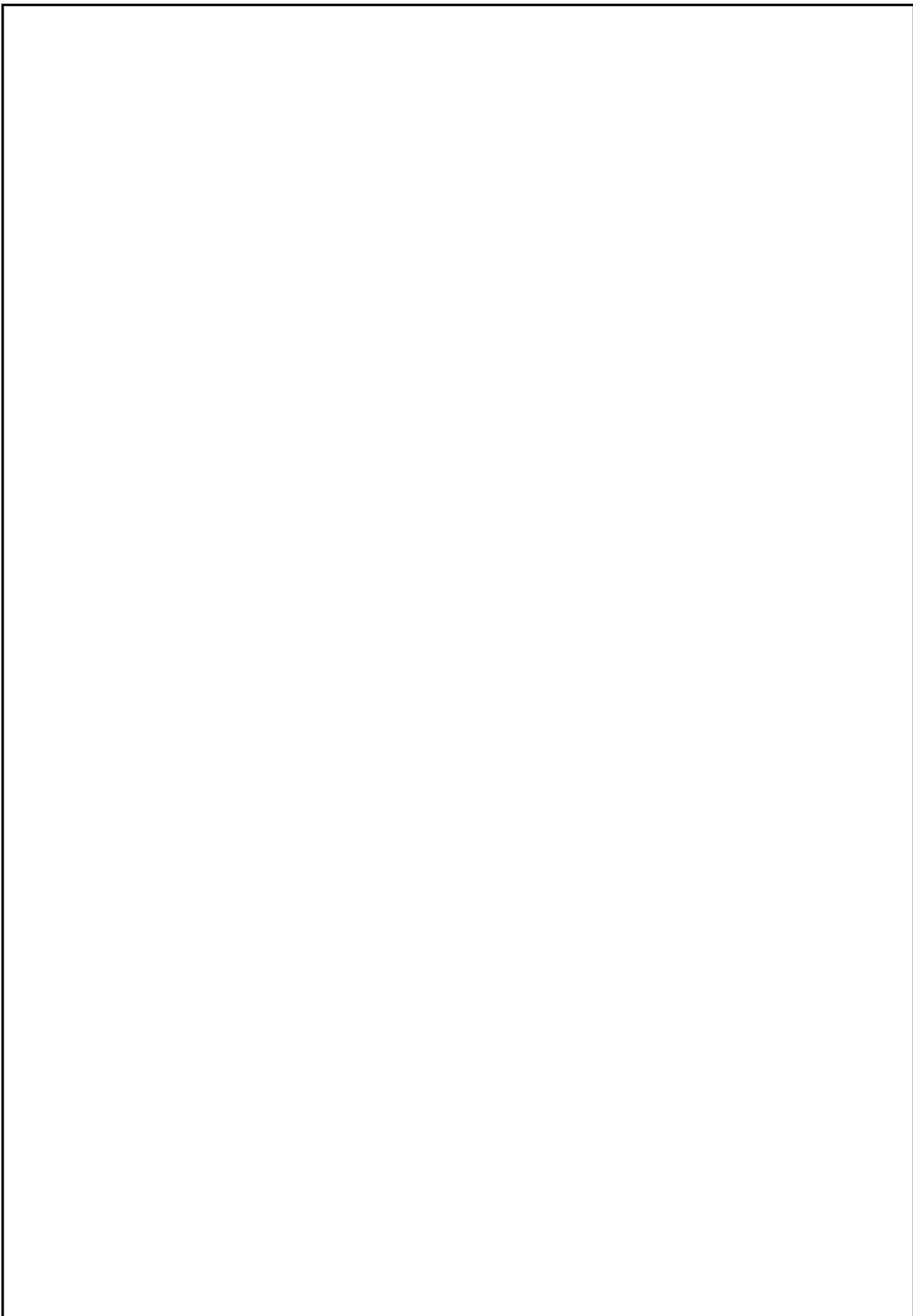
**Présenté Par :**

- 1) Melle TEMIMI Kawtar.
- 2) Melle. ABIBSI Zoulikha.
- 3) Melle. ABDELALI Nerdjes Ikram

**Devant le jury composé de :**

Dr. BRIXI GORMAT Nassima	M C A	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Présidente
Dr. BENYAMINA Sofiane	M C B	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examinateur
Dr. BENNABI Farid	M C A	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadrant

*Année Universitaire 2023/2024*



## REMERSIMENT

*Tout d'abord, nous remercions le Très-Haut de nous avoir donné la force et le courage dont nous avons besoin pour mener à bien cette étude.*

*Nous exprimons notre gratitude envers notre directeur d'université et tous les enseignants pour leur contribution au cours des cinq dernières années. Jusqu'à présent, nous avons accompli une longue marche.*

*Nous tenons également à exprimer notre gratitude envers notre superviseur, Monsieur **BENNABI Farid**, pour son engagement, son soutien, sa confiance, sa gentillesse et ses précieux conseils qui nous ont permis de réaliser un travail impressionnant.*

*Nous remercierons : Mem. **BRIXI GORMAT Nassima** d'être la présidente de membre de juré de notre mémoire.*

*M. **BENYAMINA Sofiane**, d'avoir accepté d'examiner notre travail. Sincère remerciement.*

*Nous vous sommes extrêmement reconnaissants d'avoir accepté de diriger notre jury. Nous sommes très reconnaissant de votre enseignement et de votre intérêt pour ce travail.*

*Nous tenons à remercier monsieur **MEHAMMEDI Walid** et **SIBOUAZZA Miloud** de nous avoir accordé tout leur temps pour nous apporter leur aide et leurs soutiens.*

*Nous exprimons également notre gratitude envers toutes les personnes qui nous ont apporté leur soutien dans la réalisation de ce mémoire, notamment nos familles. Nous remercions également les ingénieurs de laboratoire Mem. **Meftahi chokria** et M. **DRIF Ahmed** pour leurs assistance et leur fourniture des produits et des matériaux requis.*

## **Dédicace**

*Je dédie ce long et modeste travail :*

*À mes parents bien-aimés, qui m'ont constamment soutenu pendant la rédaction de ce mémoire.*

*Ma grand-mère, mes frères et sœurs, qui sont comme mes âmes.*

*À tous les membres de ma famille paternelle et maternelle, que j'espère seront fiers de moi.*

*À tous mes amis proches qui m'ont encouragé, aider et soutenu durant cette période.*

***Kawtar***

## ***Dédicace***

*Je dédie ce travail*

*Aux deux êtres les plus chers, mes parents pour tout ce qu'ils m'ont offert d'amour et  
.d'affection*

*A ma grand mère*

*A ma sœur : Sarra Aïcha*

*A mes frères : Oussama et Imad El dine*

*A ma tante : Rachida*

*A mes amies et a toute ma promotion*

***Nardjes ikram***

## **Dédicace**

*Je dédie cet événement marquant de ma vie à la mémoire de mon Père disparu trop tôt. J'espère que, du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde !*

*Je dédie aussi ce travail à ma famille, à ma Mère, à mon adorable Mère, à celle qui est toujours présente et continue de l'être pour faire mon bonheur. Merci pour t'être sacrifiée pour que tes enfants grandissent et prospèrent. Merci de trimer sans relâche, malgré les péripéties de l'âge, de la santé, de la vie, au bien-être de tes enfants. Enfin ! Merci tout simplement d'être... Ma Mère.*

*Merci aussi à mes chers frères, mes chères sœurs, Houaria et Fatima. Merci d'être toujours à mes côtés, par vos présences, par votre amour. Pour donner du goût et du sens à notre vie de famille. Merci aussi à mes adorables nièces, Malak et Intissar. Merci de remplir ma vie de joie et de bonheur.*

*Je saisis aussi cette occasion pour prononcer un mot de gratitude à l'égard de mes collègues du Département qu'ils m'ont permis de bénéficier d'une année sabbatique pour me dédier corps et âme à mes travaux de recherche. Je remercie également mes amis pour ces encouragements, ils étaient la bouffée d'oxygène qui me ressourçait dans les moments pénibles, de solitude et de souffrance, où l'on a terriblement besoin d'un petit mot, d'un petit geste, aussi humble soit-il, de soutien moral.*

*Enfin, j'espère du fond du cœur que tout ce petit monde, mon monde à moi, trouve ici un mot de reconnaissance, et que chacun se reconnaisse en ce qui le concerne. J'espère aussi que l'effort déployé dans le présent travail réponde aux attentes des uns et des autres.*

*Je suis néanmoins seule et unique responsable des oublis, des lacunes et des faiblesses que puisse contenir la présente étude. Ceci étant, les propos contenus dans cette thèse n'engagent que ma propre responsabilité.*

**Zoulikha**

## Résumé

Les plantes aromatiques sont des sources essentielles de substances naturelles qui possèdent des propriétés biologiques d'un grand intérêt. La *sauge*, une des plantes aromatiques les plus utilisées, est une plante herbacée vivante du bassin méditerranéen. Depuis des siècles, elle est utilisée comme plante médicinale et aromatique. L'extraction à partir des feuilles de la plante par hydrodistillation permet d'obtenir des huiles essentielles qui contiennent divers composants aux nombreuses vertus, en particulier des propriétés antibactériennes, antifongiques et antiseptiques. Quatre souches bactériennes pathogènes ont été testées pour évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* : deux souches de type positives (*Staphylococcus aureus* 25922 et *Staphylococcus aureus* 43300) et deux autres de type négatives (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* cip A22 ). Selon les résultats, l'huile essentielle de *Salvia officinalis* montre une forte réaction contre *Pseudomonas aeruginosa* cip (25mm) et une réaction moyenne contre *Escherichia coli* (22mm) à une concentration de 150mg/ml. Les valeurs CMI diffèrent en fonction de la souche testée. Elle varie entre 25 mg /ml et 3,125 mg /ml. La présence de l'huile essentielle de notre plante a un effet bactéricide, qu'elle que soit la bactérie. Une combinaison entre les antibiotiques et l'huile essentielle de sauge a été réalisée pour examiner leurs effet combiné sur la croissance bactérienne pour une potentielle synergie thérapeutique. Aucun effet synergique n'a été observé entre les antibiotiques utilisés (Amoxylave, Ampiciline, Cefazoline, Co.trimoxasole) et huile essentielle de la *salvia officinalis*, à l'exception de la gentamicine, qui a démontré une réponse élevée aux bactéries à gram négatifs par rapport aux bactéries à gram positifs.

## Mots clés

*Salvia officinalis*, huiles essentielles, activité antibactérienne, *Staphylococcus aureus* 25922, *Staphylococcus aureus* 43300, *Pseudomonas aeruginosa* cip, *Escherichia coli*, extraction, CMB, effet synergique.

## **Abstract**

Aromatic plants are essential sources of natural substances with biologically significant properties. Sage, one of the most commonly used aromatic plants, is a herbaceous plant native to the Mediterranean basin. For centuries, it has been used for both medicinal and aromatic purposes. The hydrodistillation of sage leaves yields essential oils containing various components with numerous virtues, particularly antibacterial, antifungal, and antiseptic properties. Four pathogenic bacterial strains were tested to evaluate the antibacterial activity of *Salvia officinalis* essential oil: two Gram-positive strains (*Staphylococcus aureus* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 43300) and two Gram-negative strains (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*). According to the results, *Salvia officinalis* essential oil exhibited a pronounced reaction against *Pseudomonas aeruginosa* (25 mm) and a moderate reaction against *Escherichia coli* (22 mm) at a concentration of 150 mg/ml. The minimum inhibitory concentration (MIC) values varied depending on the tested strain, ranging from 25 mg/ml to 3.125 mg/ml. The presence of our plant's essential oil had a bactericidal effect, regardless of the bacterial type. A combination of antibiotics and *sage* essential oil was investigated to examine their combined effect on bacterial growth for potential therapeutic synergy. However, no synergistic effects were observed between the antibiotics used (Amoxicilave, Ampicillin, Cefazolin, Co-trimoxazole) and *Salvia officinalis* essential oil, except for gentamicin, which exhibited higher reponse against Gram-negative bacteria compared to Gram-positive bacteria.

## **Keywords**

*Salvia officinalis*, essential oils, antibacterial activity, *Staphylococcus aureus* 25922, *Staphylococcus aureus* 43300, *Pseudomonas aeruginosa* cip, *Escherichia coli*, extraction, MBC, synergistic effect.

## ملخص

النباتات العطرية هي مصادر أساسية للمواد الطبيعية التي تمتلك خصائصًا بيولوجية ذات أهمية كبيرة. المريمية ، واحدة من أكثر النباتات العطرية استخدامًا، هي نبات عشبي حي ينمو في حوض البحر الأبيض المتوسط. منذ قرون، تُستخدم كنبات طبي وعطري. يتم استخراج زيت المريمية من أوراق النبات عن طريق التقطير بالبخار، ويحتوي على مكونات متعددة ذات فوائد عديدة، خاصة الخصائص المضادة للبكتيريا والفطريات والمطهرة. تم اختبار أربع سلالات بكتيرية ممرضة لتقييم النشاط المضاد للبكتيريا لزيت المريمية العطري: سلالتان من النوع الموجب (*Staphylococcus aureus* 25922) و (*Staphylococcus aureus* 43300) وسلالتان من النوع السالب (*Escherichia coli*) و (*Pseudomonas aeruginosa* cip A22). يظهر زيت المريمية العطري رد فعل قوي ضد *Pseudomonas aeruginosa* ووفقًا للنتائج، حيث تتراوح بين 25 ملغ / مل 3.125 ملغ / مل. يُظهر وجود زيت المريمية العطري تأثيرًا قاتلاً للبكتيريا، بغض النظر عن نوع البكتيريا. تم إجراء تجربة مشتركة بين المضادات الحيوية وزيت المريمية العطري لفحص تأثيرهما المشترك على نمو البكتيريا لتحقيق تأثير علاجي محتمل حيث انه لم يتم تسجيل أي تأثير علاجي بين المضادات الحيوية المستعملة (*Amoxylave, Ampiciline, Cefazoline, Co.trimoxasole*) ما عدا ال gentamicin الذي أظهر استجابة عالية البكتيريا من النوع السالب ب مقارنة بالبكتيريا من النوع الموجب .

## كلمات الرئيسية

مريمية (*Salvia officinalis*) الزيوت العطرية، النشاط المضاد للبكتيريا, *Staphylococcus aureus* 25922, *Pseudomonas aeruginosa* cip, *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus* 43300, تأثير علاجي, *CMB*, استخراج،

## Table des matières

<b>REMERSIMENT .....</b>	<b>3</b>
<b>Dédicace .....</b>	<b>4</b>
<b>Résumé.....</b>	<b>7</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>8</b>
<b>ملخص .....</b>	<b>9</b>
<b>Liste des tableaux.....</b>	<b>13</b>
<b>Liste des figures.....</b>	<b>14</b>
<b>Liste des abréviations .....</b>	<b>16</b>
<b>I Généralités sur Salvia Officinalis .....</b>	<b>3</b>
I.1 L'ordre des lamiacées.....	3
I .2 Description de la plante .....	4
I .3 Distribution géographique.....	5
I .4 Taxonomie .....	6
I .5 L'usage de la sauge officinalis .....	7
I .6 Toxicité de la sauge officinalis .....	7
<b>II Généralité sur les huiles essentielles.....</b>	<b>8</b>
II .1 Les huiles essentielles.....	8
II .2 Le rôle des huiles essentielles .....	8
II .3 Composition chimique des huiles essentielles .....	8
II .3.1 Les composés terpéniques .....	9
II .3.2 Les différentes molécules aromatique .....	9
II .3.3 Les composés d'origine divers.....	9
II .4 Composition chimique de l'huile essentielle de sauge.....	9
II .5 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles .....	10
II .6 Activités biologique des huiles essentielles.....	11
II .7 La toxicité des huiles essentielles .....	12
<b>III Les Méthodes d'extraction d'Huiles essentielles .....</b>	<b>13</b>
III.1 La Distillation .....	13
III.1.1 L'hydro-distillation .....	14
III.1.2 L'entraînement à la vapeur d'eau.....	14
III.1.3 Hydrodiffusion .....	15
III . 2 Autres procédés .....	15
III.2.1 L'extraction par expression à froid.....	15

III.2.2 L'extraction par CO2 supercritique .....	16
III.2.3 Extraction par solvants.....	17
III.2.4 Extraction par ultrasons.....	17
<b>IV Bactéries et antibiotiques .....</b>	<b>18</b>
IV.1 Définition des bactéries.....	18
IV.2 Structure générale des bactéries .....	18
IV.3 Bactériologie médicale.....	19
IV.3.1 Escherichia coli .....	19
IV.3.2 Pseudomonas aeruginosa.....	19
IV.3.3 Staphylococcus aureus .....	20
IV.4 Modes d'action des antibiotiques .....	21
IV.5 Classification des antibiotiques.....	23
IV.6 Résistance des bactéries aux antibiotiques.....	23
IV.6.1 Résistance naturelle (ou intrinsèque).....	23
IV.6.2 Résistance acquise.....	23
IV.7 Méthodes microbiologiques de détection de la résistance aux antibiotiques .....	24
<b>Matériel et Méthodes.....</b>	<b>1</b>
1. choix de la plante.....	26
2. Colecte du matériel végétale.....	26
2.1 Recolte situation géographique et préparation des échantillons.....	26
3. L'extraction d'huile essentielle .....	27
4. Méthode en milieu solide .....	26
4. Méthode des micro-dilutions en milieu liquide.....	27
5. Détermination de Concentration Minimale Bactéricide (CMB).....	28
6. Le rapport CMB/CMI.....	29
7. L'évaluation de l'activité antibactérienne par l'antibiogramme.....	29
8. L'effet synergique de l'huile essentielle de la sauge officinalis et les antibiotiques.....	26
<b>Résultats et discussions.....</b>	<b>27</b>
1. Analyse d'huile essentielle extraite.....	28
1.1 Paramètres organoleptiques d'huile essentielle.....	28
2. Activité antibactérienne d'huile essentielle .....	28
2.1 Évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disques.....	28
3. Détermination de La concentration minimale inhibitrice (CMI).....	31
4. Détermination de La concentration minimale bactéricide (CMB).....	32

5. Qualification de l'activité antibactérienne de l'HE.....	32
6. L'évaluation de l'activité antibactérienne par l'antibiogramme.....	33
7. L'effet synergique de l'huile essentielle de la sauge officinalis et les antibiotiques.....	34
<b>Conclusion .....</b>	<b>38</b>
<b>Référence bibliographique.....</b>	<b>41</b>

## Liste des tableaux

Tableau 1:Composition chimique des l'huiles essentielles de salvia officinalis .(Khedher et al., 2017).....	10
Tableau 2: Les concentrations utilisé d'EH (Mg /MI) de La S. Oficinalis .....	28
Tableau 3: Les diamètre critique standards .....	27
Tableau 4:Caractéristique organoleptiques d'huile essentielle de la S.Ofisinalis.....	28
Tableau 5: L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de La S.Offisinalis réalisé par la méthode de diffusion sur disques .....	28
Tableau 6: Résultats de l'activité antibactérienne d'huile essentielle S .Oficinalis réalisé par méthode de CMI.....	31
Tableau 7 : Résultats des CMB d'huile essentielle S.Oficinalis relative aux souches bactériennes .....	32
Tableau 8: Le rapport CMB/CMI relative aux quatre souches bactériennes .....	33
Tableau 9: L'activité antibactérienne réalisé par L'antibiogramme .....	33
Tableau 10: Résultats de l'interaction synergétique d'huile S.Offisinalis avec lesantibiotiques testés .....	34

## Liste des figures

Figure 1: Tige de la sauge des prés « famille lamiaceae »( vanette, 2020).....	3
Figure 2: Les feuilles de Bugle ramponne « famille lamiaceae » vanette, 2020).....	4
Figure 3: Fleurs disposées en glomérules « famille lamiaceae » (vanette, 2020).....	4
Figure 4: Les nœud des plantes « famille lamiaceae ».....	4
Figure 5 :La sauge officinalis (Delphine, 2024).....	5
Figure 6 : La sauge officinalis(feuille)(Gerbeaud, 2023.....	5
Figure 7: La Distribution géographique de la plante medicinale Salvia officinalis .....	6
Figure 8: Les étapes de l'extraction des huiles essentielles.(LUCCHESI, 2005).....	13
Figure9: Principe schématisé de l'extraction par Entraînement à la vapeur (EVE). et d'hydrodistillation (FARHAT ,A, 2010).....	14
Figure 10 : Shéma du principe de Hydrodiffusion (Garneau, F.X., Collin, G.J, 2005) .....	15
Figure 11: Structure générale d'une bactérie (Hart et Shears, 1999) .....	18
Figure 12: Staphylococcus aureus vue au microscope électronique. (Lavigne, 2012) .....	20
Figure 13: Situation géographique de la région d'AGHLAL. ....	26
Figure 14:Feuilles fraîches de la s.Officinalis .....	27
Figure 15:Feuilles seches de la sauge .....	27
Figure 16: Le montage d'hydrodistilation.....	27
Figure 17: Représentation graphique de l'activité antibactérienne d'huile essentielle S.Officinalis réalisé par la méthode de diffusion sur disque .....	29
Figure 18: Représentation graphique de l'activité antibactérienne réalisé par la méthode d'antibiogramme .....	33
Figure 19 : Représentation résultats de l'interaction synergétique d'huile s.offisinalis avec les antibiotiques testés(Cefazoline).....	42
Figure 20: Représentation résultats de l'interaction synergétique d'huile s.offisinalis avec ...	35
Figure 21 : Représentation résultats de l'interaction synergétique d'huile s.offisinalis avec les	

antibiotiques testés(Co.trimoxasole) .....	35
Figure 22: Représentation résultats de l'interaction synergétique d'huile s.offisinalis avec les antibiotiques testés(Amoxylave) .....	36
Figure 23 : Représentation résultats de l'interaction synergétique d'huile s.offisinalis avec les antibiotiques testés (gentamicine) .....	36

## Liste des abréviations

**ATCC** : American type culture collection.

**CMI** : Concentration minimal inhibitrice.

**CMB** : Concentration minimal bactéricide.

**C** : Concentration.

*E. coli* : *Escherichia coli*

**EMA** : L'Agence européenne du médicament.

**HE** : Huile essentielle.

**INPN** : Inventaire national du patrimoine naturel.

**La norme ISO** : International Organization for standardization

**Mg** : Milligramme.

**Mg/ml** : Milligramme par millilitre.

**ml** : Millilitre.

**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

*P.a. cip* : *Pseudomonas aeruginosa*.

**S** : Solution.

*S.g* : *Staphylococcus aureus*

**S. officinalis** : *Salvia officinalis*.

**µg/ml** : Microgramme par millilitre.

**µl** : Microlitre.

**°C** : Degré Celsius.

**%** : Pourcentage

Depuis toujours, les populations du monde entier ont utilisé les plantes pour se soigner. Elles constituent encore aujourd'hui la principale source de médicaments dans les pays en développement. (*OMS, 2013*).

La médecine traditionnelle a toujours existé. Ces connaissances, compétences et pratiques sont l'ensemble des connaissances, compétences et pratiques qui sont basées, de manière rationnelle ou non, sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont employées pour préserver la santé des individus et pour traiter et guérir les maladies physiques et mentales (*Lahlou, 2009*). Ainsi, une plante médicinale est une plante qui est employée en raison de ses propriétés curatives. Cela implique que l'une ou l'autre de ses parties (feuille, tige, racine, etc.) peut être utilisée pour se soigner. Depuis au moins 7.000 ans avant notre ère, les êtres humains les utilisent et sont à l'origine de la phytothérapie. (*VIDAL, 2010*).

D'après les informations de l'OMS, environ 14 à 28 % des plantes sont considérées comme ayant une utilisation médicinale à travers le monde (*Stefano et al, 2002*). Depuis des siècles, la phytothérapie est employée dans la médecine traditionnelle (*Wicht, 2009*). Leur efficacité et leur innocuité sont toujours sujettes à controverse.

Les plantes médicinales ont un pouvoir de guérison grâce à l'action des extraits et des huiles essentielles, qui sont des mélanges de composés volatils, naturels et complexes qui se distinguent par leur forte odeur. Ils sont issus du métabolisme secondaire de la plante, qui se produit dans des cellules spécifiques ou des groupes de cellules, ainsi que dans les poils glandulaires présents sur de nombreuses feuilles et tiges (*Bozović et al 2015*).

Le genre *Salvia* de la famille des lamiacées (labiés) considéré parmi les plantes médicinales et aromatiques les plus utilisés dans l'industrie pharmaceutique. Grâce à sa grande teneur en composés bioactives. Le genre en question compte à lui seul plus de 900 espèces, au monde entier. En Algérie, elles sont au nombre de vingt-trois seulement (*Quezel, 1963 ; Brkats, 2005*). Dans cette situation, notre recherche a pour objectif d'évaluer l'efficacité antibactérienne de l'huile essentielle de la plante médicinale la sauge. Nous nous interrogeons également sur la possibilité d'un effet synergique d'améliorer son efficacité antibactérienne, afin de pouvoir l'utiliser dans différents domaines.

Nous avons pour but principal d'évaluer l'efficacité de l'huile essentielle de sauge contre différentes souches bactériennes pathogènes, y compris des bactéries gram-positives et gram-négatives. Afin d'accomplir cela, nous recourrons à des méthodes microbiologiques standardisées comme la diffusion en milieu solide (test de diffusion en disque) et la mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI). Grâce à ces méthodes, nous pourrions évaluer l'efficacité antibactérienne et évaluer la concentration idéale de l'huile essentielle requise pour

stopper la prolifération des bactéries.

De plus, notre objectif est d'analyser les éventuelles interactions entre l'huile essentielle de sauge et différents antibiotiques couramment employés. Il s'agit d'évaluer l'existence d'un effet synergique lorsque l'huile essentielle est associée à ces antibiotiques. Il se peut que l'effet synergique se manifeste par une augmentation de l'efficacité antibactérienne, ce qui permet de diminuer les doses requises des deux agents (huile essentielle et antibiotique), réduisant ainsi les effets secondaires et retardant l'émergence de résistances bactériennes.

L'utilisation potentielle de cette étude est étendue et diversifiée. L'huile essentielle de sauge, en raison de son activité antibactérienne importante et de ses effets synergiques avec les antibiotiques, pourrait être employée dans divers secteurs, tels que :

- **La médecine** : en complément des traitements antibiotiques déjà en place, en particulier dans les situations de résistances bactériennes émergentes.
- **Dans le domaine de l'agriculture**, on travaille sur la création de traitements antimicrobiens naturels afin de préserver les plantes des infections bactériennes.
- **Dans le domaine de la cosmétique**, il est possible d'intégrer des propriétés antibactériennes naturelles dans des produits de soin de la peau.
- **La préservation des produits alimentaires** : en tant qu'agent naturel de conservation, elle permet de prolonger la durée de conservation des aliments et de diminuer la présence de bactéries.

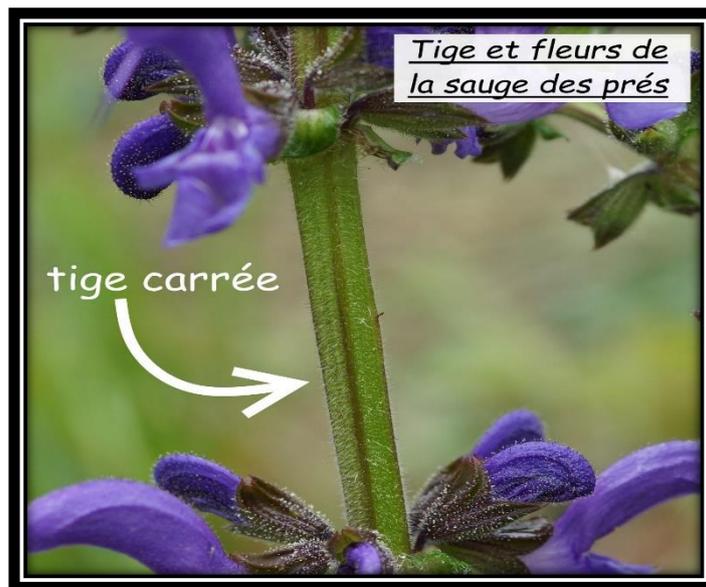
## I Généralités sur *Salvia Officinalis*

### I .1L'ordre des lamiacées

La famille des lamiacées ou labiées aussi nommée labiacée, est considérée comme l'une des principales familles méditerranéennes à essences (*Guignard, 1996*).

Les lamiacées sont une famille de 250 genres et de 6700 espèces. Les herbes aromatiques de cette famille, qu'elles soient annuelles, vivaces ou sous-arbrisseau, sont connues depuis longtemps pour leur valeur médicinale. Selon *Banayad et al. (2012)*.Elles se distinguent par :

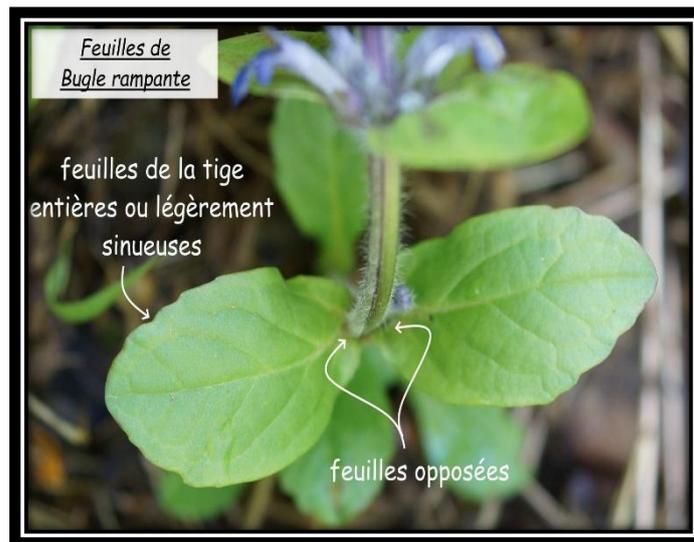
\_La tige est de forme carrée : Il convient de souligner que chez les sous-arbrisseaux (thym et romarin), ce sont les jeunes pousses de l'année qui présentent une forme carrée. La partie basse de la plante dont les tiges ont produit du bois a tendance à s'arrondir (figure 01). (*vanette, 2020*).



**Figure 1:** Tige de la sauge des prés

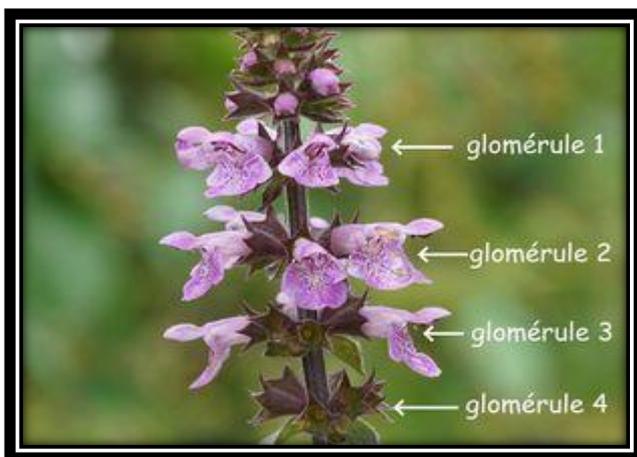
« famille lamiaceae »( *vanette, 2020*).

\_Les feuilles présentent des formes simples, opposées et souvent découpées. Les Lamiaceae adoptent cette disposition des feuilles afin de capter une quantité optimale de lumière (figure 02) (*vanette, 2020*).

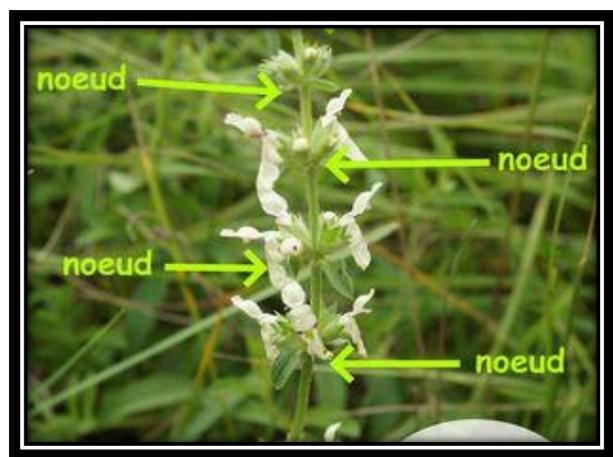


**Figure 02:** Les feuilles de Bugle rampante  
« famille lamiaceae » vanette, 2020).

Les fleurs sont placées en glomérules aux nœuds : elles sont insérées juste au-dessus des feuilles et entourent la tige. Les fleurs ont une forme zygomorphe (figure 03, 04). (vanette, 2020).



**Figure 03:** Fleurs disposées en glomérules  
« famille lamiaceae » (vanette, 2020).



**Figure 04:** Les nœud des plantes  
« famille lamiaceae » (vanette, 2020).

## I .2 Description de la plante

La sauge officinale est une plante aromatique originaire de la Méditerranée, appartenant à la famille des lamiacées (Djerroumi et Nacef, 2004, Lakušić et al, 2013). Il s'agit d'une plante mondialement connue pour ses propriétés thérapeutiques essentielles en médecine folklorique.

Il est également connu sous les noms de sauge de Grèce, herbe sacrée, grande sauge, thé de Grèce, thé de France, thé d'Europe, salet, sauge Franche, thé sacré (anglais :sage) *Salvia* vient du mot latin "Salvare", qui veut dire : Guérir, sauver. C'est une plante magique qui sauve des vies humaines (*Fellah et al, 2006*). Selon *Alloun (2013)*, la sauge est considérée comme la plante guérisseuse par excellence.

C'est une plante vivace à tige ligneuse à la base. Formant un buisson dépassant parfois 80cm rameaux vert-blanchâtre feuilles assez grandes, épaisses, vert blanchâtres, et opposées, fleurs bleues-violacé clair en épis terminaux lâches, disposées par 3 à 6 en verticilles espacés, calice campanulé à 5 dents longues et corolle bilabée supérieure en casque et lèvre inférieure trilobée, fruit en forme tetrakènes. (*Hans, 2007*).



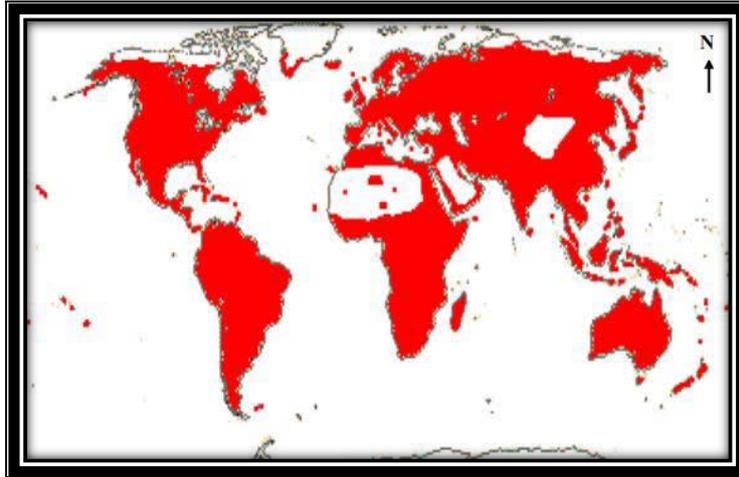
**Figure 05 :** La sauge *officinalis* (Delphine, 2024)



**Figure 6 :**La sauge *officinalis*(feuillage)(Gerbeaud, 2023)

### I .3 Distribution géographique

*Salvia*, le plus grand genre de *Lamiaceae* (*Bektas et al, 2005*), Cette plante vivace est originaire des régions méditerranéennes orientales. Elle a une préférence pour les sols chauds et calcaires. Elle a une croyance naturelle et culturelle à travers tout le bassin méditerranéen. D'Espagne à la Turquie et dans le nord de l'Afrique. Il s'agit d'un genre euro-méditerranéen. Très développée en Algérie. (*khirdine, 2013*), 530 espèces en Amérique centrale et latine, 250 espèces en Asie centrale et en régions méditerranéennes, 30 en Afrique du Sud et 90 espèces en Asie de l'Est (*Walker et al, 2004*).



**Figure 07:** La Distribution géographique de la plante medicinale *Salvia officinalis*(présenter en rouge) (**zaabat, 2021**).

## **I .4 Taxonomie**

Cette classification hiérarchique est proposée par *l'Inventaire national du patrimoine naturel(INPN) 2003-2024* :

Domaine : Biota Endl.(D.Don)

Règne : Plantae Haeckel, 1866

Sous-Règne : Viridaeplantae

Infra-Règne : Streptophyta John, Williamson & Guiry, 2011

Classe : Equisetopsida C.Agardh, 1825

Clade : Tracheophyta Sinnott ex Cavalier-Smith, 1998

Clade : Spermatophyta

Sous-Classe : Magnoliidae Novák ex Takht., 1967

Super-Ordre : Asteranae Takht., 1967

Ordre : Lamiales Bromhead, 1838

Famille : Lamiaceae, Martinov, 1820 [nom. cons.]

Sous-Famille : Nepetoideae, Burnett, 1835

Tribu : Mentheae, Dumort., 1827

Sous-Tribu : Salviinae, Endl., 1838

Genre : *Salvia* L., 1753

Espèce : *Salvia officinalis* L., 1753

Sous-Espèce : *Salvia officinalis* L., 1753 subsp. *officinalis*

Sous-Espèce : *Salvia officinalis* subsp. *gallica* (W.Lippert) Reales, D.Rivera & Obón, 2004

Sous-Espèce : *Salvia officinalis* subsp. *lavandulifolia* (Vahl) Gams, 1927

Nom vernaculaires .

### **I .5 L'usage de la sauge**

La sauge est avérée active dans les préparations combinées pour le traitement de la bronchite aiguë et chronique. Les études *in vivo*, montrent que les extraits de sauge ont un effet hypotensif et déprimant sur le système nerveux central (*NEWALL et al, 1996*).

Au Mexique et à l'Amérique latine, les graines de quelques espèces de sauge sont intensivement employées par les Américains indigènes comme source de nourriture et aussi pour préparer ses boissons (*NOLL, 1951*).

On utilise la sauge pour apaiser les douleurs abdominales et les troubles digestifs (ballonnements, flatulences), combattre la transpiration excessive et les sueurs nocturnes causées par la ménopause. En cas d'infections virales, elles pourraient aussi diminuer les inflammations des muqueuses de la bouche, de la gorge et du nez (*VIDAL, 2012*).

L'EMA considère que l'utilisation de la sauge officinale est « traditionnelle » dans le traitement symptomatique des petits problèmes digestifs (brûlures d'estomac, ballonnements), dans celui de la transpiration excessive et, en application locale, dans celui des inflammations de la bouche, de la gorge et de la peau (*EMA, 2010*).

L'huile essentielle de sauge est utilisée dans la production de parfums, de savon, de dentifrice et de cosmétiques. On l'utilise également en aromathérapie (bains et massages, etc...).(Gotz et al, 2007).

### **I .6 Toxicité de la sauge**

Jusqu'à 50% de thuyone peut être présente dans l'huile essentielle de sauge officinalis, ce qui peut entraîner des effets épilptisants et neurotoxiques. Cependant, il n'a pas été rapporté de toxicité aiguë ou chronique après l'utilisation des feuilles de sauge et de son huile essentielle à des doses habituelles (jusqu'à 15 gouttes par jour) (*Iserin, 2001*).

Si les doses recommandées ne sont pas respectées, la sauge peut entraîner des effets indésirables tels que des nausées, des vomissements, des bouffées de chaleur, une accélération

des battements du cœur, des vertiges et des convulsions (*Teuscher et al, 2005*).

## **II Généralité sur les huiles essentielles**

### **II.1 Les huiles essentielles**

Une huile essentielle est un liquide odorant et volatil, non gras, extrait d'un végétal. Certains végétaux produisent une sécrétion spécialisée qui se trouve dans des structures spécialisées (poils, poches et canaux sécréteurs). Pour extraire les composés aromatiques, l'HE choisira l'ensemble de la plante aromatique, voire plus précisément certains de ses organes (racine, écorce, feuille, fleur, fruit, graine...).(Fronsoise et al, 2013).

Les huiles essentielles, également connues sous le nom d'essence, sont des substances de forme huileuse, plus ou moins fluides, voire résinoïdes, très odorantes, volatiles, souvent colorées et plus légères que l'eau (densité de l'ordre de 0,750 à 0,990) (*bardeau, 2013*).

### **II.2 Le rôle des huiles essentielles**

La survie des plantes repose sur leurs huiles essentielles. Comme elles ne pouvaient pas se déplacer pour se mettre à l'abri, il leur était nécessaire de créer un système de protection extrêmement efficace, avec des antibiotiques, des anti-solaire, etc. En fin de compte, ce sont elles qui ont conçu l'aromathérapie! Ils utilisent les huiles essentielles pour attirer les insectes pollinisateurs, se prémunir contre les brûlures solaires, les rédateurs et les maladies, et enfin pour guérir (blessures, diverses attaques...). (*Daniel, 2014*)

Les propriétés anti-infectieuses, antiseptiques et antivirales de ces plantes sont très fortes. Ces alternatives sont les seules aux antibiotiques et elles ont largement démontré leur efficacité dans ce domaine. Cependant, leurs capacités sont bien plus étendues : elles sont analgésiques, cicatrisantes, anti-hémorragiques, digestives, elles régulent l'immunité, les hormones, elles atténuent les graisses infiltrées ou renforcent les vaisseaux sanguins... Chaque huile essentielle a son propre rôle et, pour la plupart d'entre elles, ses multiples fonctions! (*Daniel, 2014*).

### **II.3 Composition chimique des huiles essentielles**

La composition chimique d'une huile essentielle est extrêmement complexe et sujette à de multiples fluctuations. Il est essentiel de connaître précisément les composants d'une huile essentielle, tant pour vérifier sa qualité que pour expliquer ses propriétés et anticiper sa toxicité potentielle (*covic, 2013*).

### II .3.1 Les composés terpéniques

tels que les monoterpènes C10, les sesquiterpènes C15, les diterpènes C20 et les triterpènes C30.

Les terpènes sont des hydrocarbures dans leur forme stricte, mais de nombreux dérivés (alcools, aldéhydes, cétones, acides) ayant une structure similaire sont considérés comme des composés terpéniques. Les composants "de senteurs" (tels que la térébenthine, le camphre, le menthol et la Citronnelle) sont fréquemment extraits sous forme d'huiles essentielles utilisées dans la parfumerie. (*couic marinier*). Les composés végétaux sont largement répandus, se distinguant par la présence d'une unité isoprénique composée de 5 atomes de carbone à la formule générale (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) dans leur squelette. (*Lamarti et al., 1994*).

### II .3.2 Les différentes molécules aromatique

Les huiles essentielles sont constituées de diverses substances appelées aromatiques, car elles dégagent une forte odeur. Les propriétés, le champ d'action et la toxicité des huiles sont modifiés par les molécules présentes et leurs proportions (*Jessus, 2016*).

Selon *Bernard et al. (1988)*, les huiles essentielles contiennent également des composés odorants (phényl-propanoïdes) dont la biogenèse diffère de celle des terpènes.

Les aldéhydes.

Les phénols et les éthers.

Les comarines

### II .3.3 Les composés d'origine divers

D'après *Bruneton (1995)*, les HE peuvent contenir différents composés alphabétiques, généralement de faible masse moléculaire, qui peuvent être entraînés lors de l'hydrodistillation : acides, aldéhydes, esters acycliques et lactones.

## II .4 Composition chimique de l'huile essentielle de sauge

Les polyphénols présents dans la sauge sont principalement des flavonoïdes et des acides-phénols tels que les acides caféique, les acides chlorogéniques et les acides rosmariniques. La salvine est également composée d'un acide diterpénique qui lui confère ses propriétés bactéricides, d'un principe amer (la picrosalvine), et d'une huile essentielle contenant

une cétone terpénique (la thuyone). (Gilly, 2005). Selon Fréuleux (2009), il est également une excellente source de vitamines K, A et C, ainsi que de fibres, de folates, de magnésium, de potassium, de calcium et de manganèse (Fréuleux, 2009).

D'après Botinau, 2010. Les composants de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* comprennent du camphre, du cinéole et des cétones monoterpéniques bicycliques Alpha et Beta-thujones. Ces cétones peuvent représenter jusqu'à 60% de l'huile essentielle, avec l'alpha-thujone étant toujours largement dominant. La composition de l'huile essentielle dépend de divers éléments. L'EH de sauge officinale présente le profil suivant : L'alpha-thujone est de 18,43%, le Beta-thujone est de 3,85% et le camphre est de 4,524,5%. Cinéole : 5,513%. Humulène : 0,12 %, alpha-pinène : 1,65%, camphène : 1,57 %, limonène : 0,53 %, linalol libre et estérifié : 1 % au maximum, acétate de bornyle : 2,5 % au maximum.

**Tableau 01** : Composition chimique des huiles essentielles de *Salvia officinalis*. (Khedher et al., 2017).

Constituant	Quantité (%)
Camphre	25,14%
$\alpha$ -pinène	1,7 à 13,1%
$\beta$ -pinène	0,5 à 17,9%
1,8-cinéole	14,14%
$\beta$ -thujone	4,46%
$\alpha$ -thujone	18,83%
Viridiflorol	7,98%
$\beta$ -caryophyllène	3,30%
Bornéol	2,81%
$\alpha$ -humulène	2,48%
$\beta$ -myrcène	1,93%
Limonène	1,43%
$\alpha$ -terpinéol	1,33%
Acétate de bornyle	1,05%

## II.5 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles, également connues sous le nom d'essence, sont des composés de forme huileuse, plus ou moins fluides, voire résinoïdes, très parfumés, volatils, souvent colorés et plus légers que l'eau (densité de l'ordre de 0,750 à 0,990). (bardeau, 2009)

Ils se distinguent par leur volatilité des "huiles fixes". Elle est associée à leur odeur et elle leur permet d'être apprises par entraînement à la vapeur. (couic, 2013)

\_Selon *Bardeau*, 2009, les huiles essentielles sont extraites des principaux éléments végétaux tels que les sommités fleuries ou les fleurs, les feuilles ou les aiguilles, les essences ou les fruits, les racines, les écorces ou le bois.

\_Elles restent insolubles dans l'eau. Elles flottent à la surface pendant un bain et peuvent causer des irritations ou des brûlures cutanées. (*couic*, 2013 )

\_Elles sont résistantes à l'oxydation, mais ne sont pas fragiles. Leur polymérisation a tendance à se transformer en produits résineux. Il est recommandé de les conserver à l'abri de la lumière (utilisation de flacons en verre fumé) et de l'humidité. (*couic*, 2013)

\_Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante, à l'exception de la Myrrhe et du Santal qui peuvent être visqueuses, ainsi que de la Rose et du Camphrier qui peuvent cristalliser. Certaines formes cristallisent à partir de température (*couic*, 2015).

### **II.6 Activités biologique des huiles essentielles**

Une huile essentielle possède une activité biologique qui est liée à sa composition chimique et aux effets synergiques potentiels entre ses composants. Selon *Lahlou* (2004), sa valeur repose sur son "totum", c'est-à-dire l'ensemble de ses composants, et non seulement sur ses composés majoritaires.

- **Activités antivirales**

Selon *Banayad* (2008), les virus entraînent une grande diversité de maladies, dont certaines posent des problèmes difficiles à résoudre aujourd'hui. Les huiles essentielles offrent une opportunité pour traiter ces fléaux infectieux, car les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques.

- **Activités antifongiques**

La complexité de la composition des HE est estimée à la différence entre les phénols et les aldéhydes, et elle varie en fonction du type de fonction chimique. Phénols, alcools, aldéhydes, cétones, esters, hydrocarbures (*Utree et al*, 2002).

- **Activités antiseptiques**

Les propriétés désinfectantes et antiseptiques des aldéhydes et des terpènes sont bien connues, ce qui les rend très efficaces contre la prolifération des germes pathogènes (*Benayad, 2008*).

- **Activités antibactérienne**

En général, on a constaté une variété d'effets toxiques des HE sur les bactéries, tels que la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice du proton, la fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (*Davidson, 1997*).

## **II .7 La toxicité des huiles essentielles**

D'après le **centre antipoisons** , *2014*, les huiles essentielles sont produites par distillation, ce qui les rend extrêmement concentrées et contient des molécules aromatiques très puissantes. En raison de leur structure et de leur activité, ces molécules aromatiques ont la capacité d'agir sur de nombreuses pathologies spécifiques. Toutefois, il est essentiel de nuancer ce degré de toxicité en fonction de la dose, de la méthode d'utilisation et de la durée d'utilisation Certaines de ces molécules peuvent être toxiques pour l'organisme.

Il est difficile de rétablir la toxicocinétique des huiles essentielles en raison de l'action de l'un de leurs composants ou de quelques-uns de ces composants, ainsi que de certains métabolites produits par la biotransformation de ces composants. Effectivement, si les effets biologiques et/ou pharmacologiques d'un monoterpènes ou sesquiterpènes pur peuvent être étudiés et décrits, il est difficile (voire impossible) de discuter de la pharmacologie, de la pharmacocinétique ou du métabolisme d'une huile essentielle, c'est-à-dire d'un mélange d'une certaine gamme de composés (*véronique, lucette, 2021*)

### III Les Méthodes d'extraction d'Huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont extraites de manière complexe afin de recueillir les composés volatils et fragiles des végétaux sans compromettre leur qualité. Les essences florales sont volatiles, ce qui témoigne de la difficulté de cette fabrication. Les molécules odorantes se dispersent rapidement une fois que la cuticule des poches épidermiques est brisée. Il convient de souligner que les huiles essentielles obtenues ne sont pas toujours les mêmes que celles issues de la production naturelle des plantes, en raison des changements chimiques subis lors de l'extraction, comme la chaleur et les interactions avec l'eau. Ce ne sont que les huiles essentielles obtenues par expression à froid qui peuvent vraiment être l'essence pure de la plante. (Gipsy Dauge, 2024).

#### III.1 La Distillation

Il y a environ 3000 ans, les Perses et les Égyptiens ont utilisé la distillation comme technique ancienne. Cette technique, transmise par les Arabes et développée par les maîtres grasseois, permet d'extraire des huiles essentielles dont les niveaux de rendement diffèrent en fonction de la plante. Aujourd'hui, la méthode la plus répandue pour extraire les huiles essentielles est l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau. (Mikaël Zayat, 1985).

Il est recommandé de distiller immédiatement certains matériels tels que les fleurs après la récolte, tandis que d'autres sont préférables à conserver entre 1 et 2 jours avant l'extraction. L'extraction de l'essence par distillation nécessite un prétraitement de la matière première en fonction de la nature du matériel végétal utilisé. En ce qui concerne le choix et la mise en place de l'équipement approprié de distillation et la conduite précise du processus d'extraction de l'essence, ils seront établis par des essais pratiques. Ce principe est utilisé par trois méthodes : l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau. (Siaka KONE, 2001).

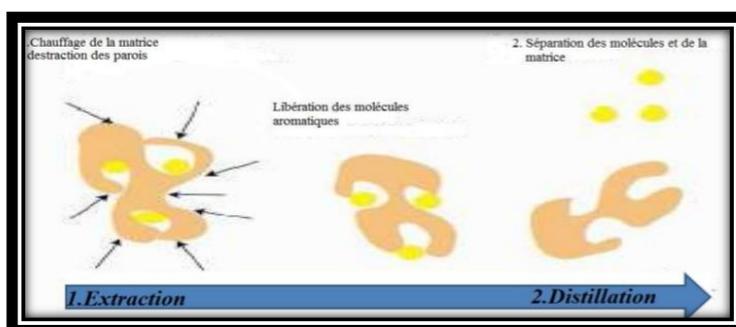


Figure 08 : Les étapes de l'extraction des huiles essentielles.(LUCCHESI, 2005).

Ce principe est utilisé par trois méthodes : l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau.

### III.1.1 L'hydro-distillation

La méthode la plus ancienne pour extraire les huiles essentielles est l'hydro-distillation. Cela implique de remplir un alambic avec des plantes aromatiques et d'ajouter une quantité d'eau proportionnelle, puis de chauffer le mélange afin de générer de la vapeur, mais à une température inférieure à 100°C. (*Mikaël Zayat1985*).

La production de l'hydrolat de sauge officinale est réalisée par hydrodistillation. Dans cette approche, l'huile essentielle est séparée de l'hydrolat en différentes étapes. Les feuilles de sauge séchées sont disposées dans un alambic que la vapeur d'eau traverse. Les huiles essentielles se combinent avec la vapeur, qui se condense ensuite en liquide. L'huile essentielle est ajoutée à ce liquide dans un vase de décantation afin de séparer l'hydrolat. Les enfants et les femmes enceintes peuvent utiliser l'hydrolat, qui est moins concentré en composés actifs que l'huile essentielle, qui est sûre. (*FAUCON M, 2018*).

### III.1.2 L'entraînement à la vapeur d'eau

La méthode la plus couramment employée pour extraire les huiles essentielles est l'entraînement à la vapeur d'eau. Dans cette procédure, on dispose la matière végétale sur une grille et la vapeur d'eau traverse sans entrer en contact direct avec l'objet. Les cellules végétales éclatent sous l'effet de la vapeur, ce qui libère l'huile essentielle qui se mêle à l'eau. Par la suite, ce mélange se condense, ce qui permet de distinguer une phase aqueuse d'une phase organique. Cette méthode prévient l'hydrolyse et la détérioration des huiles essentielles, garantissant ainsi une qualité améliorée. (*J. Crouzet, 1996*).

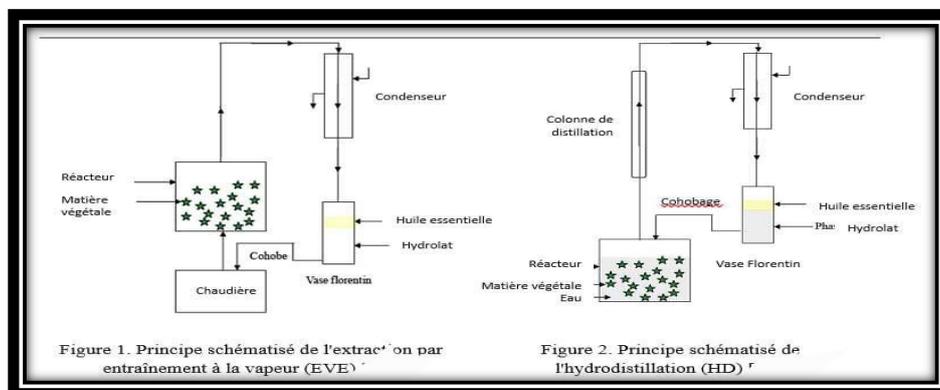


Figure 09 : Principe schématisé de l'extraction par Entraînement à la vapeur(EVE).et d'hydrodistillation (FARHAT ,A, 2010).

### III.1.3 Hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une forme d'entraînement à la vapeur où la vapeur est à la fois descendante et ascendante. Cette méthode fait appel à l'effet osmotique de la vapeur d'eau. Le mécanisme est basé sur la force gravitationnelle afin de libérer et de condenser le mélange de vapeur d'eau et d'huile essentielle présent dans la matière végétale.

L'hydrodiffusion, tout comme l'entraînement à la vapeur, permet d'éviter le contact direct entre le matériau végétal et l'eau. En outre, cette technique permet de faire des économies d'énergie en réduisant la durée de distillation, ce qui diminue la consommation de vapeur. (AFSSAPS, 2008).

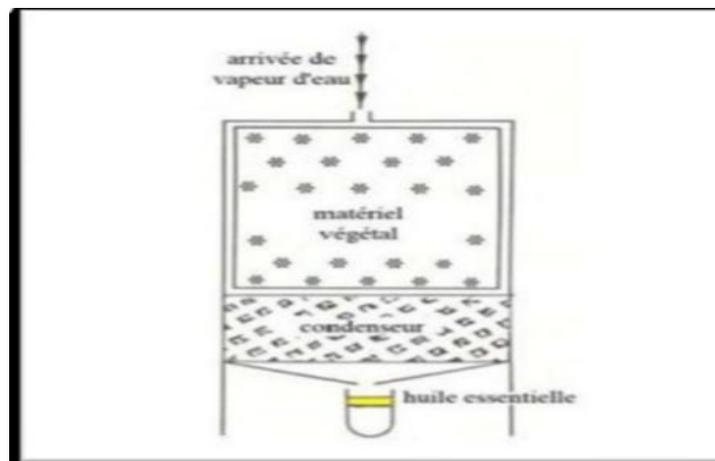


Figure 10 : Schéma du principe de Hydrodiffusion (Garneau, F.X., Collin, G.J, 2005)

## III. 2 Autres procédés

D'autres méthodes sont généralement employées pour les plantes délicates qui ne peuvent pas supporter la chaleur.

### III.2.1 L'extraction par expression à froid

L'extraction à froid est une technique mécanique employée afin d'extraire l'huile essentielle des agrumes, qui se trouve dans leur peau. Originnaire de l'Italie au 19ème siècle, cette méthode a été développée au Brésil, en Californie et en Floride. Les peaux des agrumes sont grattées pour en extraire l'essence, qui est ensuite dissoute de l'eau par décantation. Grâce à cette technique, on peut extraire des huiles essentielles telles que celles du citron, du pamplemousse, de la bergamote et de la bigarade. (Pchi Guangzhou, Fafai Kolkata, 2023).

L'extraction des essences volatiles des agrumes est réalisée par déchirure mécanique des

péricarpes afin de briser les parois des sacs oléifères situés dans le mésocarpe, sous l'écorce environ. Cette extraction était traditionnellement effectuée de manière manuelle, mais a été industrialisée au début du XXe siècle afin de diminuer les dépenses et d'accroître les rendements face à la demande croissante. Les systèmes contemporains, tels que le « Food Machinery Corporation-in-line » (FMC), offrent la possibilité d'extraire simultanément le jus et les essences sans qu'ils ne se touchent mutuellement. La préférence est accordée à l'expression à froid car elle prévient la détérioration des essences causée par la chaleur et l'oxydation, des problèmes fréquents lors de la distillation. (*Ferhat, Boukhatem., Hazzit, & Chemat, 2016*).

### III.2.2 L'extraction par CO2 supercritique

La méthode repose sur la capacité des composants à se dissoudre dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Cette caractéristique facilite l'extraction du dioxyde de carbone dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction sélectionnée. Par la suite, il est introduit dans l'extracteur contenant le matériau végétal, puis le liquide se détend pour se transformer en gaz pour être transporté vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant. Cette méthode présente l'avantage de pouvoir éliminer et recycler le solvant en utilisant une simple compression détente. De plus les températures d'extraction sont basses dans le cas de dioxyde de carbone et non agressives pour les constituants les plus fragiles. (*Lucita.lagunez rivera, 2006*)

L'extraction par CO2 supercritique offre de nombreux bénéfices importants :

- En évitant tout contact avec l'oxygène de l'air et en ne nécessitant pas de chauffage, elle réduit le risque d'oxydation.
- Son utilisation facilite l'extraction des composés lipophiles des plantes oléagineuses, ce qui conduit à des huiles riches en molécules actives.
- La qualité des extraits obtenus est optimale, car ils sont purs, sans dépôts ni sédiments.
- Cette approche respecte l'environnement, puisqu'elle ne pollue pas et utilise du CO2 qui peut être réutilisé.

Grâce à ces bénéfices, l'extraction par CO2 supercritique est une option privilégiée pour obtenir des produits de qualité supérieure, tels que certaines huiles végétales choisies dans le

catalogue. (*Aurélie d'Oléassence, 2022*).

### **III.2.3 Extraction par solvants**

L'extraction par solvant est une méthode d'extraction qui permet de séparer les composants d'un mélange en utilisant un solvant qui ne se mélange pas avec l'eau. Grâce à sa grande affinité avec les molécules à extraire, le solvant se charge de les extraire. Ensuite, le solvant est séparé de l'eau dans une ampoule à décanter. Afin de récupérer les molécules, le solvant est éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif (*Mahmoudi S et al, 2013*)

### **III.2.4 Extraction par ultrasons**

On sait que la cavitation ultrasonore a un impact important sur de nombreux processus dans l'industrie agroalimentaire. Cette méthode est très rapide, entre quelques secondes et quelques minutes, et elle est très reproductible. Différentes techniques telles que le séchage, la stérilisation, la cuisson et l'extraction ont été efficacement utilisées dans le secteur agroalimentaire. Cet article offre une synthèse des connaissances actuelles concernant l'utilisation des ultrasons dans l'extraction des plantes. Il offre les fondements théoriques essentiels sur la méthode d'extraction ultrasonore, et offre également une perspective globale sur la réglementation et la durabilité du processus d'extraction par ultrasons (*Chemat F, 2012*)

## IV Bactéries et antibiotiques

### IV.1 Définition des bactéries

Les bactéries sont les organismes vivants les plus minuscules qui existent sur notre planète. Elles ont un diamètre inférieur à  $1\mu\text{m}$  et peuvent être observées au microscope optique à l'état frais ou après coloration. Selon *Nauciel et Vildè (2005)*, ils peuvent avoir une forme sphérique (cocci), en forme de bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes).

### IV.2 Structure générale des bactéries

L'ADN des bactéries n'est pas situé dans un noyau, ce qui en fait des cellules procaryotes. De nombreuses structures circulaires d'ADN extra-chromosomique sont présentes, connues sous le nom de plasmides. Le cytoplasme ne contient d'autres organites que les ribosomes, plus petits que ceux des cellules eucaryotes. À l'exception des mycoplasmes, les bactéries sont recouvertes d'une paroi complexe, qui varie en fonction de la Gram positif ou négatif de la bactérie. Beaucoup de bactéries sont munies de flagelles, de pilis ou d'une capsule à l'extérieur du corps.

La membrane cytoplasmique des bactéries à Gram positif et Gram négatif est constituée d'une bicouche lipidique et de protéines. Le peptidoglycane est, dans les deux cas, le principal constituant de la paroi, un réseau tridimensionnel de chaînes polysaccharidiques (N-acétylglicosamine et acide N-acétylmuramique) et d'acides aminés. Chez les Gram négatifs, la paroi est presque entièrement composée de la couche de peptidoglycane, plus fine que celle des Gram positif, et elle est entourée d'une membrane externe de lipopolysaccharides et de lipoprotéines. Les molécules d'endotoxines (lipide A) qui jouent un rôle dans le pouvoir pathogène bactérien sont présentes dans la partie lipopolysaccharidique de la paroi des Gram négatif (fig.8). Selon *Hart et Shears (1999)*.

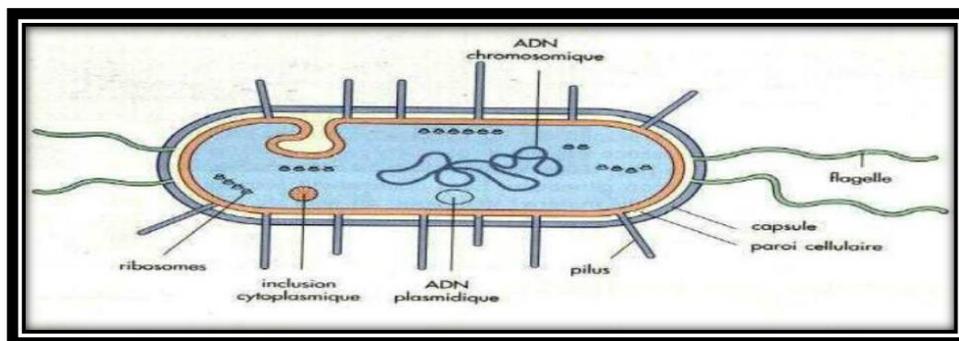


Figure 11: Structure générale d'une bactérie (Hart et Shears, 1999)

### IV.3 Bactériologie médicale

En raison de la multiplicité des bactéries responsables de maladies infectieuses plus ou moins graves, seules celles qui sont l'objet d'expérimentations pratiques seront étudiées (*Hallel, 2011*).

#### IV.3.1 *Escherichia coli*

Environ 80% de notre flore intestinale aérobie est constituée d'elle. En 1885, Théodore Escherich a découvert un coliforme fécal qui est généralement commensal dans les selles de chèvres. Toutefois, il est possible que certaines souches d'*E. coli* soient pathogènes, ce qui peut causer des gastroentérites, des infections urinaires ou des méningites (*Sezonov, 2008*).

- **Classification**

Règne : Bacteria

Embranchement : Prteobacteria

Classe : Gamma Prteobacteria

Ordre : Enterobacteriales

Famille : Enterobacteriaceae

Genre : *Escherichia* (*Sezonov, 2008*).

- **La sensibilité aux antibiotiques**

Selon *Caron et al (2014)*, *E. coli* présente une sensibilité naturelle à toutes les pénicillines (à l'exception des pénicillines G et M), aux céphalosporines, aux carbapénèmes, aux quinolones, aux aminosides, à la fosfomycine, à la nitrofurantoïne et au TMP-SMX.

#### IV.3.2 *Pseudomonas aeruginosa*

L'espèce la plus couramment rencontrée en bactériologie médicale est *Pseudomonas aeruginosa*, parfois présente dans le tube digestif. Les bactéries du genre *Pseudomonas* se distinguent par leur résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques, ce qui explique pourquoi elles sont responsables de 10 % des infections nosocomiales (*REGNAULT, 2000*)

- **Classification**

Réne : bactéria

Embranchement : Prteobacteria

Classe : Gamma Prtéobacteria

Ordre : Pseudomonadales

Famille : Pseudomonadaceae

Genre : Pseudomonas

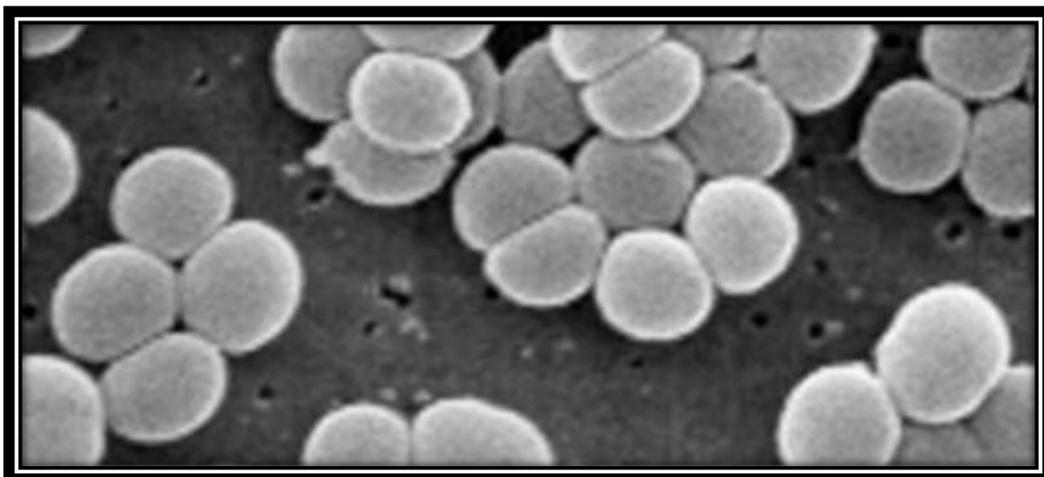
Espèce : Pseudomonas aeruginosa (*Mayer et al, 2004*).

- **Résistance aux antibiotiques**

En général, Pseudomonas aeruginosa est une bactérie multirésistante. La faible sensibilité aux antibiotiques est l'une des caractéristiques les plus préoccupantes du Pseudomonas aeruginosa (*CORNELIS, 2008*).

### IV.3.3 Staphylococcus aureus

Il est difficile de les éliminer de l'environnement humain car elles font partie des bactéries pathogènes les plus résistantes. Selon *SCHARCHER (1999)*, certaines souches produisent également des toxines qui sont responsables de diverses maladies telles que les intoxications alimentaires, le syndrome du choc toxique (TTS), une maladie principalement observée chez les enfants, le syndrome de Lyell.



**Figure12:** Staphylococcus aureus vue au microscope électronique. (Lavigne, 2012)

- **Classification**

Réne : bactéria

Division : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillaless

Famille : Micrococcaceae

Genre : staphylococcus

Espèce : staphylococcus aureus (*Pillet et al, 1983*).

- **Résistance aux antibiotiques**

Staphylococcus aureus est très résistant à de nombreux antibiotiques. L'introduction de la pénicilline a bouleversé le traitement de Staphylococcus aureus, mais malheureusement, les résistances ont rapidement compliqué les choses (*ROBERT, 1982*).

- **Définition des antibiotiques**

Selon *Muylaert et Mainil (2012)* et *Aouni et al. (2013)*, un antibiotique est une substance naturelle, synthétique ou semisynthétique qui a pour effet de détruire les micro-organismes et les bactéries ou de les empêcher de se développer (effet bactéricide).

#### **IV.4 Modes d'action des antibiotiques**

Il est essentiel que l'antibiotique ait une cible spécifique dans le monde bactérien et qu'elle soit absente, ou du moins inaccessible chez le patient. Il existe peu de stratégies disponibles pour assurer le bon fonctionnement d'un antibiotique en raison de cette contrainte. Les méthodes les plus couramment utilisées sont les suivantes.

##### **Action sur la paroi des bactéries**

L'une des caractéristiques principales des bactéries est la paroi bactérienne. Effectivement, cette structure essentielle à leur survie n'est presque pas présente chez les cellules humaines. L'efficacité d'un agent antibactérien contre cette paroi sera donc limitée chez l'homme. Ces agents ont pour but de modifier cette paroi, ce qui rend la division de la cellule plus difficile (effet bactériostatique) ou réduit sa protection contre le milieu, ce qui entraîne sa destruction (effet bactéricide).

Le peptidoglycane est principalement responsable de l'action sur la paroi bactérienne. Effectivement, cette synthèse est un processus biochimique complexe impliquant de multiples enzymes. Les antibactériens ont donc la capacité d'agir à divers moments de cette synthèse.

Par exemple, les bêta-lactamines adhèrent à des protéines de la membrane cellulaire, connues sous le nom de PLP (Protéines de liaison aux pénicillines). Quelques-unes de ces protéines jouent un rôle dans les connexions entre les chaînes de peptidoglycane de la paroi ou dans le remaniement de ces réseaux. Certains jouent des rôles spécifiques, tels que chez *Escherichia coli*. Les bêta-lactamines se fixent à elles et entravent l'action de ces PLP, ce qui entraîne la destruction directe ou indirecte de la bactérie. (*Hillel, 2011*).

### **Action sur la membrane cytoplasmique.**

Les antibiotiques s'adhèrent aux phospholipides et aux polysides membranaires et perturbent la structure de la membrane, comme c'est le cas pour la polymyxine et la colistine. (*Joffin, 2001*)

### **Action sur la synthèse protéique**

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

### **Il existe des inhibiteurs :**

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

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

**Action sur les acides nucléiques :** Les quinolones sont des composés synthétiques dont l'action consiste à inhiber des enzymes (topoisomérase ou ADN-gyrase) qui jouent un rôle dans l'enroulement des brins DNS. L'ADN est cassé par les nitrofuranes et les nitro-imidazoles. Selon *Delmée (2004)*, la rifampicine agit comme un inhibiteur de l'ARN polymérase en se fixant à l'une de ses quatre sous-unités et empêche la production d'ARN messager.

Les antibiotiques actifs seront catégorisés d'une part sur la production d'ARN et d'autre part sur la production d'ADN ou de leurs précurseurs.

La synthèse de l'ARN messager est inhibée par les Rifamycines, qui bloquent la transcriptase, une ARN polymérase ADN dépendante. Ils opèrent en inhibant la production de protéines. Selon *Guindo (2008)*, en se fixant sur les deux sous-unités bêta, elles entravent l'établissement de la chaîne de transcription de l'ADN en ARN et son élongation.

## IV.5 Classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés en fonction de :

leur origine élaborés par un organisme (nature) ou fabriqués par synthèse (synthétique ou semi-synthétique).

Le mécanisme d'action consiste à bloquer la production de la paroi, de la membrane cytoplasmique, de protéines ou d'acides nucléiques.

Le spectre d'activité fait référence aux espèces sur lesquelles les antibiotiques exercent leur activité (spectre étroit ou large).

La nature chimique peut varier considérablement, souvent en se basant sur une structure de base où il y a une hémi-synthèse (*Rahal, 2013*).

## IV.6 Résistance des bactéries aux antibiotiques

La médecine aura du mal à faire disparaître un phénomène biologique. Selon *Carle (2009)* et *Barchan et Bakkali (2015)*, un micro-organisme est qualifié de « résistant » lorsque sa concentration Minimale Inhibitrice (CMI) dépasse celle qui inhibe le développement de la plupart des autres souches de la même espèce.

### IV.6.1 Résistance naturelle (ou intrinsèque)

Selon *Loźniewski et al. (2010)*, elle est stable, transmise à la descendance (elle repose sur le chromosome bactérien comme support génétique), mais elle n'est pas ou peu transmissible de manière horizontale (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre différentes espèces).

### IV.6.2 Résistance acquise

Souvent, cette résistance est instable. Selon *Carle (2009)* et *Courvalin (2007)*, ces modifications peuvent être soit spontanées, soit acquises par un autre micro-organisme.

Elle a la capacité de se propager dans la population bactérienne. Grâce à la transformation, L'ADN nu passe du donneur au receveur. Au cours de la transduction, Un virus bactériophage effectue le transfert en utilisant son équipement moléculaire spécialisé pour introduire l'ADN bactérien dans les bactéries receptores. La conjugaison est la forme la plus courante de transmission. La réalisation de ce transfert implique un contact physique entre deux bactéries, ce qui crée un pont cytoplasmique et permet aux bactéries d'échanger leur plasmide porteur de résistance (*Bennett, 2008 ; Martinez, 2009*).

## **IV.7 Méthodes microbiologiques de détection de la résistance aux antibiotiques**

L'activité antibactérienne d'un antibiotique est caractérisée en pratique par la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) et par la CMB (Concentration Minimale Bactéricide) (*Cornut et Chiquet, 2008*).

### **• Antibiogramme**

L'antibiogramme est un examen spécifique en biologie clinique car il concerne des organismes vivants infectés plutôt que le corps humain. Il est l'instrument utilisé pour évaluer la résistance des bactéries (*Marcel, 2005*).

### **• Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)**

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) d'un antibiotique est la concentration la plus basse qui peut empêcher toute croissance visible des bactéries d'un inoculum dans un milieu de croissance spécifique et dans des conditions de culture standardisées (18 à 24 heures d'incubation, à pression atmosphérique et à une température comprise entre 35 et 37°C pour les bactéries aérobies et aéro- anaérobies (*Schelz, 2006 ;Muylaert et Manil, 2012*).

### **• Concentration Minimale Bactéricide (CMB)**

La concentration minimale d'antibiotique (CMB) est celle qui laisse 1 survivant sur 10 000 dans l'inoculum initial après 18 heures de culture à 37 C, ce qui représente 0,01% de l'inoculum initial (*Cornot et Chiquet, 2008*).

# **Matériel et Méthodes**

Durant une période de 2 mois, ce travail a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique du département des sciences de la nature et de la vie de l'université BELHADJ Bouchaib-Ain Temouchent.

### 1. choix de la plante

Pour notre recherche, nous avons étudié l'activité antibactérienne de la plante *Salvia officinalis*, aussi appelée sauge. Nous avons opté pour cette plante en raison de son potentiel thérapeutique prouvés et de sa disponibilité dans notre région. En outre, notre choix a été influencé par les connaissances locales sur l'emploi de cette plante dans la fabrication de tisanes.

### 2. Collecte du matériel végétale

#### 2.1 Recolte situation géographique et préparation des échantillons

Le matériel végétal a été collecté dans son habitat naturel à Aghlal de janvier à mars 2024 pour l'étude de la *Salvia officinalis*. Aghlal est une localité de la wilaya d'Ain Temouchent, dans l'ouest de l'Algérie, à 35°12'06" Nord et 04°09' Ouest. Le climat de cette région est méditerranéen, avec des étés chauds et des hivers tempérés.



Figure 13: Situation géographique de la région d'AGHLAL.

On a collecté et séché le matériel végétal à l'ombre, à température ambiante, dans un environnement sec et aéré du laboratoire pendant une période de 9 à 14 jours pour préserver l'intégrité des molécules. Après avoir atteint la sécheresse, la plante est extraite.



**Figure14** :Feuilles fraîches de la *s.Officinalis*



**Figure15** :Feuilles sèches de la sauge

### 3. L'extraction d'huile essentielle

L'huile essentielle de sauge a été extraite en utilisant la technique d'hydrodistillation. Grâce à cette approche, la qualité, l'arôme et les avantages thérapeutiques des huiles essentielles sont préservés, ce qui offre une expérience d'aromathérapie authentique et vigoureuse.

- **L'extraction par l'hydrodistillation**

L'hydrodistillation est un montage d'extraction composé d'un chauffe-ballon, d'un ballon en verre Pyrex où sont placés le matériel végétal sec, de l'eau distillée et d'une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant), ainsi qu'un Dean Stark. Cette méthode permet de produire de l'huile essentielle de sauge.



**Figure16**: Le montage d'hydrodistillation

- **Protocole opératoire d'hydrodistillation**

On a mis 30 g de parties aériennes de sauge séchée dans le ballon bicol de 500 ml.avec 150 ml d'eau distillée. Le mélange est porté à ébullition à l'aide de la chauffe ballon pendant 2 h.

Les vapeurs chargées d'huile essentielle et l'eau passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation puis la séparation ce qui résulte

l'apparition de deux phases, une est organique (huile essentielle) et l'autre est aqueuse (ou l'hydrolat) ayant une densité plus élevée (Saidi *et al*, 2018).

- **La conservation de l'huile essentielle**

Il est recommandé de conserver l'huile essentielle de la *sauge officinalis* dans un tube en verre à une température proche de 4°C, à l'abri de la lumière, et enveloppé de papier d'aluminium jusqu'à leur utilisation afin d'éviter toute détérioration.

- **Milieu de culture**

Gélose Mueller Hinton (MH) : environnement utilisé pour étudier la résistance des bactéries. La concentration minimale inhibitrice (CMI) des bactéries est étudiée dans le Bouillon Mueller Hinton (MHB).

- **Préparation des solutions**

Trois solutions avec des concentrations différentes d'huile essentielle de la *s. officinalis* ont été préparées et mélangées avec DMSO.

**Tableau 02** : Les concentrations utilisées d'EH (mg/ml) de la *S. Officinalis*

N° Solution	1	2	3
Quantité d'HE (mg/ml)	50	100	150

- **Les antibiotiques**

Plusieurs antibiotiques sous forme de disques ont été testés pour leur efficacité, tels que

Amoxylave AMC 30	Ampiciline AMP 10	Cefazoline CZ	Co.trimoxasole COT	Gentamicine GEN
---------------------	----------------------	------------------	-----------------------	--------------------

#### **4. Méthode en milieu solide**

- **Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode d'aromatogramme**

La détermination de l'activité antibactérienne de notre huile essentielle a été réalisée en utilisant la méthode de diffusion sur disques en milieu gélose, comme indiqué dans la méthode décrite par (*Bouhaddouda et al, 2016*) avec quelques ajustements.

- **Principe**

Le concept consiste à appliquer une suspension bactérienne sur la surface d'un milieu de culture gélosé (coulé en boîte de Pétri<sup>4</sup>) afin de favoriser la croissance des bactéries sur toute la surface de la gélose solidifiée. Ensuite, des petits disques de papier whatman (d'environ 6 mm de diamètre) sont placés sur la gélose et sont imprégnés des huiles essentielles que l'on souhaite tester (8µL sont suffisants). Il est incubé pendant 24 heures à une température de 37°C (*Christine, 2024*).

- **Préparation des disques**

L'extrait naturel à tester est contenu dans des disques de papier Whatman n°3 de 6 mm de diamètre, stériles (stérilisés à 120°C pendant 15 minutes par autoclavage). Des disques imprégnés de DMSO sont également utilisés comme témoin négatif.

- **Préparation des milieux de culture**

Les boîtes de pétri ont été préparées en utilisant de la MH stérile et chaude, que nous avons placées dans des boîtes de pétri stériles de 90 mm de diamètre. La gélose mesure 4 mm d'épaisseur. Il est nécessaire de sécher ces boîtes à température ambiante pendant 30 minutes avant de les utiliser.

- **Ensemencement et dépôt des disques**

Les bactéries sont prélevées à l'aide d'un écouvillon stérile et placées dans la boîte pétrie

contenant le milieu de culture coulé et solidifié. La méthode d'Ensemencement des trois cadrans est utilisée.

Des disques de papier Wattman n°1 de 6mm de diamètre stériles imbibés de différentes solutions de différentes concentration d'huile essentielle : 50mg/ml ; 100mg/ml ; 150mg/ml.

La quantité d'huile essentielle doit être placée dans la même boîte pour chaque dépôt, puis toutes les boîtes de Pétri doivent être scellées avec du parafilm stérile afin d'éviter toute évaporation éventuelle des huiles. Leur température est maintenue à 4 °C pendant 2 heures, puis après 24 heures d'incubation à 37°C, sur mesure du diamètre d'inhibition.

- **La lecture des résultats**

On mesure et compare le diamètre des zones d'inhibition en utilisant les diamètres critiques standards suivants :

**Tableau 03 :** Les diamètre critique standards

	D<8	8<D<14	14<D<18	D>18
Pas sensible	-			
Moyennement sensible		+		
sensible			++	
Extrêmement sensible				+++

#### **4. Méthode des micro-dilutions en milieu liquide**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) sont utilisées pour évaluer l'efficacité de l'huile essentielle testée. Grâce à ces niveaux, nous pouvons évaluer la nature de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle, qu'elle soit bactériostatique ou bactéricide.

- **La détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMI)**

C'est le niveau le plus bas qui empêche la croissance d'une certaine souche de bactéries. (*Derwich et al., 2010*).

Il s'agit de les ensomencer à l'aide d'un inoculum standardisé. Une variété de niveaux de

concentration en huile essentielle. L'observation de la gamme après l'incubation permet d'atteindre la concentration minimale inhibitrice (CMI) (*Chebaibi et al, 2016*).

Afin d'évaluer la performance de l'huile essentielle de *S. officinalis*, une solution mère a été préparée avec une concentration initiale de 50 mg/ml d'huile essentielle. Par la suite, une série de dilutions à partir de cette solution a été réalisée dans une plaque de 96 puits. La valeur finale obtenue est de 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 et 1/256. 100µl de chaque dilution ont été transférés dans les 10 puits successifs contenant 100µl de bouillon Mueller-Hinton. Par la suite, nous avons injecté 20µl d'inoculum bactérien standardisé dans chaque puits. Chacune des lignes de la plaque est dédiée à une souche particulière.

Pour les deux puits précédents, nous avons effectué les vérifications suivantes :

Le puits est rempli avec 100µl de bouillon Mueller-Hinton (BMH) pour détecter un contrôle négatif. Il est utilisé comme point de référence pour s'assurer que toute croissance bactérienne observée dans les autres puits est causée par l'activité de l'huile essentielle et non par des éléments externes.

Nous avons effectué un contrôle positif en ajoutant 100µl de BMH, 100µl d'huile essentielle et 20µl d'inoculum bactérien standardisé dans ce puits. Grâce à ce test, nous pouvons évaluer l'efficacité de l'huile essentielle dans la lutte contre les bactéries.

Puis, les plaques ont été recouvertes et ont été incubées à une température de 37°C pendant 24 heures.

- **Lecture des résultats**

Après incubation, on évalue la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle en partant du premier puits de la gamme qui ne présente aucune croissance bactérienne visible. La présence d'un trouble blanc au fond du puits indique la présence de croissance bactérienne.

## **5. Détermination de Concentration Minimale Bactéricide (CMB)**

Après 24 heures de contact à une température de 37°C, la CMB est la concentration la plus faible qui détruit 99,99% d'une population bactérienne.

CMB : 5 µL de suspension bactérienne ont été prélevés à partir des puits qui ne présentaient aucune croissance bactérienne. Par la suite, ces échantillons ont été placés en strie sur un substrat de culture MH. On a incubé les boîtes ainsiensemencées pendant 18 heures à une température de 37°C. La CMB est définie comme la concentration minimale d'agent

antimicrobien (EH) qui a provoqué un liquide transparent sans croissance bactérienne visible sur la boîte de Pétri.

## **6. Le rapport CMB/CMI**

Afin de déterminer si les HEs sont bactéricides ou seulement bactériostatiques, le rapport CMB/CMI a été calculé. D'après *Traoré et al. (2012)*, une substance est considérée comme bactéricide si le rapport CMB/CMI est inférieur ou égal à 4, tandis qu'elle est considérée comme bactériostatique si ce rapport est supérieur à 4 (*Guinoiseau, 2010*).

## **7. L'évaluation de l'activité antibactérienne par l'antibiogramme**

L'activité antibactérienne a été évaluée à l'aide d'antibiotiques suivant les étapes précédemment mentionnées :

- 1\_Élaboration de boîtes stériles de Pétri contenant un milieu de culture solide (MH).
- 2\_Mise en culture des souches bactériennes dans le milieu. Les disques d'antibiotiques sont placés dans des zones différentes.
- 4\_Incubation des boîtes de Pétri à une température de 37 °C pendant une journée.
- 5\_Analyse des conclusions et évaluation des diamètres critiques normaux (tableau 03).

## **8. L'effet synergique de l'huile essentielle de la *saug*e *officinale* et les antibiotiques**

Dans cette technique nous avons examiné L'effet combiné entre l'huile essentielle de *salvia officinalis* et les antibiotiques sur l'activité bactériennes.

On remplit quatre boîtes stériles avec de la MH chaude et on les laisse solidifier.

Les souches bactériennes sont introduites dans le milieu de culture solide en utilisant un écouvillon stérile.

La méthode implique la combinaison des antibiotiques et des huiles essentielles de *Salvia officinalis* (20 µl du s2 : 100 mg/ml).

Enfin, on a incubé les boîtes de Pétri pendant 24 heures à une température de 37 °C.

# **Résultats et discussion**

## 1. Analyse d'huile essentielle extraite

### 1.1 Paramètres organoleptiques d'huile essentielle

Les caractéristiques sensorielles de l'huile essentielle de *S. officinalis* sont synthétisées dans le tableau 04.

**Tableau 04** : Caractéristique organoleptiques d'huile essentielle de la *S.offisinalis*

Paramètres organoleptiques	couleur	aspect	Odeur
	Vert-jaune	liquide	Forte odeur de la sauge caractéristique

## 2. Activité antibactérienne d'huile essentielle

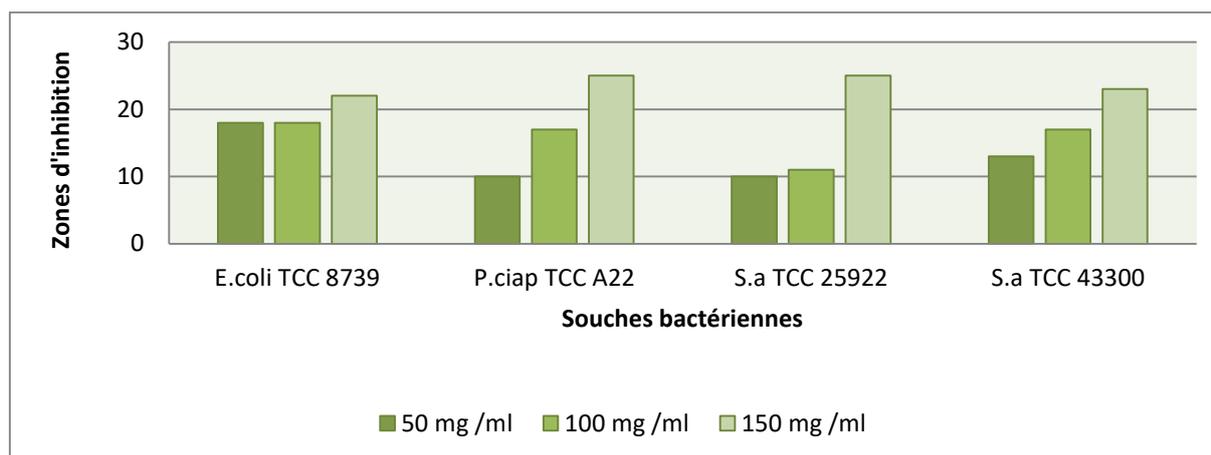
### 2.1 Évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disques

La diffusion en disques avec quatre souches bactériennes a été utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *S. officinalis*. Les résultats ont montré que la croissance bactérienne est inhibée en fonction du diamètre de la zone d'inhibition.

**Tableau 05** : L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la *s.offisinalis* réalisé par la méthode de diffusion sur disques

	50 mg /ml	100 mg /ml	150 mg /ml
E.coli ATCC 8739	18	18	22
P.acip ATCC A22	11	17	25
S.a ATCC 25922	10	11	25
S.a ATCC 43300	13	17	23

Une activité significative de l'huile essentielle de *S. officinalis* est observée contre toutes les souches bactériennes étudiées.



**Figure 17:** Représentation graphique de l'activité antibactérienne d'huile essentielle *S.Officinalis* réalisé par la méthode de diffusion sur disque

Plus précisément, l'huile essentielle de *S. officinalis* a démontré une activité élevée contre l'*E. coli* (quelle que soit la concentration), tandis que son activité contre le staphylocoque ATCC 25922 était modérée.

L'activité antibactérienne montre que les souches bactériennes ont différents niveaux de sensibilité. Pour :

**E.coli ATCC 8739 :** Elle a été très sensible à partir des concentrations les plus basses (50 mg/ml et 100 mg/ml), tandis qu'elle était extrêmement sensible à partir de 150 mg/ml. A propos de la *P.a cip ATCC A22* : la sensibilité a été observée à une concentration de 50 mg/ml, mais elle a augmenté avec l'augmentation de la concentration. **S.a ATCC 25922** Il a été constaté que la zone d'inhibition la plus importante était visible à 150 mg/ml, tandis qu'une zone d'inhibition moyenne était observée à 50 mg/ml et 100 mg/ml. La souche bactérienne **S.a ATCC 43300** a montré une zone d'inhibition de taille moyenne à une concentration de 50 mg/ml, ce qui suggère une sensibilité modérée à l'huile essentielle de *S.officinalis*. En outre, la concentration accrue a provoqué une sensibilité accrue de cette bactérie.

On a observé que le diamètre d'inhibition le plus élevé était de 150 mg/ml pour les deux types de bactéries. Toutefois, l'impact de l'huile essentielle diffère selon les espèces. La réponse à cette concentration a été optimale chez *S.a ATCC 25922* (25mm) pour les bactéries gram positives, tandis que chez les bactéries gram négatives, la réponse a été plus efficace chez la *P.acip A22* (25mm) que chez *l'E.coli*(22mm).

Le diamètre de la zone d'inhibition est directement proportionnel à la quantité d'huile essentielle

appliquée sur les souches bactériennes.

En comparant nos résultats avec d'autres études, nous pouvons affirmer que nous sommes en accord avec l'étude menée par *Chafar et al. (2015)*. Cette recherche a montré que les bactéries à gram négatif peuvent présenter une sensibilité égale ou supérieure à celle des bactéries à gram positif. Cependant, de nombreuses études ont également conclu que les bactéries à gram négatif sont généralement moins sensibles aux huiles essentielles (HEs) et à leurs composants que les bactéries à gram positif (*Mayaud et al, 2008 ; Fadli et al, 2012*). Ces observations sont en accord avec les travaux de *Sutour et al. (2008)* ainsi que ceux de *Riahi et al. (2013)* sur l'espèce *M. suaveolens*, provenant respectivement d'Ajaccio et de Tunisie, qui ont démontré une activité antimicrobienne plus élevée contre les bactéries Gram positif que Gram négatif.

Selon *Cox et al (2000)*, il est possible que la sensibilité des souches aux huiles testées varie en fonction de leur taux de pénétration à travers la paroi et la membrane cellulaire. Les huiles essentielles agissent principalement en fonction de la structure de la paroi et de la perméabilité membranaire des bactéries (bactérie de couleur blanche ou noire). (*Caillet et Lacroix, 2007*).

L'activité biologique des principes actifs, notamment celle des huiles essentielles, est liée à leur chémotype (*Benkherara et al, 2011*). L'huile essentielle agit comme un antimicrobien en perturbant la bicouche lipidique de la bactérie grâce à sa propriété hydrophobe. Cela entraîne : une augmentation de la perméabilité causée par la fuite d'ions potassium (générée par les flavonoïdes, les alcaloïdes et même les tanins), puis une perte des composants cellulaires. De plus, l'acidification de l'intérieur de la bactérie bloque la production d'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure. Enfin, la destruction du matériel génétique entraîne la mort de la bactérie (*Caillet et Lacroix, 2007*).

Différents composés terpéniques (alcool, phénols, composés terpéniques et cétoniques...) présents dans l'huile essentielle de la sauge officinale ont montré une activité antibactérienne contre les souches testées. Il est probable que les phénols aient une activité antibactérienne puissante (*BORDJIBA et al, 2024*). Selon l'espèce bactérienne et la concentration de l'huile essentielle appliquée, l'inhibition de la croissance diffère. Il est de plus en plus démontré que cette activité de substances naturelles est efficace contre les bactéries multirésistantes (*Benkherara et al, 2015*).

Les composants actifs de la sauge doivent être extraits à l'aide d'une méthode d'extraction adéquate. Différentes techniques ont été utilisées afin d'extraire les éléments actifs de la sauge. Dans ces méthodes, l'accent a été mis sur l'amélioration des paramètres d'extraction afin d'obtenir soit le rendement de l'extrait, soit le composé cible (*Ollanketo et al, 2002, Dragović-*

*Uzelac et al, 2012*).

Selon nos résultats, il a été démontré que l'huile essentielle de la *S. officinalis* testée possède une action antibactérienne. Peut-être liée à sa composition chimique. Les huiles essentielles ont une composition chimique différente d'une plante à l'autre, d'une famille à l'autre, voire d'une espèce à l'autre, ce qui explique la disparité de leur efficacité sur les bactéries (*Benkherara et al, 2011*).

### 3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle de *S.Officinalis* ont été déterminées en utilisant la méthode de micro-dilution. Les résultats des (CMI) d'huile essentielle contre les souches bactériennes sont exposés dans le **tableau (06)**.

**Tableau 06** : Résultats de l'activité antibactérienne d'huile essentielle *S.Officinalis* réalisée par la méthode de CMI

	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.38	0.19	0.09	T-	T+
E.coli	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
S.a 43300	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
S.a 25922	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
P.acip A22	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+

Les données que nous avons collectées ont montré que les valeurs de la CMI les plus élevées ont été obtenues pour l'E. coli et la *S. aureus* 43300 (à 25 mg/ml), suivies de près par la *S. aureus* 25922 (12,5 mg/ml) et la *P.acip* (3,125 mg/ml). Les bactéries présentant une CMI plus élevée sont moins sensibles à l'huile essentielle de *S. officinalis*, tandis que la *S. aureus* 25922 et la *P. acip* sont plus sensibles.

À des concentrations faibles, l'huile essentielle de *S. officinalis* présente une faible activité antibactérienne contre l'espèce testée.

En analysant nos résultats avec d'autres recherches, nous remarquons que nos résultats sont en accord avec ceux de *Hammer et al. (1999)*, qui ont évalué l'efficacité antibactérienne de l'huile essentielle de sauge officinale et de 46 autres huiles essentielles sur 10 micro-organismes. Elle

n'a pas réussi à empêcher la prolifération de ces micro-organismes à une concentration de 2%. Cependant, plusieurs études divergent de nos résultats, notamment celle *d'Amirouche et al. (2013)*, qui a examiné l'effet de l'huile essentielle de sauge sur deux souches bactériennes. Ils ont trouvé une CMI différente de la nôtre : 60 mg/ml pour la *S. aureus*, tandis que nous avons obtenu 12,5 mg/ml et 25 mg/ml pour la *S.a 25922* et la *S.a 43300* respectivement.

#### 4. Détermination de La concentration minimale bactéricide (CMB)

Le paramètre qui nous permet de mesurer l'effet bactéricide de notre huile essentielle est la détermination de (CMB) en milieu solide. La figure ci-dessus présente les résultats des concentrations minimales bactéricides d'huile essentielle par rapport aux souches bactériennes.

**Tableau 07:** Résultats des CMB d'huile essentielle *S.Officinalis* relative aux souches bactériennes

bactérie	E.coli ATCC 8739	P.acip ATCC A22	S.a ATCC 25922	S.a ATCC 43300
CMB	25mg/ml	3,125mg/ml	12,5mg/ml	25 mg/ml

Selon nos observations, l'huile essentielle de *S. officinalis* élimine toutes les bactéries testées à différentes concentrations. En outre, nous avons observé une augmentation des valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) (25 mg/ml) pour l'*E.coli* et la *S.a 43300*, ce qui suggère une sensibilité réduite à l'huile essentielle. Par contre, les valeurs de CMI des bactéries *S.a 25922* et *P.acip A22* ont été plus basses (12,5 mg/ml et 3,125 mg/ml), ce qui témoigne de leur sensibilité accrue à cette huile. D'une souche à l'autre, la concentration minimale bactériocide (CMB) diffère. La CMB était comprise entre 25 mg/ml et 3,125 mg/ml chez les bactéries à Gram négatif et entre 25 mg/ml et 12,5 mg/ml chez les bactéries à Gram positif. En résumé, il semble que les bactéries à Gram négatif aient une sensibilité plus élevée à l'huile de *S.officinalis* que de Gram positif.

Selon les résultats de *ALLOUN, 2013* il a été démontré que les valeurs CMB diffèrent en fonction de la souche testée. La CMB n'a pas été déterminée pour *P. a*, tandis que pour l'*E. coli*, elle était supérieure à 2%, et 0,125 pour la *S.aureus*.

#### 5. Qualification de l'activité antibactérienne de l'HE

On évalue in vitro l'activité des huiles essentielles sur les bactéries rencontrées en pathologie en mesurant le rapport CMB/CMI, ce qui permet de déterminer si l'huile essentielle de *S. Officinalis* est bactériostatique ou bactéricide. En cas de rapport CMB/CMI inférieur ou égal à 4, une substance est considérée comme bactéricide, tandis qu'elle est considérée comme bactériostatique si ce rapport est supérieur à 4(*Guinoiseau, 2010*).

**Tableau 08:** Le rapport CMB/CMI relative aux quatre souches bactériennes

	E.coli	P.a cip	S.a 43300	S.a 25922
rapport CMB/CMI de l'HE de <i>S. Officinalis</i>	1	1	1	1

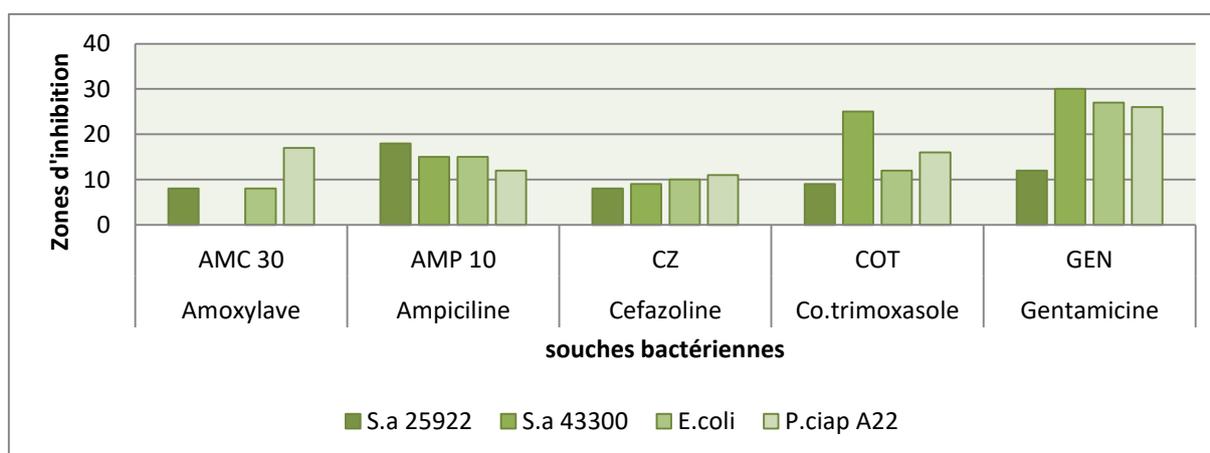
L'huile essentielle de *S. Officinalis* présente un rapport CMB/CMI de 1 pour toutes les bactéries étudiées (un rapport inférieur à 4). Ainsi, notre huile a une action bactéricide contre les souches testées examinées.

## 6. L'évaluation de l'activité antibactérienne par l'antibiogramme

Un antibiogramme est utilisé pour évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *S. officinalis*, qui permet d'évaluer la sensibilité d'une bactérie pathogène aux antibiotiques (*SYNLAB*). Les résultats ont montré que la croissance bactérienne est inhibée en fonction du diamètre de la zone d'inhibition.

**Tableau 09 :** L'activité antibactérienne réalisé par l'antibiogramme

Antibiotique /BacTérie	Amoxylave AMC 30	Ampiciline AMP 10	Cefazoline CZ	Co.trimoxasole COT	Gentamicine GEN
<i>S.a 25922</i>	8	18	8	9	12
<i>S.a 43300</i>	0	15	9	25	30
<i>E.coli</i>	8	15	10	12	27
<i>P.acip A22</i>	17	12	11	16	26



**Figure18 :** Représentation graphique de l'activité antibactérienne réalisé par la méthode d'antibiogramme

Certaines bactéries ont un phénotype différent pour certains antibiotiques. Notre étude sur les espèces étudiées montre qu'elles peuvent être sensibles à certains antibiotiques tout en

étant résistantes à d'autres.

Les données sur l'activité antibactérienne après un antibiogramme montrent que les espèces étudiées ont des niveaux de sensibilité différents selon l'antibiotique utilisé et leur phénotype aux antibiotiques.

Selon la figure(18) et le tableau (09), il est possible de constater que le test d'activité antibactérienne effectué sur les souches bactériennes étudiées présente des zones d'inhibition avec des diamètres différents pour chaque souche et antibiotique.

Nous avons observé que la plus grande zone d'inhibition est enregistrée chez la *S.a 43300* pour la Gentamicine et la Co.trimoxasole .Et la *P.acip A22* pour le Cefazoline et l'Ampiciline et la *S.a 25922* pour l'Ampiciline. Ces résultats montrent la sensibilité de ces souches aux ces antibiotiques.

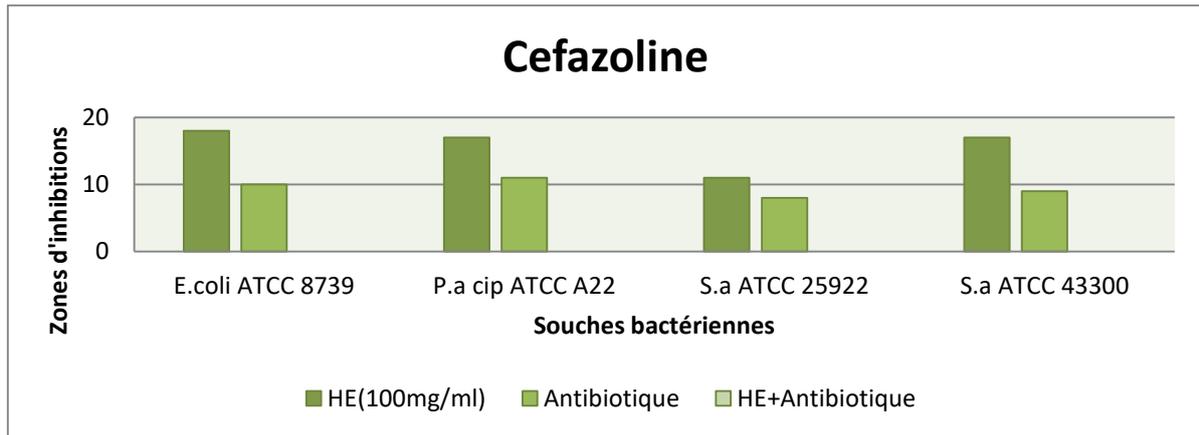
En revanche nous avons enregistré aussi des souches Bactériennes ont manifesté une sensibilité modérée (*P.acip* pour l'ampicilline et la céfazoline la *S.a 25922* , *S.a 43300* et *l'E.coli* pour la CZ et *S.a 25922* ,*l'E.coli* pour la Cot et l'AMC) , alors que d'autres bactéries expriment une résistance à certains antibiotiques.( *S.a 43300* pour l'AMC)

## 7. L'effet synergique de l'huile essentielle de la sauge officinalis et les antibiotiques

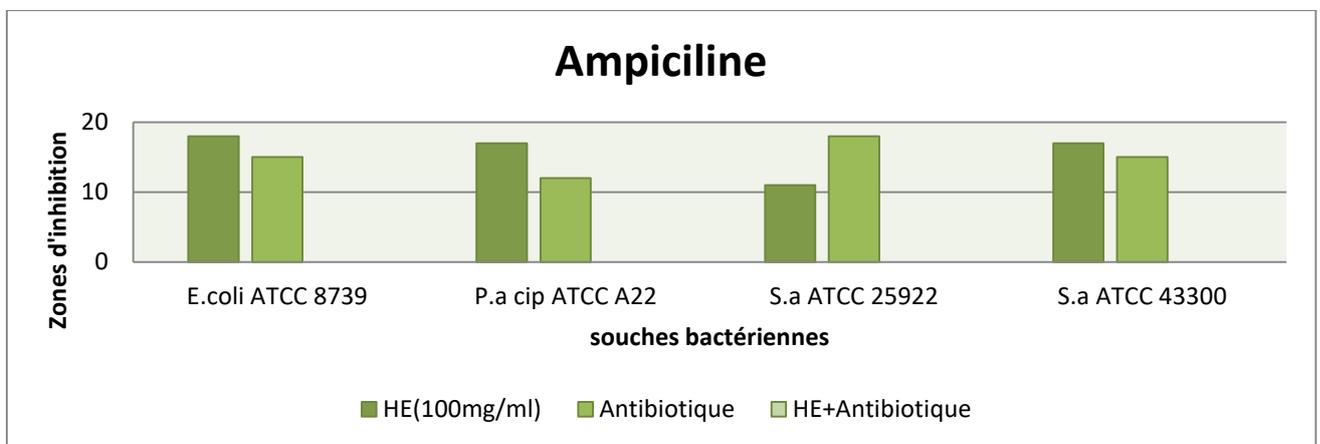
L'activité antibactérienne des souches testés est mesurée par une combinaison de l'huile essentielle de *S. officinalis* et des antibiotiques. Les résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *la s. officinalis* réalisé par la combinaison des antibiotiques et les huiles essentielles présentent dans le **tableau 10**.

**Tableau10** : Résultats de l'interaction synergétique d'huile *s.offisinalis* avec lesantibiotiques testés

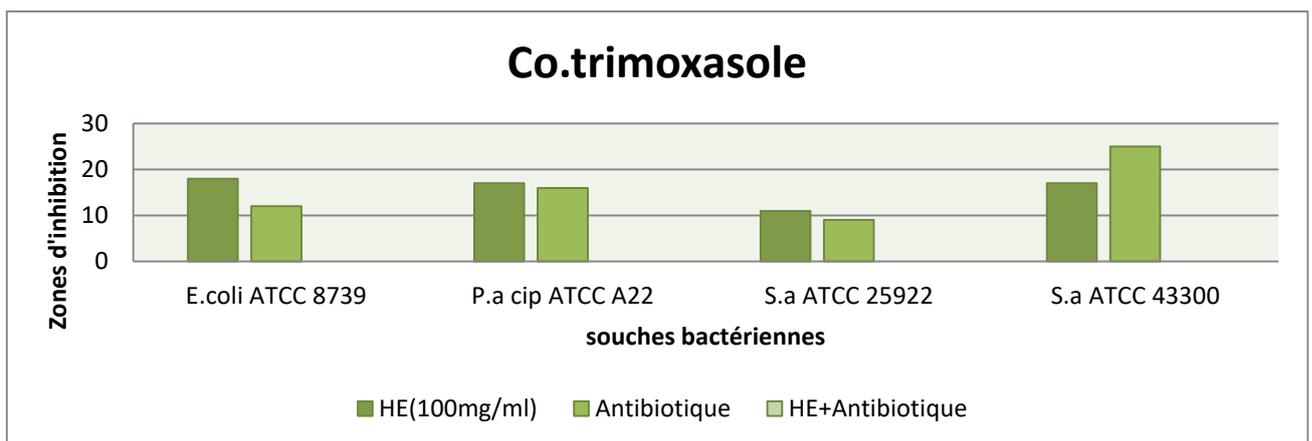
	Amoxylave AMC 30	Ampiciline AMP 10	Cefazoline CZ	Co.trimoxasole COT	Gentamicine GEN
S.a 25922	0	0	0	0	15
S.a 43300	0	0	0	0	17
E.coli	0	0	0	0	22
P.acip A22	0	0	0	0	26



**Figure19:** Représentation résultats de l'interaction synergétique d'huile *s.offisinalis* avec les antibiotiques testés(Cefazoline)



**Figure20:** Représentation résultats de l'interaction synergétique d'huile *s.offisinalis* avec



**Figure21 :** Représentation résultats de l'interaction synergétique d'huile *s.offisinalis* avec les antibiotiques testés(Co.trimoxasole)

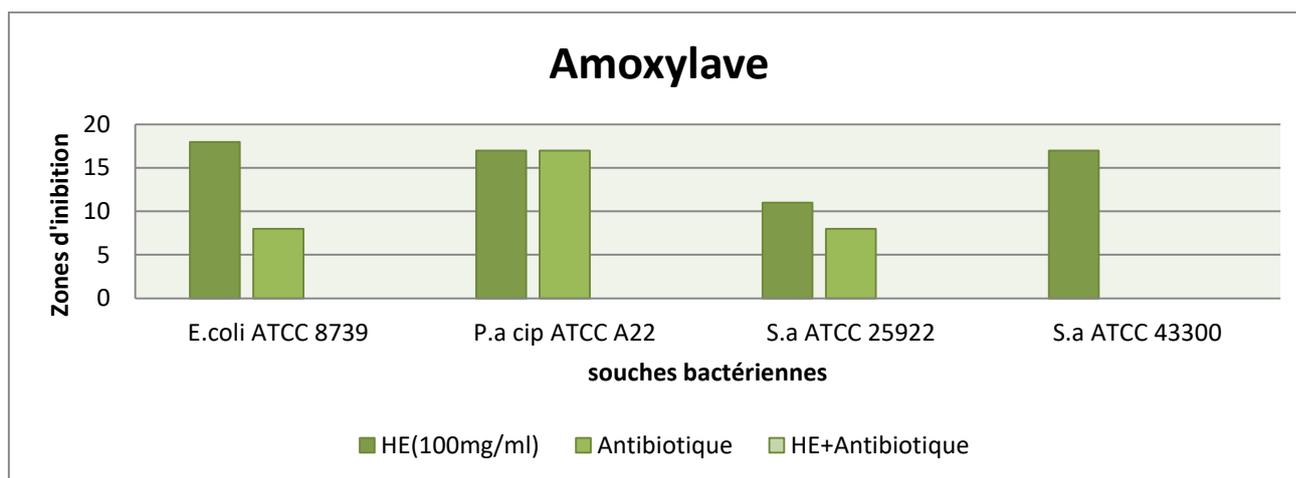


Figure 22 : Représentation résultats de l'interaction synergétique d'huile s.offisinalis avec les antibiotiques testés(Amoxyclave)

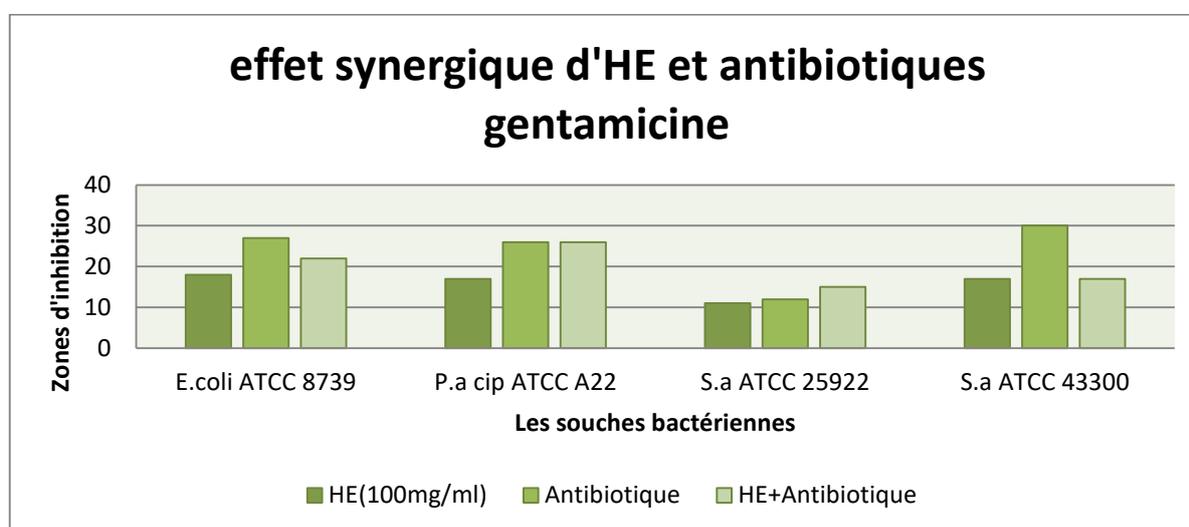


Figure 23: Représentation résultats de l'interaction synergétique d'huile s.offisinalis avec les antibiotiques testés (gentamicine)

Aucun effet synergique n'a été observé entre les antibiotiques utilisés et l'huile essentielle de la *S. officinalis*, à l'exception de la gentamicine, comme nous l'avons observé dans le tableau et la figure. Il a été constaté que la zone d'inhibition la plus importante a été détectée chez la P.acip A22, avec un diamètre de 26 mm, tandis qu'une zone plus faible a été observée chez la S.a 25922, avec un diamètre inférieur à 15 mm.

En outre, il a été observé que les bactéries gram négatif ont donné une réponse plus favorable que les bactéries gram positif. De plus, on a observé un effet synergique entre les huiles essentielles et les antibiotiques de la famille des glycoaminosides. Finalement, il a été constaté que les huiles essentielles altèrent l'action des antibiotiques.

Selon les auteurs, aucune étude in vivo n'a été réalisée pour évaluer l'efficacité des HEs et de leurs composants en tant que thérapie antibactérienne (Warnke et al, 2006). En outre, étant donné que le fonctionnement des HEs n'est pas encore pleinement connu, il demeure difficile

de déterminer leur mécanisme d'interaction avec les antibiotiques (*Owen et Laird, 2018*). D'après *Miladinovic et al. (2013)*, les combinaisons HE/antibiotique de *Thymus pulegioides* (Lamiacées) et Chloramphénicol présentent un effet synergique (FICI = 0.21). De plus, *Kwiatkowski et al. (2018)* ont déterminé un effet synergique de la Menthe poivrée (Lamiacées) avec la Gentamicine (FICI = 0.2). Les résultats obtenus dans notre étude diffèrent de ceux obtenus.

L'interaction synergique peut être extrêmement complexe à décrire avec précision dans les mélanges à base de plantes, car il y a des composants sur lesquels nous avons peu de connaissances tant sur le plan qualitatif (chimique, pharmacologique) que quantitatif (*Williamson, 2001*). Par ailleurs, il y a peu de connaissances sur les mécanismes qui régissent les interactions entre les agents combinés et leur approche aux cibles.

Quelques études sur l'utilisation des HEs dans le soin des plaies donnent une indication sur le potentiel de la thérapie combinée. Par exemple, il a été démontré qu'un mélange d'HEs contenant principalement, l'huile d'eucalyptus, utilisé pour le traitement des ulcères nécrotiques cancéreux chez des patients sous antibiotiques, a conduit à une réduction de l'inflammation et des mauvaises odeurs, et dans certains cas à la réduction complète des ulcères (*Warnke et al., 2006*).

# **Conclusion**

Les plantes médicinales offrent une abondance inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs, appelés métabolites secondaires. Cependant, leur répartition qualitative et quantitative varie en fonction des espèces, et l'accumulation de ces composés dans les divers organes des plantes joue un rôle important dans leur durabilité naturelle.

L'évaluation des activités biologiques des plantes médicinales reste une tâche importante et pratique, notamment pour découvrir de nouvelles sources d'agents antimicrobiens naturels. Dans cette situation, nous avons effectué des tests *in vitro* pour évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la sauge officinale.

L'extraction par hydrodistillation des feuilles de la sauge officinale permet la récupération d'huile essentielle de cette plante médicinales.

La méthode de diffusion en milieu solide révèle l'effet antibactérien des huiles essentielles de la sauge officinale, en présence de quatre bactéries pathogènes : Les espèces de *Staphylococcus aureus* (25922 et 43300) ; *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats obtenus lors de l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extrait contre les différentes souches bactériennes étudiées ont montré une forte réaction contre les bactéries gram négatif que les gram positif. Par conséquent, l'huile essentielle de la *S. Officinalis* a également démontré une forte activité inhibitrice pour les bactéries gram négatif que les gram positif à des différentes concentrations pour les quatres souches étudiées.

D'après le calcul de rapport CMB/CMI, il a été déterminé que l'huile essentielle de *S.Officinalis* a une action bactéricide contre toutes les souches bactériennes.

l'évaluation de l'activité antibactérienne par l'utilistation de différentes antibiotiques (Amoxylave, Ampiciline, Cefazoline, Co.trimoxasole, gentamicine) montre que certaines bactéries peuvent être sensibles à certains antibiotiques tout en étant résistantes à d'autres.

La combinaison des antibiotiques et l'huile essentielle de la *S. Officinalis* n'a été enregistrer aucun effet synergique entre les antibiotiques utilisés (Amoxylave, Ampiciline, Cefazoline, Co.trimoxasole) et huile essentielle de la *S. officinalis*, à l'exception de la gentamicine, qui a démontré une réponse élevée aux bactéries à gram négatifs par rapport aux bactéries à gram positifs.

Cette recherche pourrait servir de fondement à la création d'une nouvelle génération d'antimicrobiens naturels qui pourraient être utilisés chez l'homme pour lutter contre les infections qui ne sont pas soumises aux antibiotiques classiques.

Poursuivre les recherches sur la combinaison d'huiles essentielles, comme celle de la sauge, avec divers antibiotiques pour identifier d'éventuels effets synergiques. Une étude plus approfondie pourrait inclure un plus grand nombre d'antibiotiques et différentes concentrations pour déterminer les combinaisons les plus efficaces.

Isoler et identifier les principaux composés bioactifs présents dans l'huile essentielle de sauge pour comprendre leurs mécanismes d'action antibactérienne. Cela pourrait faciliter la synthèse de composés dérivés ou analogues avec une activité antibactérienne améliorée.

Étendre les recherches in vitro aux modèles animaux pour évaluer l'efficacité et la sécurité des huiles essentielles et de leurs combinaisons avec des antibiotiques dans un contexte plus complexe et proche de l'utilisation humaine.

# **Référence bibliographique**

- ALLOUN, K. (2013). Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de l'aneth (*Anethum graveolens* L.), de la sauge (*Salvia officinalis* L.) et de la rue des montagnes (*Ruta montana* L.) (Thèse de doctorat).
- Amirouche R., Belkolai F., 2013. Effet in vitro de l'association des huiles essentielles de *Salvia Officinalis*, *Melaleuca alternifolia* et deux composés majoritaires sur les bactéries, Mémoire de Master, Université de Bejaia.
- Aouni, M., Peleni, F., et Soulimani, R. (2013). Etude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. *Phytothérapie* .11 :225-236.
- Aurelie d'Oleassence, 2022. L'extraction par le CO<sub>2</sub> supercritique (CO<sub>2</sub>).
- Badoc, A., Deffieux, G., Lamarti, A., Bourgeois, G. et Carde, JP (1994). Huile essentielle de *Foeniculum vulgare* Mill. (fenouil) subsp. *piperitum* (Ucria) Cout. fruit. *Journal de recherche sur les huiles essentielles* , 6 (4), 333-336.
- Barchan, A., Bakkali, M., Arakrak, A., Laglaoui, A. (2012). Effet antibactérien et antibiofilm de trois espèces de *Mentha piperita*. *Phytothérapie*, 1-9.
- Bardeau, F. (2009). Les huiles essentielles . Fernand Lanoré.
- Bektas, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., Polissiou, M. 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae), *Food Chemistry*, 90: 333–340.
- Bektas, T., Dimitra, D., Atalay, S., Munevver, S., & Moschos, P. (2005). Antimicrobial And antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller. *Food Chemistr* , 90.
- Benayad, N., Ebrahim, W., Hakiki, A. et Mosaddak, M. (2012). Caractérisation chimique et évaluation insecticide de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* L. et *Mentha pulegium* L. cultivées au Maroc. Étude et recherche scientifiques. *Chimie & Génie Chimique, Biotechnologie, Industrie Agroalimentaire* , 13 (1), 27.
- Bennett, P. M. (2008). Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *BrJ Pharmacol*, 153 (1), 347-57.
- BERCHE, P. GAILLAURD J.L, SIMONET, M Guide pour l'interprétation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) *Bactériologie*. édition FLAMARION et C, 1981, PARIS .P:595,596

- BORDJIBA Ouahiba et DJAHRA Ali Boutlelis , 2024 .Action des Principes Actifs Naturels d'une Plante Aromatique Algérienne Vis-à-Vis des Entérobactéries Pathogènes. Available from:.
- Botinau, M. (2010). Botanique et appliquée des plantes à fleurs. Ed: Lavoisier
- Bouank, H., Kerouaz, M., & Bekka, F. E. (2016). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de quelques espèces de lamiaceae et effet de leurs associations avec les antibiotiques (Doctoral dissertation, Université de Jijel).
- Bouhaddouda, N., Aouadi, S. et Labiod, R. (2016). Évaluation de la composition chimique et des activités biologiques de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique d'*Origanum vulgare* L. ssp. *glandulosum* (DESF.) Ietswaart d'Algérie. *Int. J. Pharmacogn. Phytochim. Rés* , 8 , 104-112.
- Bouzaoui Nassima, H. Z. (2013). Détermination de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*
- Bouzaoui Nassima, H. Z. (2013). Détermination de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.
- **CAILLET** , L. SAUCIER et M. **LACROIX**, 2007. Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire.
- Carle, S.(2009). La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important.*Pharmactuel*.42,6-21.
- Centre Antipoisons, août 2014
- CHARLES. J., SCHWILGNE. A., *Traité de matière médicale*, 2ème Edition, J.A. Brosson, 347p,1809.
- Chemat F., Abert-Vian M., Cravotto G. 2012, Green extraction of natural products : concept and principles, *Int. J. Molecular Sciences*, 13, p. 8615.
- **Chemat F., Abert-Vian M., Cravotto G. 2012**, Green extraction of natural products : concept and principles, *Int. J. Molecular Sciences*, 13, p. 8615.
- Christine Cieur, 2024. Aromatogramme
- Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie **Recommandations 2019 – V1.0 janvier 2019**. In : **CASFM / EUCAST : Société Française de Microbiologie Ed ; 2019: p.5-27, 30, 138-143**
- Comut, P-L et Chiquet, C.(2008).Injections intravitréennes d'antibiotiques et endophtalmies. *J. Fr. Oph -ta/mol* .31 (8), 815-823.
- CORNELIS P. et PSEUDOMONAS., 2008 :*Genomics and Molecular biology* (1 st éd).

- couic marinier .conseil en aromathérapie. Au bonheur d'essence boutique aroma. Chimie des huiles chimique essentielles
- Courvalin, P. (2007).La résistance des bactéries aux antibiotiques : combinaisons mécanisme bichi- miques et génétiques. Communication présenté le 4-10-2007.
- Cox SD, Mann CM, Markham JL, et al. (2000) The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil).
- DANIEL FESTY. M'a bible des huiles essentielles 2014 . éditions leduc.s . Paris p15.P 16.
- Davidson P.M.(1997).Méthods testing thé efficacy of fond antimicrobial. Food technologie, 43, p:148\_155
- DELMEE. M., Microbiologie Médicale, Université Catholique de Louvain, 2004, 176p.
- Delphine Toulain-Branger, 2024. La sauge officinale : une plante aromatique aux mille et une facettes !
- Derwich, E., Benziane, Z. et Boukir, A. (2010). Composition chimique de l'huile essentielle de feuille de *Juniperus phoenicea* et évaluation de son activité antibactérienne.
- Djerroumi A &Nacef M. (2004) :100 plantes médicinales d'Algérie. Edition Palais du livre P135- 131.
- Dragović, S.; Dragović-Uzelac, V.; Pedisić, S.; Čošić, Z.; Friščoć, M.; Elez Garofulić, I.; Zorić, Z. The Mastic Tree (*Pistacia lentiscus* L.) Leaves as Source of BACs: Effect of Growing Location, Phenological Stage and Extraction Solvent on Phenolic Content. Food Technol. Biotechnol., in press
- EL ALIA, M. M. L'effet de deux plantes médicinales (*Nigella sativa* L. et *Salvia Officinale* L) sur les bactéries responsables des infections urinaires.
- Fadli M, Saad A, Sayadi S, Chevalier J, Mezrioui N, Pagès J.M et Hassani L. (2012). Antibacterial Activity of *Thymus Maroccanus* and *Thymus Broussonetii* essential oils against nosocomial infection –bacteria and their synergistic potential with antibiotics. Phytomedicine.
- Farhat, A. (2010). Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Sciences des Procédés, Sciences des Aliments), Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France) & Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès (Tunisie).
- FAUCON M. Traité d'aromathérapie scientifique et médicale - les hydrolats (Tome 2). Paru le 13 novembre 2018. L'hydro\_distillation.

- Fellah, S., Romdhane, M., Abderraba, M. (2006). Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie, *Journal de la Société Algérienne de Chimie*, 16(2) :193-202.
- Ferhat, M. A., Boukhatem, M. N., Hazzit, M., & Chemat, F. (2016). Rapid extraction of volatile compounds from Citrus fruits using a microwave dry distillation. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 8(3), 753-781.
- Festy, D. (2018). *Ma bible des huiles essentielles*. Éditions Leduc.
- Françoise Couic-Marinier, Annelise Lobstein, 2013. *Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine Les huiles essentielles gagnent du terrain à la pharmacie*. France . Volum 52, numéro 525, page 18\_21
- Garneau, FX, Collin, GJ (2005) *Essential oil from the plant to the marketing: practical manual* corporation Laseve, University of Quebec in Chicoutimi.
- Gilly, G., 2005. *Les plantes aromatiques et les huiles essentielles à grasse*. Botanique, culture, chimie production et marché. Ed: E'Harmattan, 414p, 2005.
- Gipsy Dauge, janvier 2024, *L'extraction de l'huile essentielle*.
- GOTZ .P.BUSSER .C., 2007, *la phytocosmétologie thérapeutique*, Springer, p:188.
- Guignard, J.-L. (1996). *Biochimie végétale*. Masson, Paris.
- GUINDO. A. Y., *Etude prospective de la prescription et de la consommation des antibiotiques dans le centre de santé de référence de la commune III du district de Bamako*, Thèse de Doctorat, à l'Université de Bamako, 2008, 59.
- Guinoiseau, E., Luciani, A., Rossi, PG, Quilichini, Y., Ternengo, S., Bradesi, P. et Berti, L. (2010). Effets cellulaires induits par les huiles essentielles d'*Inula graveolens* et de *Santolina corsica* sur *Staphylococcus aureus*. *Revue européenne de microbiologie clinique et de maladies infectieuses*, 29, 873-879.
- HALLEL. Z., *Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes des citruses application sur la sardine (*Sardina pilchardus*)*, mémoire de magister à l'université Mouloud Mammeri Tizi-ouzou, 2011, 120p
- Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86, 147-156.
- Hans W.K. (2007). *1000 plantes aromatiques et médicinales*. Terre éditions. agronomie, EL HARRACH-ALGER, 2013.
- HART. T., SHEARS. P., *Atlas de poche microbiologie 1*, Flammarion Médecine-Science, Paris, 317p, 1999.

- Herbal medicines for human use, EMA, 2010.
- HIPPOLYTE. I., ALLAIN. P., PELLECUER. J., Variation de la teneur de certains composés de l'huile essentielle de la sauge (*salvia officinalis* L.) en fonction de divers états physiologiques. huile essentielle, biochimie, *salvia officinalis*, micropropagation, vitroplant, terpène, société botanique de France. Acta Bot. gall. Bull. Soc. Bot. Fr (1904). Tome 140-Fascicule 2, p 225-225,1993.
- Inventaire national du patrimoine naturel 2003-2024 (INPN), MNHN & OFB [Ed].
- Iserin.P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. London, ypogly Edith Ybert, Tatiana Delasalle feat.01:p335.
- J. Crouzet, (1996), Arômes alimentaires. Techniques de l'ingénieur, F 4 100, Paris, Entraînement à la vapeur d'eau. (Afssaps,2008) Memoire Online 2000-2023, Hydrodiffusion
- Jesus cardenas, 2016. La composition des huiles essentielles.
- JOFFIN. J. N., LEYRAL. G., Microbiologie Techniques : 1 Dictionnaire des techniques, 3<sup>ème</sup> Edition, Bordeaux, CRDP d' Aquitaine, 320p, 2001.
- Khedher, M. R. B., Khedher, S. B., Chaieb, I., Tounsi, S., & Hammami, M. (2017). Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia. EXCLI journal, 16, 160.
- Khedidja, M. B., & Fetta, A. H. Effet antibactérien des huiles Essentielles de la Sauge (*Salvia officinalis* L.) sur deux souches bactériennes.
- Khiredine Hamida, 2013, comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie, mémoire de magister, option technologie alimentaire, université Bougara\_boumerdes.
- Kwiatkowski P, Pruss A, Grygorcewicz B, Wojciuk B, Dołęgowska B, GiedrysKalemba S, Kochan E, Sienkiewicz M.(2018) Preliminary Study on the Antibacterial Activity of Essential Oils Alone and in Combination with Gentamicin Against ExtendedSpectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing and New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolates. Microb Drug Resist. 2018 Nov;24(9):1368-1375. doi: 10.1089/mdr.2018.0051.
- L. Mayaud<sup>1</sup>, A. Carricajo<sup>2</sup>, A. Zhiri<sup>3</sup> and G. Aubert<sup>1</sup>, 2008. Comparison of bacteriostatic and bactericidal activity of 13 essential oils against strains with varying sensitivity to antibiotics

- Lahlou A, 2009. La médecine traditionnelle: attitude et comportement des patients marocain
- Lahlou, M, 2004. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oil, phytotherapy research.18.p:435\_448
- Lakušić Branislava S., RistićMihailo S., Slavkovska1 Violeta N., Stojanović Danilo Lj&Dmitar V. Lakušić. (2013): Variations in essential oil yields and compositions of *Salvia officinalis* (Lamiaceae) at different developmental stages, Original Scientific Paper, 37 (2): 127-139.
- Larry M. Bush, 2022 Présentation des bactéries Gram négatives
- LAVIGNE. J. P.,Staphylocoque,DFGMS2 ‘Infectieux’, 2012,26p.
- Luicita. Lagunez rivera,2006. Etude de l’extraction de métabolites secondaires des différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de l’institut national polytechnique de Toulouse, France. 31-42.
- Mahmoudi S, Khali M et Mahmoudi N. 2013, Etude de l’extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d’artichaut (*cynara scolymus l.*). Nature & technologie. B- sciences 84 agronomiques et biologiques, 09 : 35-40.
- **Mahmoudi S., Khali M et Mahmoudi N. 2013**, Etude de l’extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d’artichaut (*cynara scolymus l.*). Nature & technologie. b- sciences agronomiques et biologiques, 09 : 35-40.
- Marcel, J.P. (2005).L'antibiogramme et son impact médical. Antibiotiques.7: 53-58.
- Marie Elisabeth LUCCHESI. 2005, Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l’extraction des huiles essentielles. Université de La Réunion, thèse
- Marie Elisabeth LUCCHESI. 2005, Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l’extraction des huiles essentielles. Université de La Réunion, thèse.
- Martinez, J.L.(2009) .The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. Proc .Biol .Sci.276:2521-30.
- Mayer M, Deiana J, Bernard A, (2004). Cours de Microbiologie Générale avec problèmes et exercices corrigés. 2ème éd Doin : pp 77, 86, 255.
- **Mijat Božović, Adele Pirolli, Rino Ragno, 2015.** *Mentha suaveolens* Ehrh. (Lamiaceae) Essential Oil and Its Main Constituent Piperitenone Oxide: Biological Activities and Chemistry

- Mikaël Zayat 1985, J. Crouzet, (1996), Copyright my Maxicours 2024. Entraînement à la vapeur d'eau. ( Afssaps, 2008) Memoire Online 2000-2023 , Hydrodiffusion.
- Mikaël Zayat, 1985. MÉTHODES D'EXTRACTION ET COSMÉTIQUES
- Miladinović, DL, Ilić, BS, Miladinović, LC, Kocić, BD, Ćirić, VM, Stankov-Jovanović, VP, ... & Bhattacharya, S. (2013). Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Thymus pulegioides* et son potentiel synergique avec les antibiotiques : une approche chimométrique. *Progrès récents dans les plantes médicinales* , 38 , 101-36.
- Muylaert, A et Mañnil, J.G. (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité » *Ann. Méd. Vét.* 156 :109- 123.
- Nabila, 2023, MÉTHODES D'EXTRACTION ET COSMÉTIQUES.
- Naouel Chaftar, Marion Girardot, Nathalie Quellard, Jérôme Labanowski, Tawfik Ghrairi, Khaled Hani, Jacques Frère, Christine Imbert, 2015. Activité de six huiles essentielles extraites de plantes tunisiennes contre *Legionella pneumophila*
- Nauciel C, Vildè J.L, (2005). *Bactériologie Médicale*. Ed Masson : pp 77, 145.
- Nesrin banayad, 2008. les huiles essentielles extraites des plantes médicinales Marocaines .
- Newall, C. A., Anderson, L. A., & Phillipson, J. D. (1996). *A guide for Health-care Professionals*. London: The Pharmaceutical Press
- Noll, R. (1951). *Southwest Desert Botanicals. Cosmetics and Toiletries* , 109, pp. 35–37.
- Ollanketo M, Peltoketo A, Hartonen K, Hiltunen R, Riekkola M-L, (2002). Extraction of sage (*Salvia officinalis* L.) by pressurized hot water and conventional methods: antioxidant activity of the extracts. *Eur. Food Res. Technol.* 215: 158–163.
- Organisation mondiale de la santé, 2013. Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. Genève : organisation mondiale de la santé.
- OUSSALAH M., S. CAILLET, L. SAUCIER and M. LACROIX, 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on four pathogen bacteria growth: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control.* 18 (5), 414-420.
- Owen, L. et Laird, K. (2018). Application synchrone d'antibiotiques et d'huiles essentielles : des mécanismes d'action doubles comme solution potentielle à la résistance aux antibiotiques. *Revue critique en microbiologie* , 44 (4), 414-435.
- Pchi Guangzhou & Fafai Kolkata 2023, *Puressence Aroma* 524
- Pillet C, Bourdon J. L, Toma B, Marchal N, Balbastre C, (1983). *Bactériologie médicale et vétérinaire*. 2<sup>ème</sup> Ed. France. P40-46.

- Quezel, P., & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed, CNRS. Paris. Tom. 2 : 793p.
- Rahal, K. (2013). Les antibiotiques. L'office de publications universitaire. Edition N5453. Alger. pp 168
- REGNAULT J.P. ,2000 : Microbiologie générale. Microorganismes commensaux. Dcari empritréal. Vigot Paris. Chapitre 11 :p 420-328.
- Riahi, L., Elferchichi, M., Ghazghazi, H., Jebali, J., Ziadi, S., Aouadhi, C., ... & Mliki, A. (2013). Phytochimie, activités antioxydantes et antimicrobiennes des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* L. en Tunisie. Cultures et produits industriels , 49 , 883-889.
- ROBERT L., 1982 : Bactériologie médical, éditeur place de l'odean. Paris, P: 213-226.
- Saidi S, MERZOUK ch, 2018. Etude de l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle de la plante médicinale *Mentha suaveolens* de la région d'Ain Temouchent.
- Salah Benkherara, Ouahiba Bordjiba & Ali Boutlelis Djahra, Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Saugue officinale : *Salvia officinalis* L. sur quelques entérobactéries pathogènes. 2011
- Salah Benkherara, Ouahiba Bordjiba, Ali Boutlelis Djahra, 2011. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Saugue officinale : *Salvia officinalis* L. sur quelques entérobactéries pathogènes. ANNABA.
- SCHAECHTER M .et EISENSTEIN., 1999 : Microbiologie et pathologie infectieuse. Paris : Boeck- Edition, p : 181-284
- Schelz, Z., Molnar, J et Hohmann, J. (2006). Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia*. 77 :279-285
- Sezonov G, (avril, 2008). Biologie et génétique d'*Escherichia coli*, Editions Belin.
- Siaka KONE, 2001. Distillation. PO Box 5180, 65726 Eschborn, Germany.
- Stefano Padulosi , Danna Leaman & P. Quek, « Challenges and Opportunities in Enhancing the Conservation and Use of Medicinal and Aromatic Plants », *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, vol. 9, no 4, 2002, p. 243-267 (DOI 10.1300/J044v09n04\_01).
- Sylvain Sutour, Pascale Bradesi, Dominique de Rocca-Serra, Joseph Casanova, Félix Tomi, 2008. Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* ssp. *insularis* (Req.) Greuter
- Teuscher E, Anton R, Lobestien A. (2005). Plantes aromatiques: épices aromates, Condiments et huiles essentielles. Tec et Doc Édition: Paris. Ed:lavoisier.Paris.444p

- Traoré, Y., Ouattara, K., Yéo, D., Doumbia, I., & Coulibaly, A. (2012). Recherche des activités antifongique et antibactérienne des feuilles d'*Annona senegalensis* Pers.(Annonaceae). *Journal des biosciences appliquées* , 58 , 4234-4242.
- Ultrée, A, slump R.A. steging G et smid E.J (2002). Antimicrobial activity of carvacrol on rice. *Journal of food protection* 63.p:620-624.
- Vanette, 2020 . famille des lamiaceae,
- Véronique, lucette coderc,2021 diplômé d'obtention le grade de docteur vétérinaire , université peal-sabatier de Toulouse
- Vidal, 2010. Guide des plantes qui soignent.
- VIDAL, 2016. Substance active gentamicine, Mécanisme d'action
- VIDAL, phytothérapie: sauge officinale.
- Walker, J B., Sytsma, K J., Treutlein, J., Wink, M. 2004. *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany*. 91(7): 1115-1125.
- Warnke , ST Becker, R Podschun, 2006. La bataille contre les souches multirésistantes : renaissance des huiles essentielles antimicrobiennes comme force prometteuse pour lutter contre les infections nosocomiales
- Wichtl M., Anton R. (2009).plantes thérapeutiques:tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition Lavoisier, paris : 38,41.
- Williamson, EM (2001). Synergie et autres interactions en phytomédicaments. *Phytomédecine* , 8 (5), 401-409.
- Xavier Gerbeaud, 2023. Sauge officinale.
- Zaabat N. (2014). Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de deux espèces de la famille des Lamiacées : *Marrubium deserti* de Noé et *Phlomis bovei* de Noé. Thèse de doctorat. Algérie.